



# I MIELI ITALIANI: un patrimonio unico di qualità e tipicità

Da oltre mille analisi  
i punti di forza per la valorizzazione



**Pubblicazione multimediale**  
Sulla base di dati analitici dei mieli partecipanti al  
**CONCORSO TRE GOCCE D'ORO - GRANDI MIELI D'ITALIA**

**Progetto e coordinamento editoriale**  
**GIANCARLO NALDI**

**Grafica e impaginazione**  
**MAURO CREMONINI**

**Finito di stampare: luglio 2020**  
**Tipografia: F.lli Cava - Castel San Pietro Terme (BO)**  
**Carta: Freelif e Vellum White di Fedrigoni**

**OSSERVATORIO NAZIONALE MIELE**  
Via Matteotti, 79  
40024 Castel San Pietro Terme BO  
Tel. 051 940147 • Fax 051 6949461  
osservatorio@informamiele.it  
www.informamiele.it



**mipaaf**  
ministero delle politiche  
agricole alimentari e forestali

Progetto realizzato con il contributo del Ministero  
delle politiche agricole alimentari, forestali -  
Reg UE 1308/2013, Programma 2019/2020,  
sottoprogramma ministeriale

# I MIELI ITALIANI

## un patrimonio unico di qualità e tipicità

Da oltre mille analisi  
I punti di forza per la valorizzazione



OSSERVATORIO  
NAZIONALE  
MIELE



# SOMMARIO

- 6 Note per la lettura
- 7 **Presentazione**  
Alberto Contessi  
*Presidente Osservatorio Nazionale Miele*
- 8 **Prefazione**  
On. Giuseppe L'Abbate  
*Sottosegretario di Stato alle politiche agricole  
con delega all'apicoltura*
- 11 **La qualità dei mieli italiani**  
Giancarlo Naldi  
*Direttore Osservatorio Nazionale Miele*
- 21 **Concorso Tre Gocce d'Oro**  
Lucia Piana  
*Responsabile scientifico Concorso - Piana Ricerca e Consulenza srl*
- 37 **Criticità di carattere endogeno e dinamiche  
derivanti dall'impatto ambientale**  
Giancarlo Quaglia  
*Life Analytics Floramo Corporation*
- 55 **Analisi di mieli italiani di rododendro  
per la ricerca di Graianotossina  
e Alcaloidi Pirrolizidinici**  
Francesca Capolongo  
*Dipartimento Biomedicina Comparata e Alimentazione  
Università degli Studi di Padova*
- 71 **Metodi innovativi d'indagine con la ricerca  
dei DNA presenti nei mieli**  
Luca Fontanesi  
*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari  
Università di Bologna*
- 91 **L'utilizzo dei "monoflora rari" del  
concorso Tre Gocce d'Oro per potenziare  
la caratterizzazione dei mieli italiani**  
Gian Luigi Marcazzan  
*Ricercatore CREA - Centro di ricerca Agricoltura e Ambiente*



## NOTE PER LA LETTURA

La presente pubblicazione risponde all'esigenza di rendere fruibile nel modo più efficace possibile il patrimonio di conoscenza che l'Osservatorio sta via via implementando con l'analisi di oltre mille mieli l'anno.

Non ci limitiamo ad un'arida presentazione dei dati analitici ma cerchiamo di rappresentare i fenomeni che dalle valutazioni analitiche si possono intravedere.

Le aree di approfondimento rispondono ad esigenze diverse:

- conoscere i punti di forza dei mieli italiani in termini di qualità oggettiva, di tipicità e salubrità, attraverso le analisi dell'Osservatorio e di CREA-AA sulla caratterizzazione dei monoflora meno conosciuti;
- conoscere e prevenire eventuali criticità di carattere endogeno, in parte legate al cambiamento climatico in atto;
- conoscere il valore del possibile impatto di pratiche agricole scorrette al fine di documentare le tendenze agli enti preposti;
- sperimentare metodi innovativi d'indagine basati sulla ricerca dei DNA presenti nel miele (origine botanica e geografica, patologie e adulterazioni, ecc.)
- conoscere parametri nuovi che potrebbero essere oggetto di regolamentazione europea come nel caso di alcaloidi pirrolizidinici e graiano tossine;

Oltre alla pubblicazione cartacea e online è previsto un inserimento dinamico di parti discorsive del volume in video su YouTube e nel sito dell'Osservatorio al fine di diffondere ancora meglio ogni informazione utile a valorizzare e difendere i mieli italiani, un patrimonio unico al mondo.



# PRESENTAZIONE

**ALBERTO CONTESSI**

Presidente Osservatorio Nazionale Miele

È ormai tradizione che l'Osservatorio Nazionale Miele presenti annualmente i risultati dei controlli e delle analisi effettuate sui campioni di miele inviati al Concorso Nazionale Tre gocce d'Oro Grandi mieli d'Italia, giunto quest'anno alla sua quarantesima edizione.

Negli ultimi due anni sono stati inviati al concorso più di 1.000 campioni all'anno, sui quali sono state effettuate migliaia di analisi.

Negli scorsi anni la divulgazione dei risultati avveniva nell'ambito di un convegno organizzato in forma tradizionale. Quest'anno, a causa dell'emergenza Covid 19, non è stato possibile, è così che è nata e si è sviluppata l'idea di realizzare una pubblicazione multimediale, che verrà illustrata in occasione di una videoconferenza direttamente dai singoli professionisti e ricercatori che hanno effettuato le ana-

lisi e che hanno contribuito alla sua realizzazione.

Dopo un primo rammarico per non essere riusciti a realizzare l'incontro pubblico, ci siamo resi conto che con la nuova modalità forse riusciremo a raggiungere una platea ancor più vasta. Naturalmente tutto il materiale, oltre ad essere stampato, sarà reso disponibile sul web.

Siamo convinti che dalla grande mole dei dati messi a disposizione potranno essere ricavate preziose informazioni per migliorare ancora le tecniche produttive e quindi la qualità delle nostre produzioni, per conoscere i punti di forza dei mieli italiani in termini di qualità, salubrità e identità al fine di consentire alle pubbliche amministrazioni e ai legislatori di orientarsi per sostenere un settore sempre più complesso e strategico.

# PREFAZIONE

**ON. GIUSEPPE L'ABBATE**

Sottosegretario di Stato alle politiche agricole con delega all'apicoltura

L'Italia dispone di un patrimonio di mieli unico per qualità e tipicità. L'apicoltura è una importante attività agricola per questa sua funzione produttiva e per l'ancor più importante funzione di difesa della biodiversità, che la stessa esercita con l'impollinazione delle colture e delle specie spontanee indispensabili all'ecosistema.

Purtroppo, nonostante la qualità e la tipicità dei nostri mieli, l'apicoltura vive diverse criticità sia sul piano produttivo sia su quello del mercato.

Sulla produzione pesano soprattutto gli effetti del cambiamento climatico che, attraverso la estremizzazione degli eventi atmosferici, rende difficile raggiungere i livelli di raccolto considerati normali fino a qualche anno fa. Al susseguirsi degli eventi meteo avversi, si sommano altri fattori di criticità produttiva dovuti a condizionamenti diversi quali: la sempre più scarsa resa nettarifera di colture importanti come il girasole dovuta ad una selezione genetica finalizzata esclusivamente alla resa oleosa, il peso dell'impatto

negativo di talune pratiche agricole che permangono nonostante gli sforzi in atto, anche da parte del Ministero con il Tavolo tecnico per la gestione dell'intesa fra apicoltori, agricoltori e altri protagonisti.

A ciò si aggiungono anche le patologie apistiche, impegnative e costose da combattere, e gli insetti aggressori delle api che rendono difficile la vita degli apicoltori.

Conosciamo anche le difficoltà di mercato che gravano sul settore per i bassi prezzi dei mieli d'importazione, soprattutto di provenienza extra UE, una concorrenza che rende difficile coprire i costi di produzione e collocare in modo corretto il prodotto sul mercato.

Proprio per la conoscenza che abbiamo di queste criticità, è stato deciso di adottare un programma nazionale straordinario di sostegno che abbia un carattere strategico e metta il settore in grado di consolidarsi e migliorare la propria redditività e competitività utilizzando poi i normali canali di sostegno dell'Unione Europea, cofinanziati dallo Stato italiano.



Miglioramento delle tecniche produttive, soprattutto per far fronte al cambiamento climatico, avviare il settore all'utilizzo anche di strumenti di difesa passiva nella gestione del rischio, sostegno al mercato: questi gli obiettivi strategici del programma. Per mettere in valore la peculiarità e l'identità dei mieli italiani occorre partire dai dati di qualità oggettiva e conoscere anche i potenziali elementi di criticità ambientale o di altro genere che l'esame di tanti mieli consente di ottenere, al fine di adottare sia le misure necessarie a valorizzare i mieli nazionali in tutti i loro aspetti di qualità, salubrità e identità, sia ad approfondire e prevenire le eventuali criticità.

Per svolgere questi approfondimenti e condividere il patrimonio di conoscenze acquisite dall'Osservatorio Nazionale Miele e dai suoi partner, era prevista una riunione presso il Ministero delle Politiche agricole coinvolgendo le diverse competenze d'interesse: Ministero della Salute, le Regioni e le organizzazioni agricole e apistiche. Purtroppo, i provvedimenti di contenimento alla pandemia Covid-19 non lo hanno consentito.

La presente pubblicazione consente di rendere fruibili a tutti i risultati analitici e le valutazioni di migliaia di mieli condotte dall'Osservatorio e di riprendere gli approfondimenti che avevamo programmato.



# La qualità dei mieli italiani

Sulla base di dati analitici dei mieli  
partecipanti al Concorso Tre Gocce  
d'Oro - Grandi mieli d'Italia

GIANCARLO  
**NALDI** } Direttore Osservatorio  
Nazionale Miele





## Qualità, identità, naturalità e salubrità

Nonostante questi **punti di forza** e nonostante la produzione nazionale copra più o meno il 50% del fabbisogno gravano sul settore fattori di criticità.

## PATRIMONIO UNICO

Oltre 30 monoflora e una molteplicità di millefiori identitari, l'Italia può contare su un patrimonio di mieli unico al mondo





FOTO: LIDIA SANTOMAURO

# Criticità



## Prezzo

da fine 2018 i mieli nazionali spuntano **prezzi bassi**



## Mercato

**Difficile collocazione sul mercato**



## Clima

Oltre alla difficile situazione di mercato le **difficoltà produttive derivanti dal cambiamento climatico**

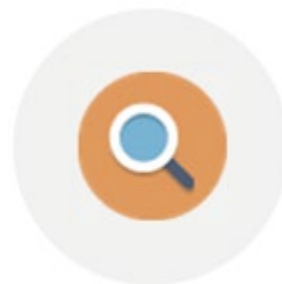


# Il da farsi



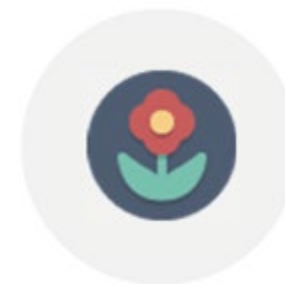
## Sostegno

Mettere in valore i punti di forza dei mieli italiani e attuare un'azione di sostegno compatibile con i vincoli UE



## Conoscenza e prevenzione

Analizzare punti di forza e possibili criticità sia di carattere esterno al processo produttivo (impatto ambientale), sia di carattere interno, causa le difficoltà produttive che il cambiamento climatico può determinare sulla qualità dei mieli (alimentazione estiva delle api)



## Identità

Rafforzare ancora la caratterizzazione identitaria dei monoflorami meno conosciuti, anche per l'effetto di traino che esercitano sugli altri mieli

Queste le finalità perseguite dall'Osservatorio attraverso il Concorso TRE GOCCE D'ORO e le campagne specifiche d'indagine

FOTO: MARCO LORUSSO



## CONCORSO TRE GOCCE D'ORO

Dal 1981 per conoscere e migliorare la qualità dei mieli italiani



# Strategia di crescita

Dalla disponibilità e rappresentatività dei mieli campagne specifiche d'indagine

## DISPONIBILITÀ E RAPPRESENTATIVITÀ DEI MIELI

- oltre 1000 mieli/anno di produzione nazionale
- rappresentatività dell'intero territorio nazionale
- rappresentatività per tipo di apicoltore:
  - 82,5% da apicoltori per il mercato (professionisti)
  - 17,5% da apicoltori per autoconsumo (amatoriali)

## CAMPAGNE SPECIFICHE D'INDAGINE

- i punti di forza in termini di qualità, naturalità e tipicità
- le possibili criticità ambientali o di altro genere, anche solo a livello di tendenza da osservare per prevenire
- le aree di miglioramento della qualità dipendenti dal processo produttivo
- elementi specifici anche in relazione alla possibile introduzione di nuove normative
- Sperimentazione di metodiche innovative d'analisi per nuovi strumenti al servizio della filiera e dei consumatori

# Concorso Tre Gocce d'Oro

La partecipazione di oltre mille mieli ogni anno rappresenta uno strumento formidabile per

## CONOSCERE

- Il livello della qualità oggettiva raggiunto dai mieli di produzione nazionale
- L'insorgere di possibili criticità legate all'impatto ambientale che investe l'apicoltura o altri fenomeni quali il cambiamento climatico
- Il livello identitario dei mieli legato ai territori
- Il gusto dei consumatori, soprattutto riguardo i millefiori

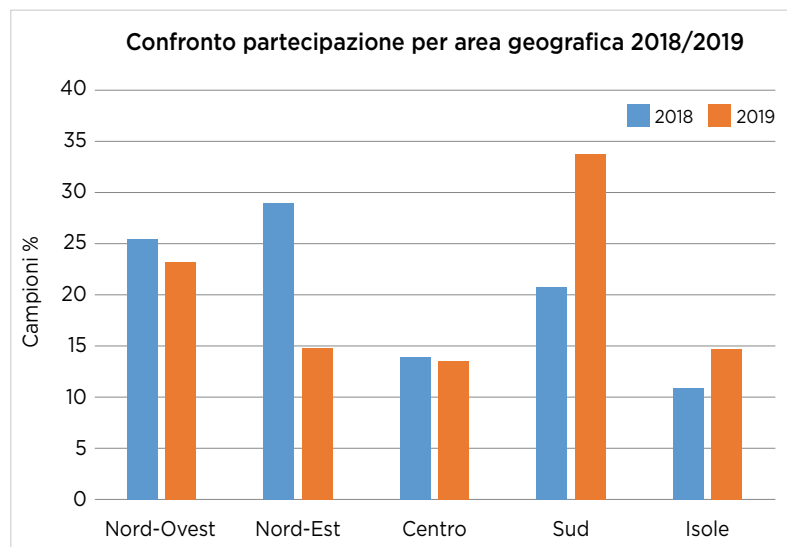
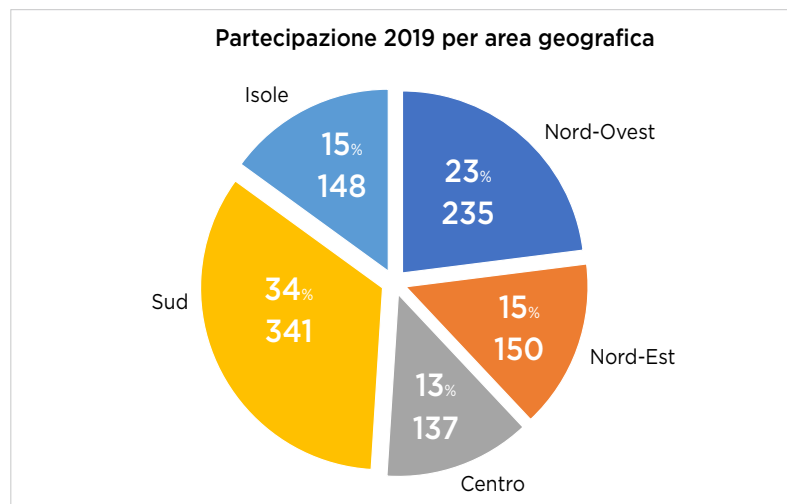
## MIGLIORARE

- La qualità dei mieli:
  - o attraverso la divulgazione commentata dei risultati di analisi e valutazioni
  - o attraverso attività di formazione diretta e tramite le associazioni
- L'approccio al mercato.
  - o attraverso la formazione all'utilizzo di tecniche innovative di valorizzazione
  - o con la realizzazione di strumenti specifici di valorizzazione come la guida e l'applicazione "TRE GOCCE D'ORO"
  - o con la realizzazione di eventi promozionali dei mieli italiani di qualità



# Concorso Tre Gocce d'Oro

Rappresentatività dei mieli in concorso



REGIONI	CAMPIONI INVIATI CONCORSO 2019
Lombardia	112
Puglia	112
Piemonte	94
Emilia-Romagna	81
Sardegna	80
Abruzzo	74
Sicilia	68
Basilicata	63
Marche	42
Campania	40
Lazio	37
Toscana	30
Calabria	28
Umbria	28
Veneto	26
Molise	24
Friuli Venezia-Giulia	22
Valle d'Aosta	22
Trentino Alto-Adige	21
Liguria	7

# Concorso Tre Gocce d'Oro

Analisi e valutazioni sensoriali con il Concorso



## Qualitative

- ✓ umidità
- ✓ HMF
- ✓ valutazione visiva



Su tutti i campioni



## Merceologiche

- ✓ zuccheri
- ✓ acidità/pH
- ✓ conducibilità
- ✓ colore



Sui campioni premiati



## Polliniche

- ✓ conferma origine botanica e geografica



Sui mieli uniflorali rari



## Valutazioni sensoriali

- ✓ rispondenza all'origine botanica
- ✓ difetti
- ✓ gradevolezza



Su tutti i campioni



## Altre valutazioni

- ✓ in funzione delle criticità





FOTO: MASSIMILIANO GUIDI

## Riepilogo

**Il patrimonio di conoscenza acquisito al servizio della filiera e delle istituzioni**

- ✓ Qualità oggettiva, sensoriale e pollinica dall'attività diretta del concorso
- ✓ Eventuale presenza di glifosate e portata del fenomeno per tipologia di miele
- ✓ Eventuale presenza di zuccheri esogeni in relazione a possibili pratiche scorrette di alimentazione delle api favorite dal cambiamento climatico
- ✓ Ricerca di graianotossina e alcaloidi pirrolizidinici nei mieli di rododendro, in previsione di possibili interventi normativi da parte della UE
- ✓ Sperimentazione di metodiche innovative d'indagine attraverso l'analisi del DNA presente nel miele
- ✓ Potenziamento della caratterizzazione dei mieli italiani con la fornitura al CREA A A di monoflora "rari" suscettibili di classificazione e implementazione della banca dati



# Concorso Tre Gocce d'Oro

40 anni di attività per il miglioramento  
della qualità del miele

LUCIA  
**PIANA**

Responsabile scientifico Concorso  
Piana Ricerca e Consulenza srl







## COS'È IL CONCORSO

Dal 1981 Premio Giulio Piana  
Dal 1990 Grandi Mieli d'Italia  
Dal 2003 Tre Gocce d'Oro

## Gli obiettivi del Concorso

Sensibilizzare ed educare i produttori alla qualità del miele.

Promuovere il miele di qualità e le aziende che lo hanno prodotto.

Studiare le caratteristiche dei mieli, evidenziare criticità emergenti grazie alla campionatura e alle informazioni pervenute all'Osservatorio ai fini del concorso e alle opportune collaborazioni scientifiche.

### Effetti collaterali positivi:

- ✓ Luogo di sviluppo e sperimentazione delle tecniche di valutazione sensoriale.
- ✓ Stimolo a iniziative analoghe con effetto sinergico.



# Concorso Tre Gocce d'Oro

Il Concorso nazionale Tre Gocce d'Oro rappresenta l'iniziativa di questa tipologia di più longeva e più partecipata. Nato nel 1981 per ricordare Giulio Piana, apicoltore di Castel San Pietro Terme noto in tutta Italia prematuramente scomparso, ha continuato a svolgersi ogni anno, con sempre maggiore partecipazione.

Negli anni il concorso ha continuato ad evolversi: negli anni '90 al nome iniziale si è aggiunto quello di "Grandi Mieli d'Italia" e dal 2003 è stato introdotto il sistema di riconoscimento della qualità basato sull'attribuzione delle "Gocce d'Oro", una, due e tre.

Fin dalla prima edizione, con il concorso ci si è posti due obiettivi principali:

- Sensibilizzare ed educare i produttori alla qualità del miele.
- Promuovere il miele di qualità e le aziende che lo hanno prodotto.

Il concorso consente tuttavia di raccogliere campioni da tutto il paese e di studiarne le caratteristiche. Già dai primi anni i campioni ricevuti sono stati forniti agli enti che all'epoca si occupavano dei primi studi di caratterizzazione dei mieli uniflorali italiani. Grazie alle opportune collaborazioni scientifiche e al sostegno finanziario del MIPAAF questa attività si è sviluppata negli anni, cogliendo le istanze della parte produttiva ed evidenziando le criticità.

Anche se non fa parte degli obiettivi del concorso, negli anni il concorso ha rappresentato il luogo per lo sviluppo e la sperimentazione delle tecniche di valutazione sensoriale, facendo da stimolo alla crescita del settore in questo ambito.

Inoltre è servito da esempio per iniziative analoghe, con effetto sinergico per gli obiettivi generali del concorso.



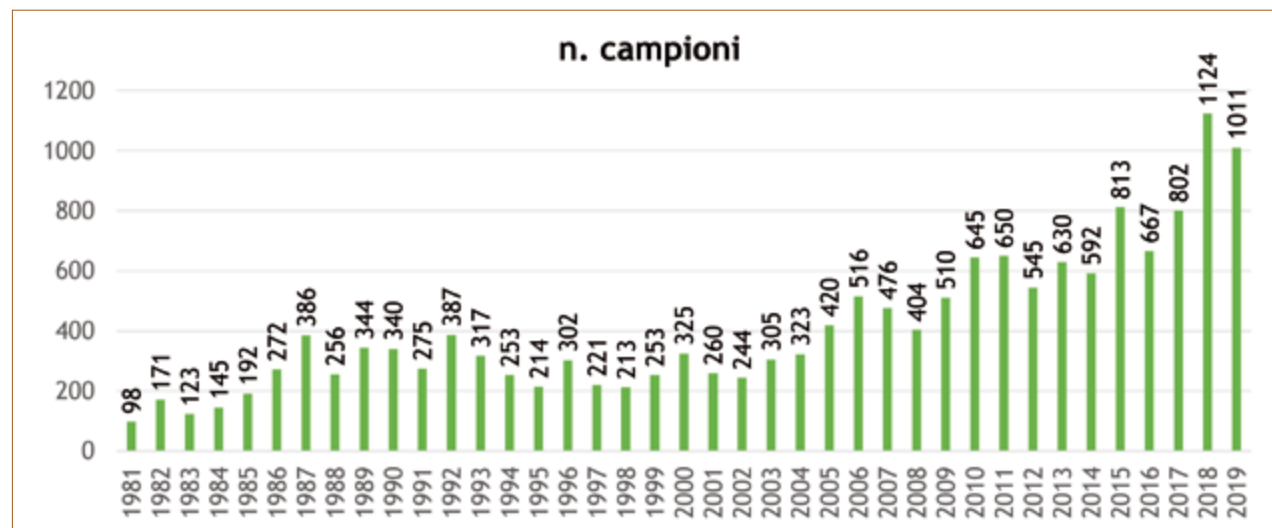
## Concorso Tre Gocce d'Oro L'ORGANIZZAZIONE



Il concorso è organizzato dall'Osservatorio Nazionale Miele, che si avvale di un Comitato Organizzatore con compiti consultivi, del quale fanno parte Istituzioni e Associazioni coinvolte negli obiettivi del concorso. Il finanziamento dell'iniziativa è assicurato, per la maggior parte, dal Reg. UE 1308/13 e, in misura minore, dagli stessi produttori partecipanti al concorso. L'Osservatorio si avvale di collaborazioni esterne per lo svolgimento delle analisi e i servizi necessari all'esecuzione delle attività.

Concorso Tre Gocce d'Oro

## PARTECIPAZIONE PER ANNO E PRINCIPALI TIPI DI MIELE IN CONCORSO 2019



Dalla prima edizione, nel 1981, alla quale aderirono un centinaio di campioni, la partecipazione non ha mai smesso di crescere, con oscillazioni imputabili prevalentemente all'andamento produttivo. Dal 2009 la partecipazione ha sempre superato 500 campioni, con un'impennata di oltre 1000 negli ultimi due anni, nonostante la produzione molto scarsa del 2019.

I partecipanti sono distribuiti su tutto il territorio nazionale. Negli ultimi anni c'è stato un notevole aumento dei produttori di sud e isole, forse un segno di un maggior interesse verso il concorso da parte di produttori delle aree dove è meno capillare l'azione di assistenza tecnica delle associazioni di produttori. Ogni anno al concorso sono presenti una cinquantina di origini botaniche diverse, anche se meno di 20 tipologie coprono il 90% dei campioni in concorso.

2019	
Tipo di miele	Numero campioni
Millefiori	377
Castagno	82
Sulla	68
Millefiori di alta montagna delle Alpi	62
Acacia	55
Tiglio	39
Agrumi	36
Rododendro	35
Coriandolo	31
Eucalipto	31
Cardo	28
Melata (bosco)	21
Girasole	15
Tarassaco	14
Erica arborea	12
Ciliegio	8
Corbezzolo	8
Trifoglio	8
Lupinella	7
Rosmarino	6
Altri	26

## CRONOLOGIA ATTIVITÀ ANNUALE



Le attività relative al concorso sono particolarmente intense nei mesi di agosto e settembre: infatti il calendario è determinato dalla stagionalità della produzione, concentrata nei mesi primaverili ed estivi, e della commercializzazione, che si sviluppa soprattutto nei mesi autunnali e invernali. Risulta particolarmente apprezzato da parte dei produttori la possibilità di disporre dei risultati analitici e dell'eventuale ritorno mediatico a ridosso del momento in cui termina l'impegno produttivo e quando comincia quello commerciale. L'ufficializzazione dei risultati del concorso e l'evento di premiazione ha luogo tradizionalmente nell'ambito dei festeggiamenti del "Settembre Castellano", in particolare la terza domenica di settembre. Ma le attività dell'Osservatorio si sviluppano nel corso di tutto l'anno, partendo in primavera con la programmazione dell'evento annuale e terminando l'anno successivo con le attività di ricerca collegate alla disponibilità di campioni e le attività di promozione del miele e delle aziende premiate che si sviluppano per tutto l'anno, oltre che con eventi dedicati, anche grazie alle pubblicazioni dell'Osservatorio, il sito e l'applicazione.

Concorso Tre Gocce d'Oro

## ATTIVITÀ DI VALUTAZIONE (AGOSTO-SETTEMBRE)

Lo schema delle attività del concorso è abbastanza simile di anno in anno e può essere riassunto come segue:

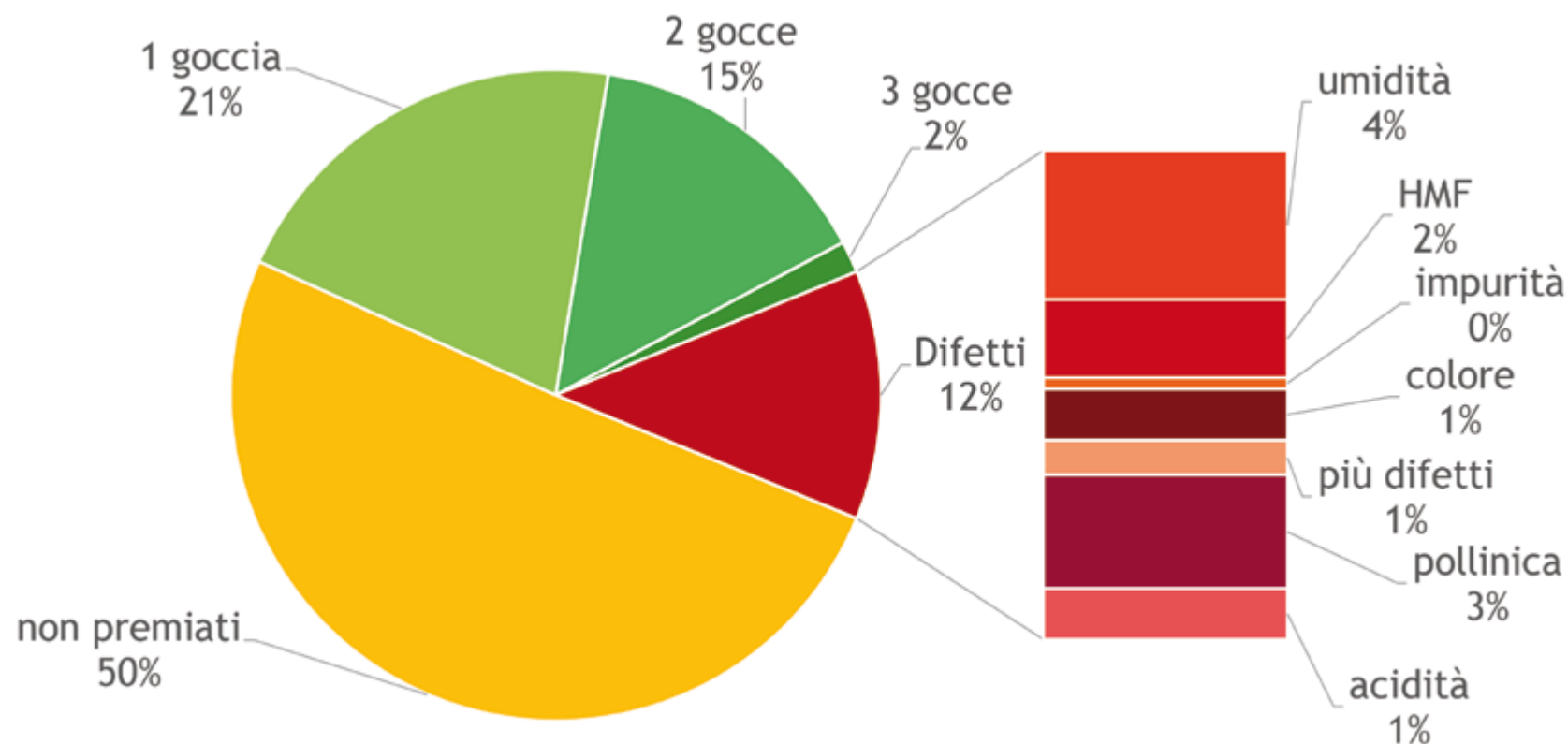
- Registrazione
- Analisi di base
  - Valutazione visiva, umidità, colore
  - HMF
  - Analisi pollinica sulle tipologie insolite e particolari
  - Preparazione seduta di degustazione e seminario di aggiornamento (circa 12.000 bicchierini)
- Seduta di degustazione
  - 70/80 esperti in analisi sensoriale del miele
  - Seminario
  - Valutazione vera e propria
    - Rispondenza alla denominazione
    - Gradevolezza
  - Introduzione dei dati in computer
  - Valutazione dei risultati
  - Attribuzione dei riconoscimenti (lista provvisoria)
- Completamento analisi di base e verifiche
- Analisi di composizione
- Redazione guida, attestati, targhe
- Redazione risposte
- Consegna riconoscimenti e risposte
- Invio risposte e riconoscimenti per posta
- Attivazione “ufficio reclami”



Queste attività coinvolgono, oltre che il personale stabile dell'Osservatorio, altro personale avventizio, necessario per svolgere con la dovuta celerità le operazioni di valutazione e organizzazione, diverse aziende tra laboratori partner e fornitori di servizi, oltre che diverse decine di esperti in analisi sensoriale del miele iscritti al relativo Albo.

# Concorso Tre Gocce d'Oro

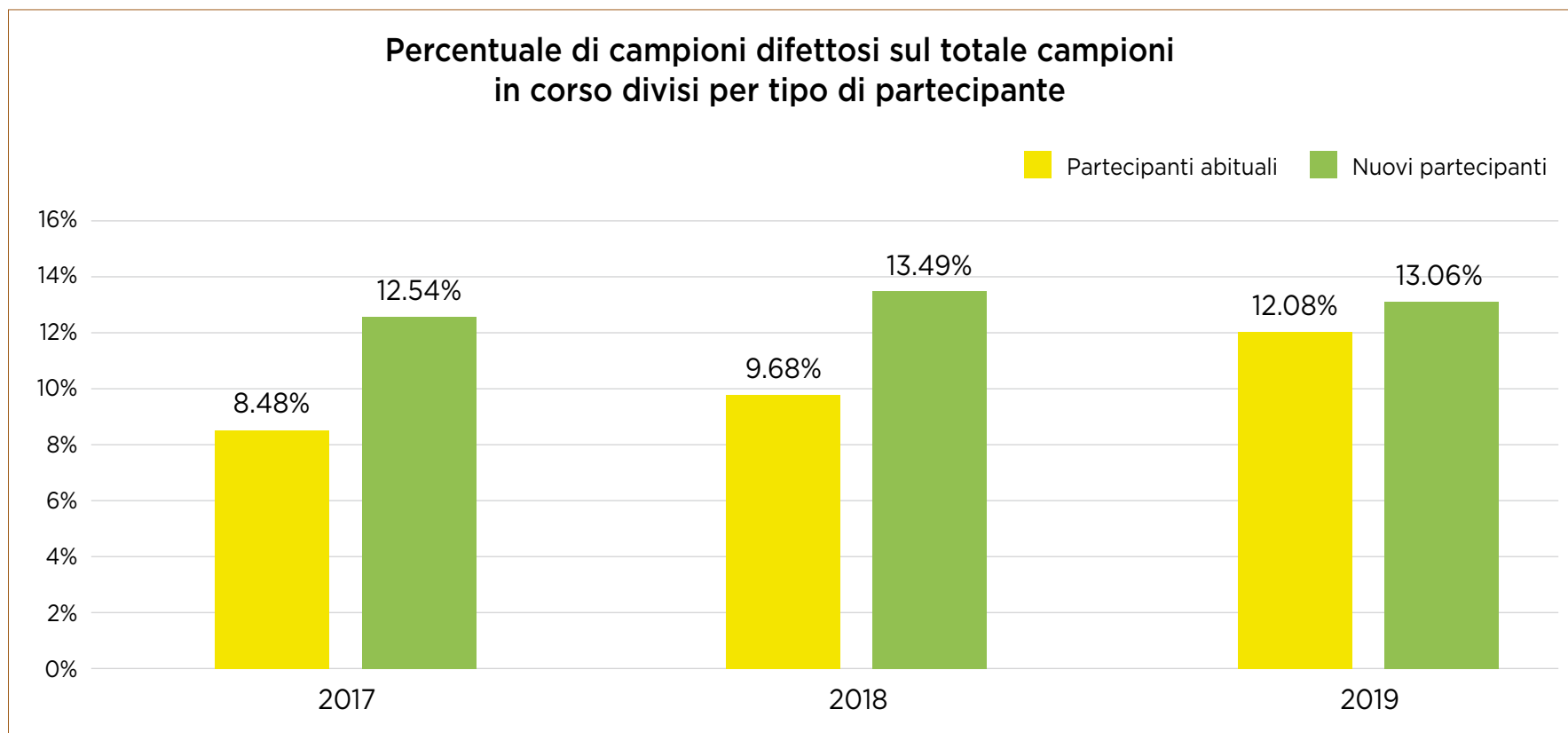
## SINTESI QUALITÀ 2019



Attraverso ogni edizione del concorso si acquisiscono informazioni sulla qualità del miele prodotto nell'annata. Trattandosi di un concorso, non tutti i mieli vengono premiati, anche se quelli che presentano una difettosità tale da escluderli dal mercato sono sempre solo una minoranza. Proprio attraverso la comunicazione ai partecipanti al concorso dei risultati delle valutazioni e delle motivazioni che hanno determinato la graduatoria finale si esplica l'attività formativa e di assistenza tecnica ai produttori.



## IL RUOLO DEL CONCORSO NELL'EDUCAZIONE ALLA QUALITÀ



Negli anni, la quota di campioni che presenta una difettosità resta abbastanza costante (10-12% dei campioni partecipanti), ma è molto interessante notare come la quota dei campioni difettosi sia maggiore per i produttori che sono nuovi al meccanismo del concorso rispetto a quelli che avevano già partecipato precedentemente. Tale andamento può essere preso come una prova dell'efficacia del concorso per fornire consigli ai produttori che consente loro di non ripetere gli stessi errori nel corso degli anni.



FOTO: DIEGO MONFRINO

## ATTIVITÀ DI RICERCA

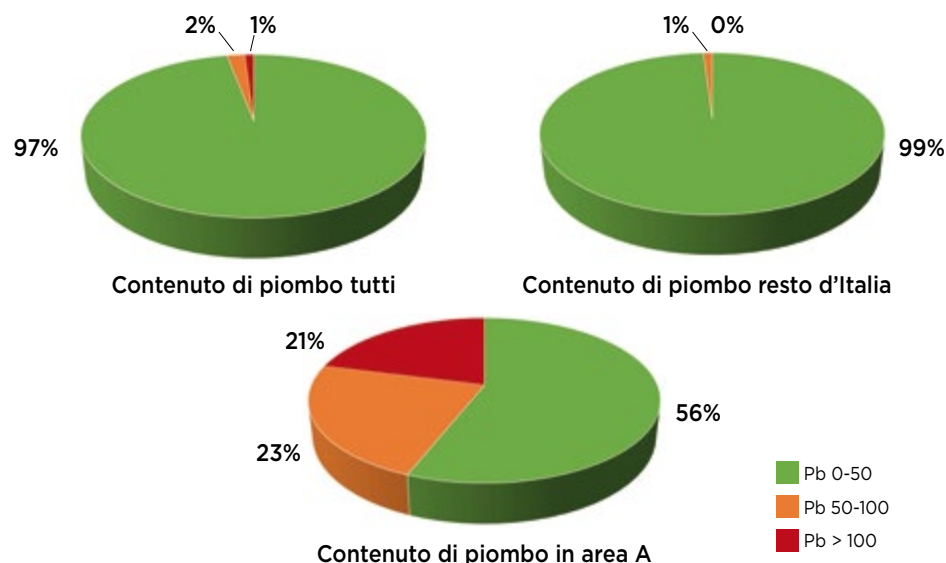
Alcuni esempi dell'attività di ricerca svolta negli scorsi anni

### La disponibilità di campioni rappresentativi ha consentito di:

- Studiare le caratteristiche dei mieli.
- Evidenziare criticità emergenti grazie alla campionatura e alle informazioni pervenute all'Osservatorio ai fini del concorso.
- Grazie alle opportune collaborazioni scientifiche.

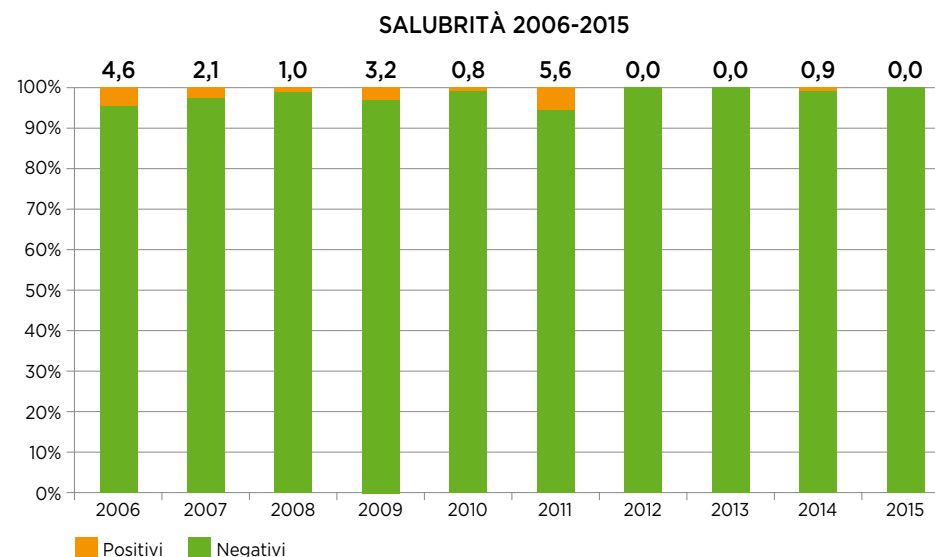
A titolo di esempio si riportano alcuni risultati relativi alle attività di ricerca svolti dall'Osservatorio in collaborazione con altri Enti

## Attività di ricerca L'ESEMPIO DEL PIOMBO (2015)



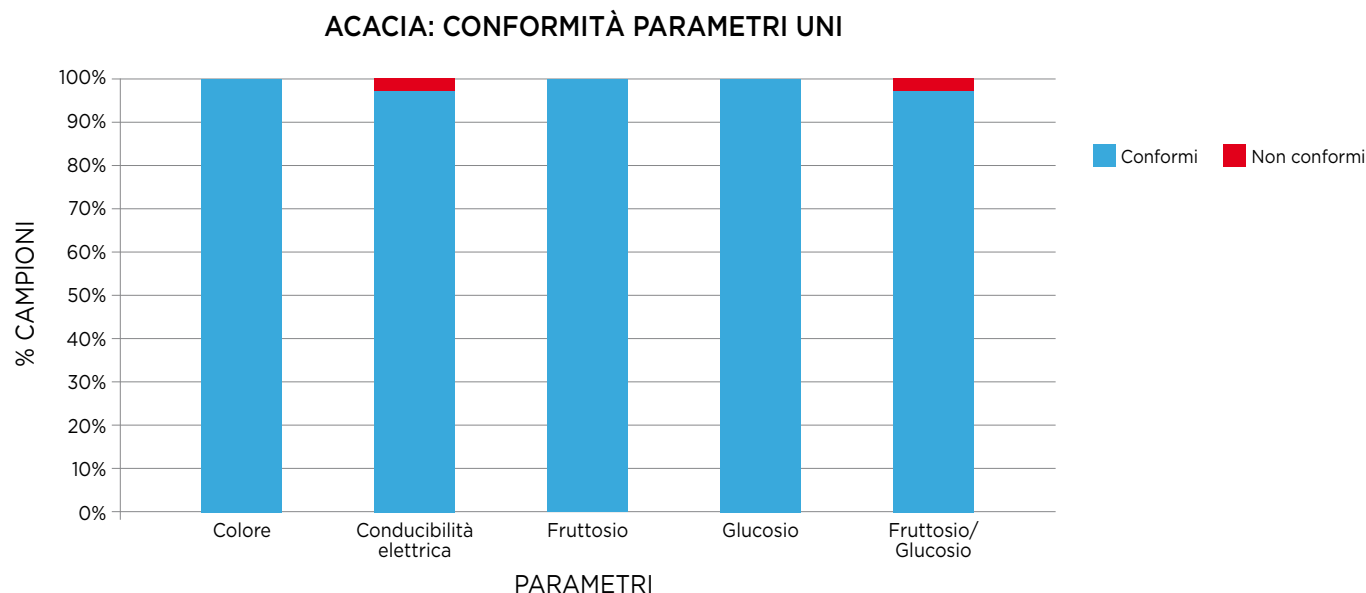
Per l'edizione 2015 del concorso, in previsione dell'entrata in vigore di un limite per il contenuto di piombo nel miele da gennaio 2016, il reparto chimico degli alimenti di Bologna dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, ha svolto la determinazione del contenuto di piombo di tutti i campioni in concorso. Da questa indagine emerse che solo l'1% dei campioni presentava valori superiori al consentito. Dall'osservazione dei dati risultò tuttavia che tali valori non erano distribuiti in maniera omogenea sul territorio. Dall'approfondimento di questi risultati emerse che tutti i valori non conformi osservati potevano essere messi in relazione con l'uso di vernici al piombo negli alveari, tecnica in uso in

## MONITORAGGIO ANTIBIOTICI



un'area geografica ristretta del territorio nazionale (area A). All'inizio degli anni 2000 si evidenziò una particolare criticità relativamente alla diffusa contaminazione del miele con farmaci veterinari non consentiti per uso apistico, in particolare antibiotici e sulfamidici. Dal 2006 al 2015, in collaborazione con il reparto chimico degli alimenti di Bologna dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna e il sostegno della Regione Emilia-Romagna, si introdusse nelle valutazioni qualitative del concorso, perlomeno per i campioni selezionati per essere premiati con i premi maggiori, l'analisi di questi residui. I risultati evidenziarono un progressivo ridursi di questa criticità.

## VERIFICA CONFORMITÀ NORME DI RIFERIMENTO UNI



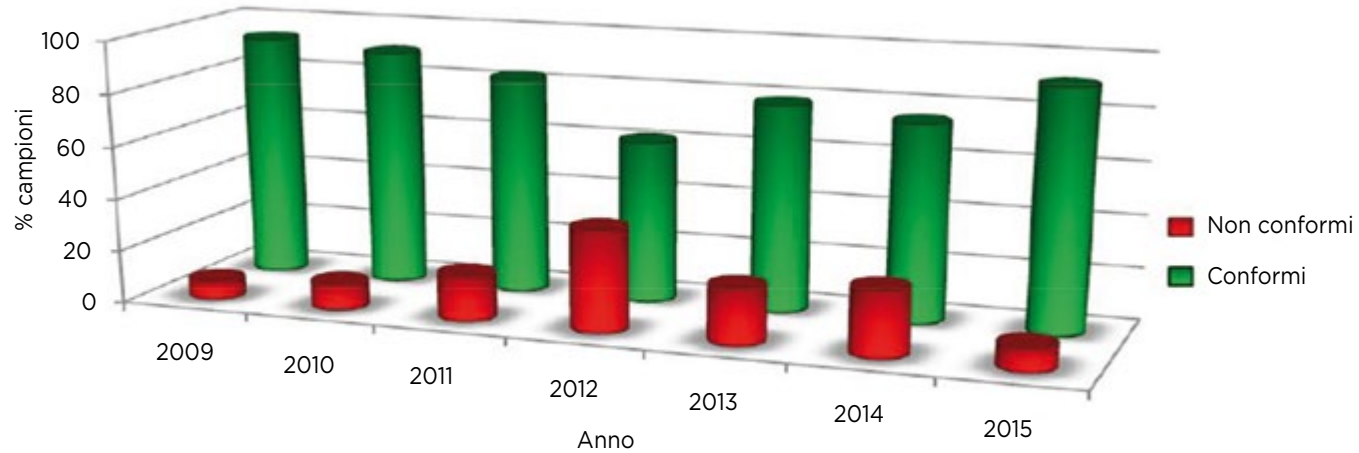
I dati prodotti con le analisi del concorso sono stati utilizzati anche per ricerche di vario genere. A titolo di esempio si riporta la ricerca che è stata oggetto della tesi di laurea magistrale di Ambra Grossi (relatrice prof. Anna Badiani) nel corso in Sicurezza e Qualità delle Produzioni Animali della Scuola di Agraria e Medicina Veterinaria dell'Università di Bologna.

In quell'occasione venne verificata l'adeguatezza dei limiti stabiliti dalle norme UNI sui cinque mieli uniflorali italiani più importanti dal punto di vista commerciale.

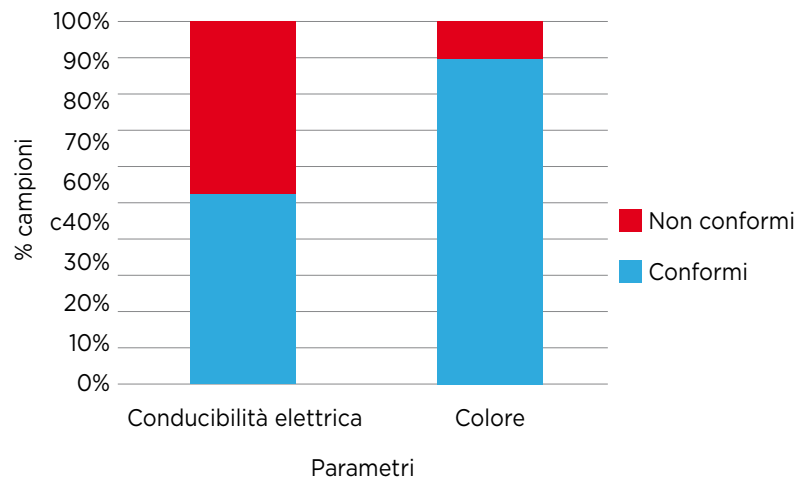
Vennero confrontati i dati in nostro possesso relativi ai campioni di miele delle cinque tipologie normate a livello UNI (acacia, agrumi, eucalipto, melata e castagno) con i limiti indicati nelle norme stesse.

Il confronto riguardò sette annate produttive ed alcune centinaia di campioni. I risultati mostrarono un sostanziale allineamento tra composizione osservata e limiti delle norme per il miele di acacia, agrumi e melata. Invece per castagno ed eucalipto si osservava frequentemente che i mieli proposti al concorso non risultavano conformi a quanto stabilito dalle norme, presumibilmente a causa delle mutate condizioni di produzione tra il periodo di definizione delle norme e il momento della ricerca.

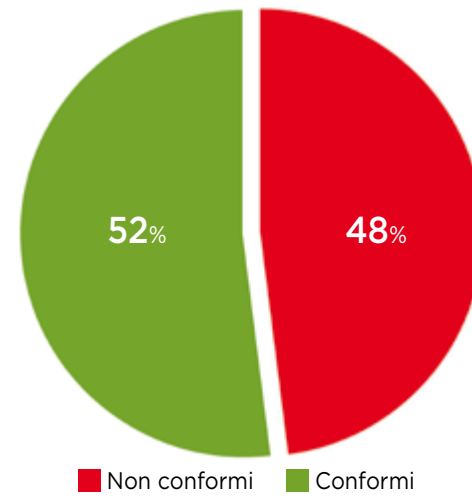
**Castagno: conformità con requisiti UNI  
(2009-2015)**



**Eucalipto: conformità parametri UNI**

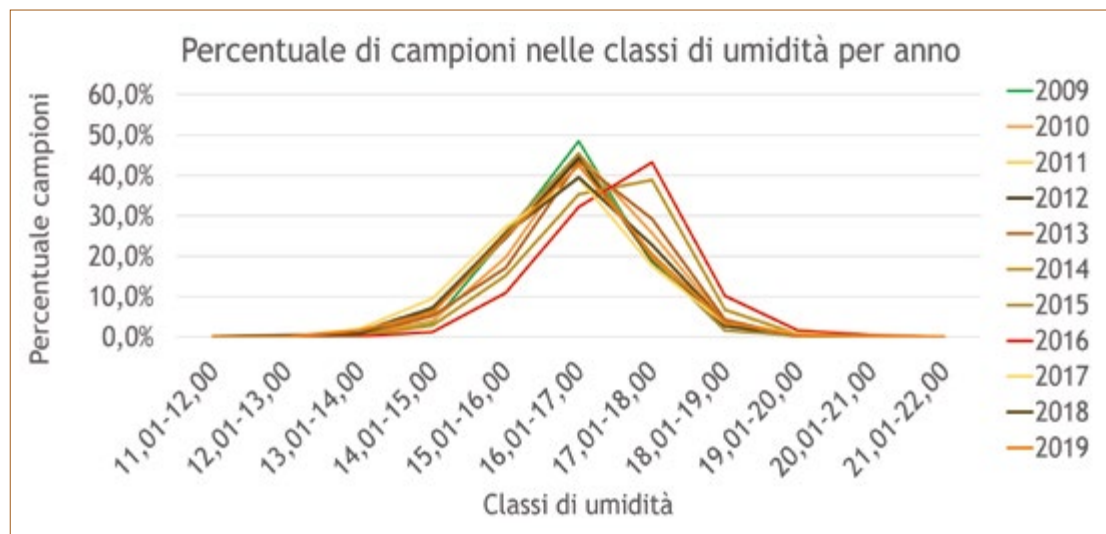


**Eucalipto UNI**



Attività di ricerca

## BANCA DATI (8.000 CAMPIONI) E BANCA MIELI (3.500 CAMPIONI)



Al fine di rendere maggiormente fruibile il patrimonio di informazioni prodotte con il concorso, si è recentemente intrapresa la sistematizzazione dei dati in possesso dell'Osservatorio (banca dati), con l'obiettivo di rendere più facilmente consultabili e accessibili anche a terzi questa risorsa, riguardante oggi circa 8.000 campioni di miele italiano. Parallelamente è stata avviata la conservazione in condizioni di refrigerazione di un'aliquota di ogni campione in concorso (banca mieli) per poterli eventualmente utilizzare per ricerche che potranno avere anche un valore retroattivo.

Sui campioni che hanno partecipato all'edizione 2019 del concorso sono state svolte alcune ricerche specifiche, delle quali relazioneranno gli altri relatori, che hanno riguardato i seguenti argomenti:

- Ricerca residui di glifosate in mieli a rischio (Floramo)
- Ricerca zuccheri esogeni in mieli di produttori nazionali (Floramo)
- Verifica criticità antibiotici (Floramo)
- Ricerca su graianotossina e alcaloidi pirrolizidinici nei mieli di rododendro (UNI PD)
- Ricerca con DNA metabarcoding (UNI BO)
- Collaborazione con il CREA-AA per l'aggiornamento delle schede di caratterizzazione su mieli uniflorali non ancora studiati





# CONCLUSIONI

2020 - 40° edizione del Concorso

## Conclusioni e prospettive

L'aumento della partecipazione al concorso è un segno della fiducia che il settore ripone nelle nostre attività e un riconoscimento della sua utilità.

La partecipazione di nuovi produttori ogni anno ci indica che il compito del concorso continua ad essere attuale.

Le insidie alla qualità del miele cambiano ma non si riducono e il concorso, con le sue molteplici attività, è uno strumento essenziale per evidenziarle e contrastarle





# Criticità di carattere endogeno e dinamiche derivanti dall'impatto ambientale

Glifosate nei mieli da colture e da piante  
spontanee, zuccheri esogeni, il possibile  
ritorno del rischio antibiotici

Giancarlo

**QUAGLIA**

Life Analytics  
Floramo Corporation







FOTO: LIDIA SANTOMAURO

# INTRODUZIONE

Il nostro laboratorio, su incarico dell'Osservatorio ha svolto le analisi di qualità su tutti i campioni di mieli partecipanti al concorso, analisi dalle quali emergono dati inconfutabili che documentano l'alta qualità dei mieli italiani. Il numero dei mieli (1011) e la loro provenienza da ogni zona produttiva del paese costituiscono un patrimonio di conoscenza veramente unico.

L'Osservatorio ha incaricato il nostro laboratorio di compiere anche alcune ricerche molto specialistiche finalizzate ad analizzare la possibile insorgenza di aree di criticità dovute a impatti esterni ed interni al processo produttivo.

La ricerca di glifosate, di zuccheri esogeni e di antibiotici nei mieli risponde esattamente a questo obiettivo: conoscere per prevenire.

# RICERCA DI GLIFOSATE NEI MIELI

L'assunzione di cibo da parte dell'uomo è una via di esposizione a sostanze dannose alla salute, tra cui i pesticidi. Il glifosate è un erbicida sistemico, non selettivo, adottato da alcune decine di anni in tutto il mondo per il controllo delle malerbe. Globalmente l'utilizzo del glifosate è aumentato notevolmente negli ultimi anni in agricoltura e nella gestione del paesaggio, in particolare nei Paesi dove si è diffusa la coltura degli organismi geneticamente modificati resistenti al glifosate stesso. Residui di questo pesticida sono stati rilevati nelle acque sotterranee e superficiali, determinando anche il superamento dei limiti di qualità ambientali, e persino in matrici alimentari poco sospettabili come il miele. La presenza di glifosate nel miele è normata dal Regolamento europeo 396/2005 (Par-

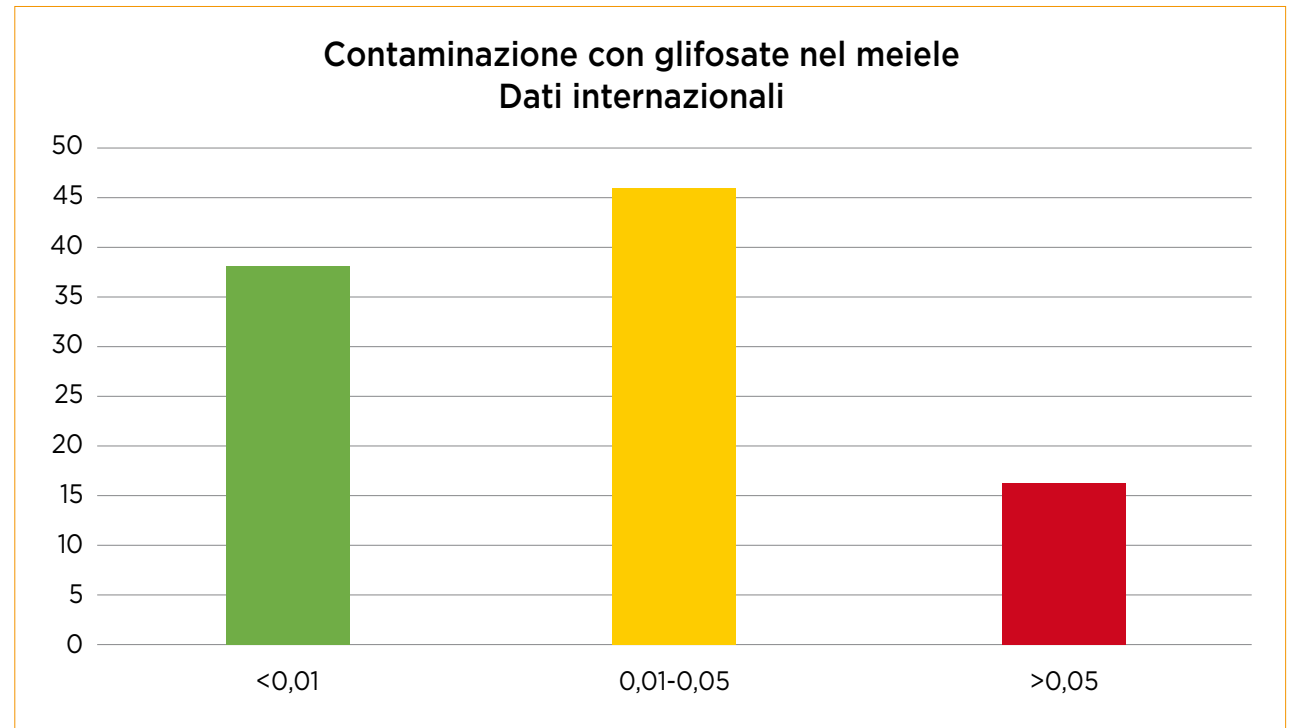
te A dell'allegato I), che stabilisce il limite massimo di residuo accettato in 0,05 mg/kg. La quantità massima di pesticida consentita nei mieli da apicoltura biologica è invece di 0,01 mg/kg.

I limiti in vigore per il miele sono molto bassi (molto inferiori rispetto a quelli indicati per molti prodotti alimentari) in quanto determinati non dal rischio per il consumatore, quanto dall'estraneità di questa molecola alla filiera di produzione del miele.

Recenti studi mettono in dubbio l'innocuità del principio attivo sull'uomo, e l'IARC (World Health Organization's International Agency for Research on Cancer) lo ha riclassificato come "probabile cancerogeno per l'uomo".



## DATI DISPONIBILI

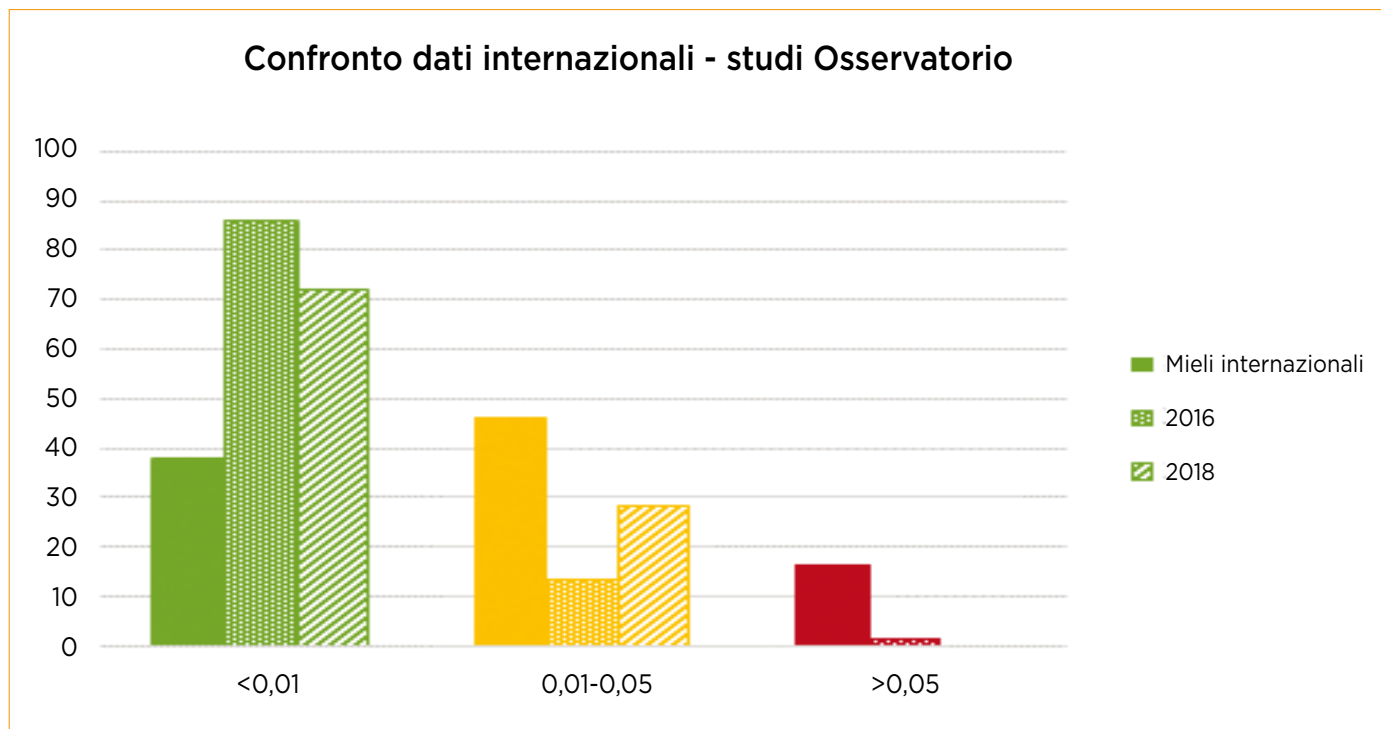


Le informazioni sulla contaminazione del miele del commercio internazionale con glifosate sono estremamente allarmanti, con più del 60% di campioni in cui tale sostanza è rilevabile e un frequente superamento dei limiti di legge.

(dati del laboratorio Floramo, 2017)



# ATTIVITÀ DELL'OSSERVATORIO DAL 2017

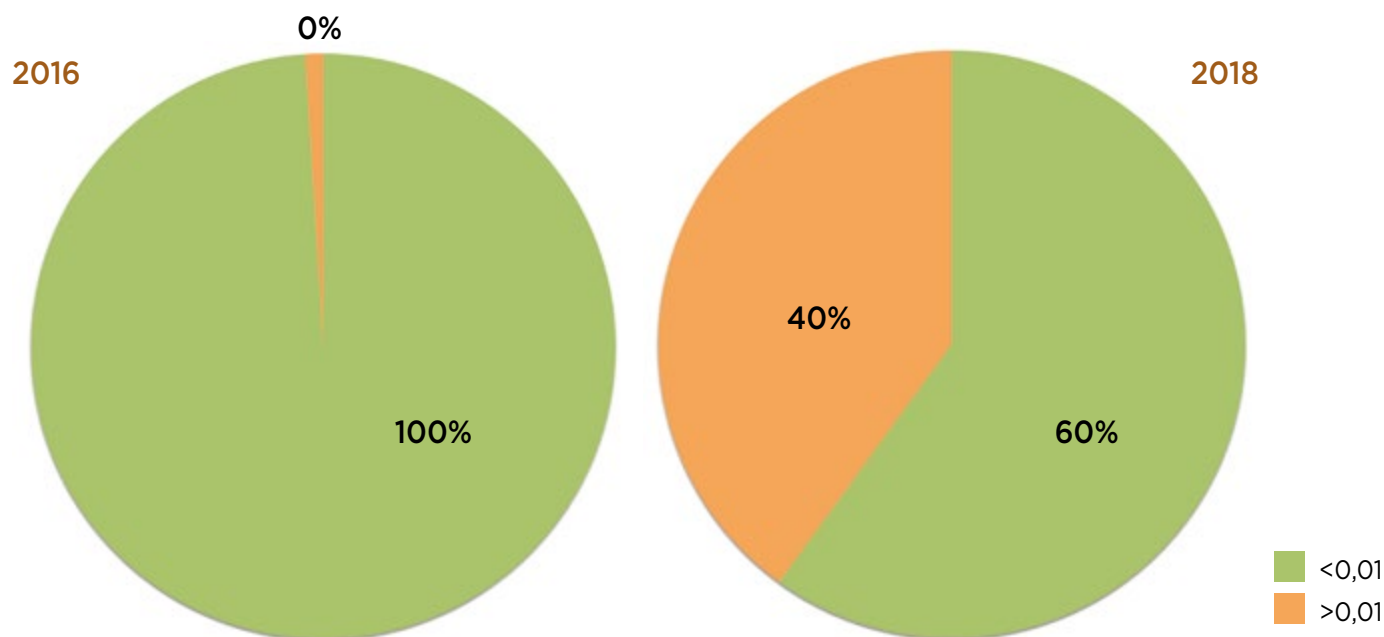


Con l'obiettivo di verificare lo stato dei mieli italiani, una prima indagine è stata condotta su mieli italiani prodotti nel corso del 2016, concentrandosi prevalentemente su mieli potenzialmente a rischio di contaminazione, cioè provenienti da piante coltivate o da ambienti fortemente antropizzati. Con l'obiettivo di confermare i risultati ottenuti, la stessa indagine è stata ripetuta su mieli prodotti nella stagione 2018, con circa un centinaio di campioni per anno. I risultati mostrano

una frequenza di contaminazione molto inferiore rispetto ai dati internazionali. Inoltre solo raramente viene superato il limite di 0,05 mg/kg (un solo caso nei due anni di indagine, pari allo 0,5% dei mieli a rischio analizzati). Preoccupa che la frequenza dei campioni positivi sia molto maggiore nel secondo anno di indagine (mieli prodotti nel 2018) rispetto al primo anno (mieli prodotti nel 2016), anche se non è possibile attribuire a questa osservazione un valore generale.

## MIELE DI AMBIENTI NATURALI

### Frequenza di contaminazione con glifosate in campioni di miele provenienti da aree senza coltivazioni

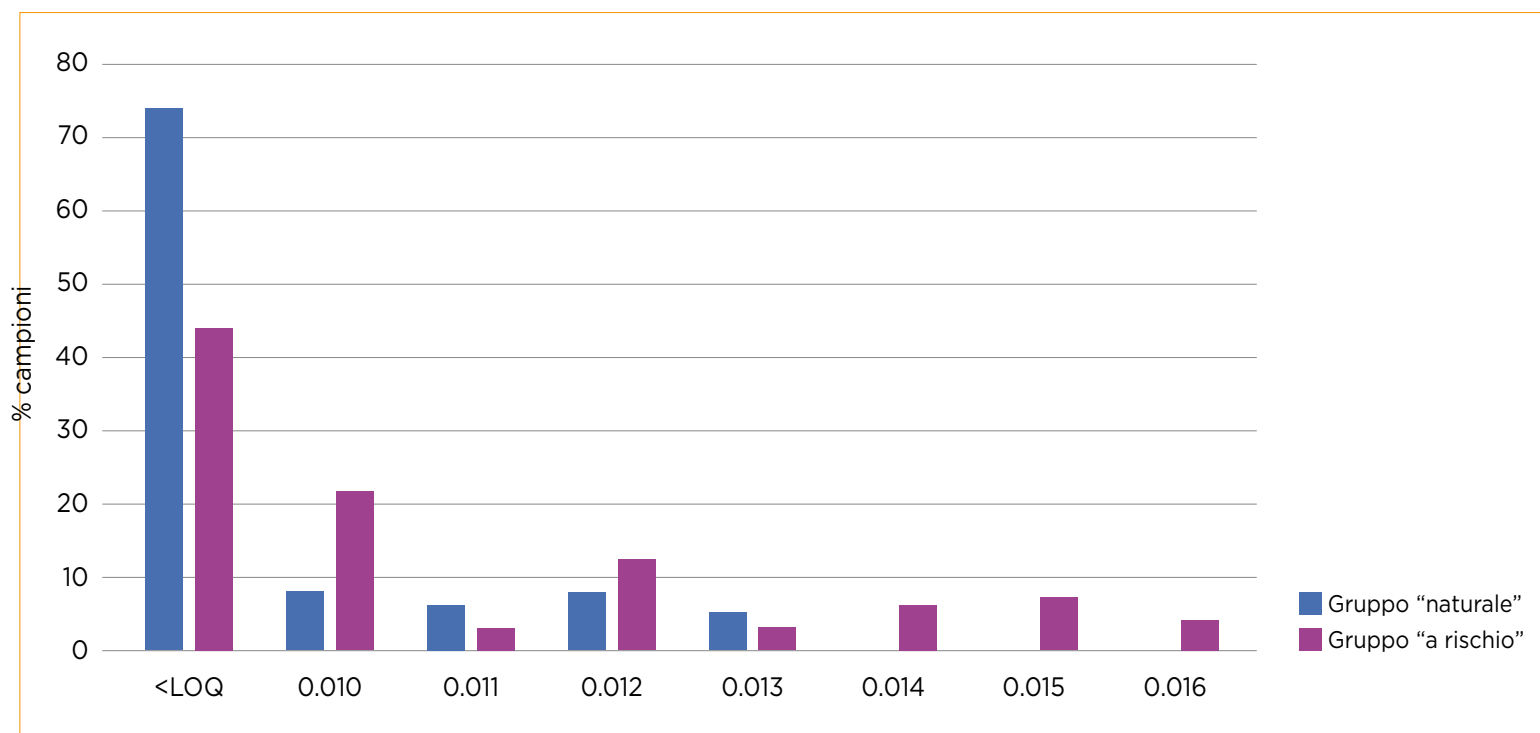


Sia nello studio sui mieli di produzione 2016 che in quello di due anni dopo, a fianco dei campioni a rischio, erano stati analizzati una decina di campioni provenienti da aree a vegetazione naturale (montagna alpina). Se i campioni di produzione 2016 erano risultati tutti negativi, quelli del 2018 presentavano invece un livello di contaminazione paragonabile ai campioni di miele originato da piante coltivate. Se il dato

del primo anno di studio era tranquillizzante, nel senso che permetteva di immaginare una contaminazione localizzata, legata all'uso del glifosate nei pressi dei luoghi di produzione, il dato ottenuto sui mieli 2018 è invece fortemente preoccupante, in quanto potrebbe indicare una contaminazione diffusa anche a notevole distanza rispetto ai luoghi di utilizzo della sostanza e quindi molto meno circoscrivibile e prevenibile.

# ATTIVITÀ SU MIELI 2019

## Presenza di glifosate nel miele

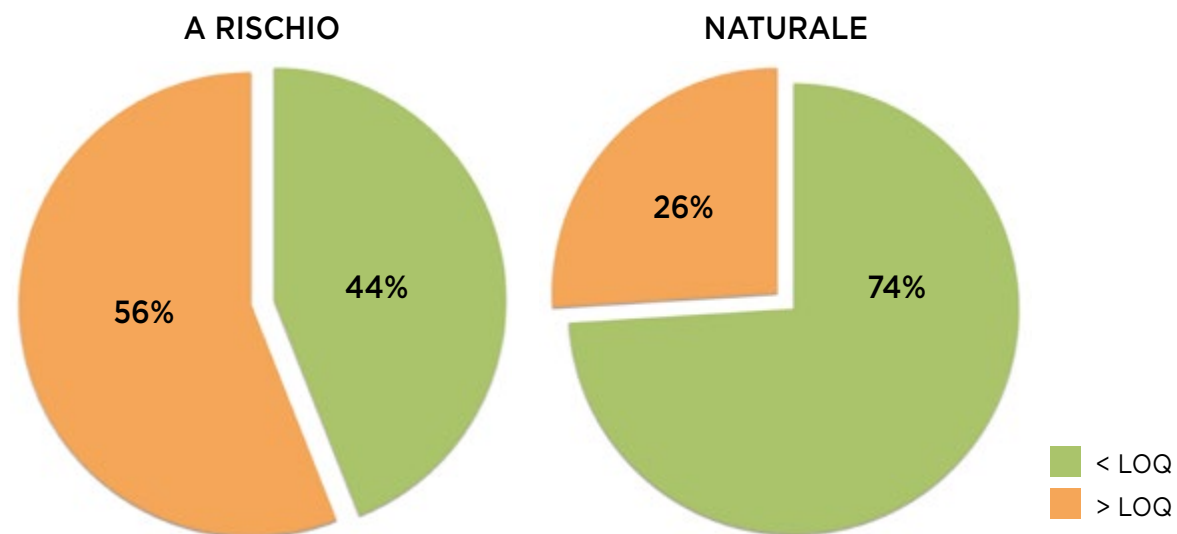


Per studiare meglio questo aspetto, la ricerca sui campioni di produzione 2019 ha riguardato due popolazioni di campioni di pari numerosità, 50 campioni potenzialmente a rischio e 50 campioni provenienti da aree naturali (montagna ad altitudine superiore a 1.000 metri). I risultati sono tranquillizzanti solo per quello che riguarda i livelli di contami-

nazione, che non superano mai i limiti legali e restano sempre inferiori a 0,020 mg/kg. Rispetto agli anni precedenti si riscontra un'ulteriore aumento della frequenza della contaminazione nei mieli da piante coltivate. Anche i mieli da ambienti naturali non sono esenti da tracce di glifosate, anche se con minore frequenza e con valori inferiori.

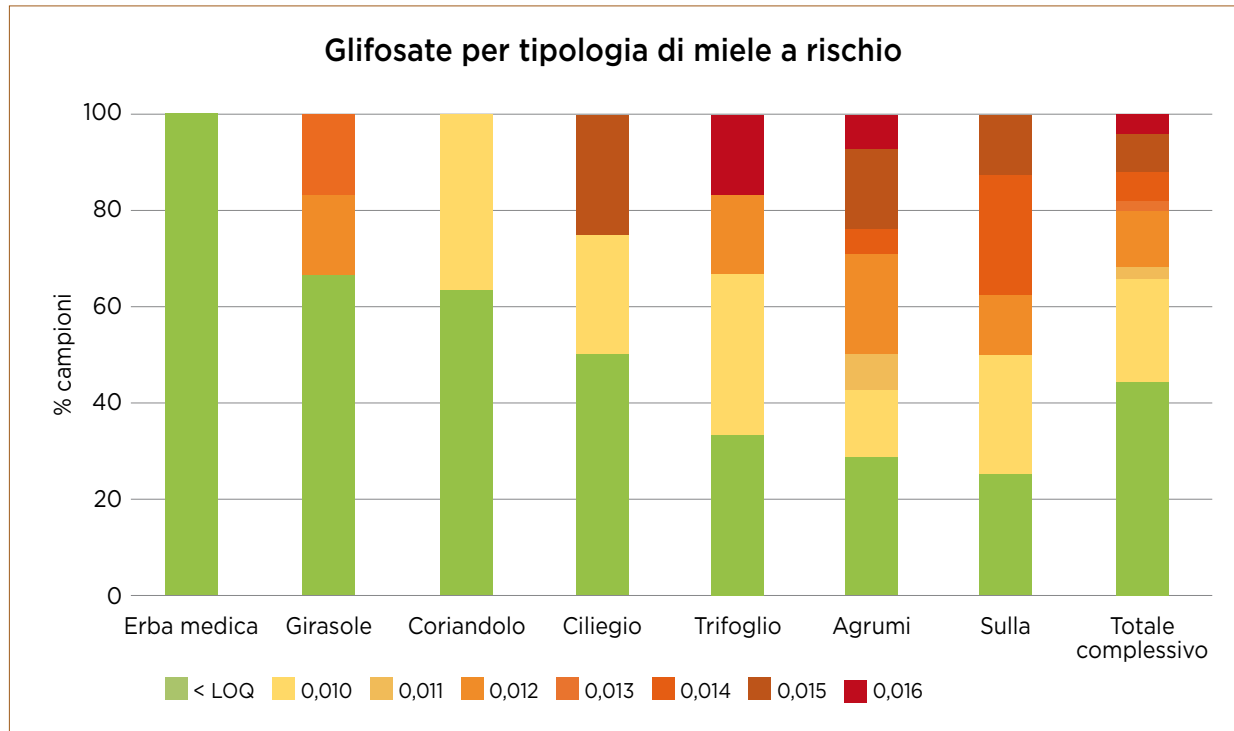


## MIELI DA AMBIENTI NATURALI 2019



Il campionamento significativo di mieli da ambienti naturali consente di avere un quadro della situazione. Anche se la frequenza di contaminazione resta inferiore rispetto a quella osservata sui mieli di piante coltivate (campioni “a rischio”), è comunque non trascurabile.

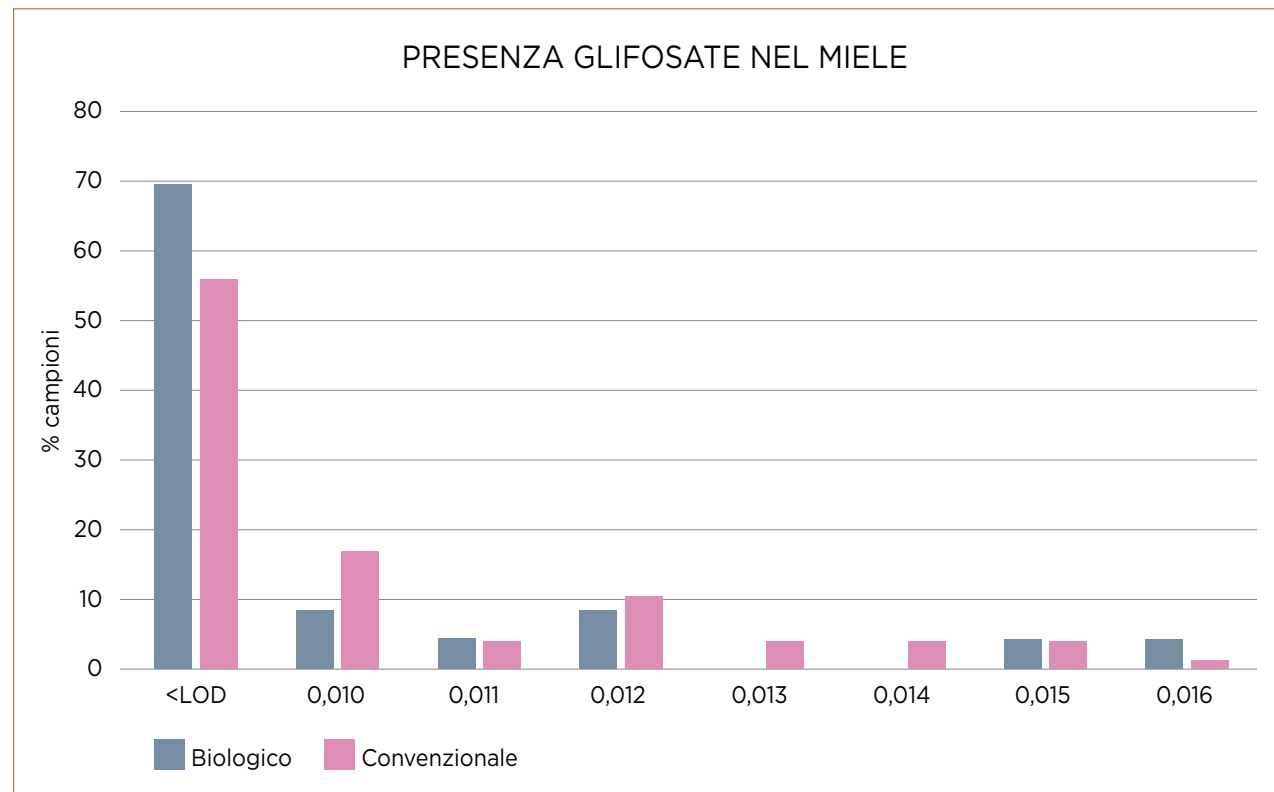
# DIVERSE COLTURE A CONFRONTO



Sono stati messi a confronto i risultati ottenuti rispetto alla tipologia di miele. I valori più elevati di contaminazione si riscontrano nei mieli di trifoglio e agrumi; la maggiore frequenza sui campioni di sulla, la minore sui mieli di erba medica, anche se il piccolo numero di campioni analizzato per tipo di miele rende questi dati solo indicativi.

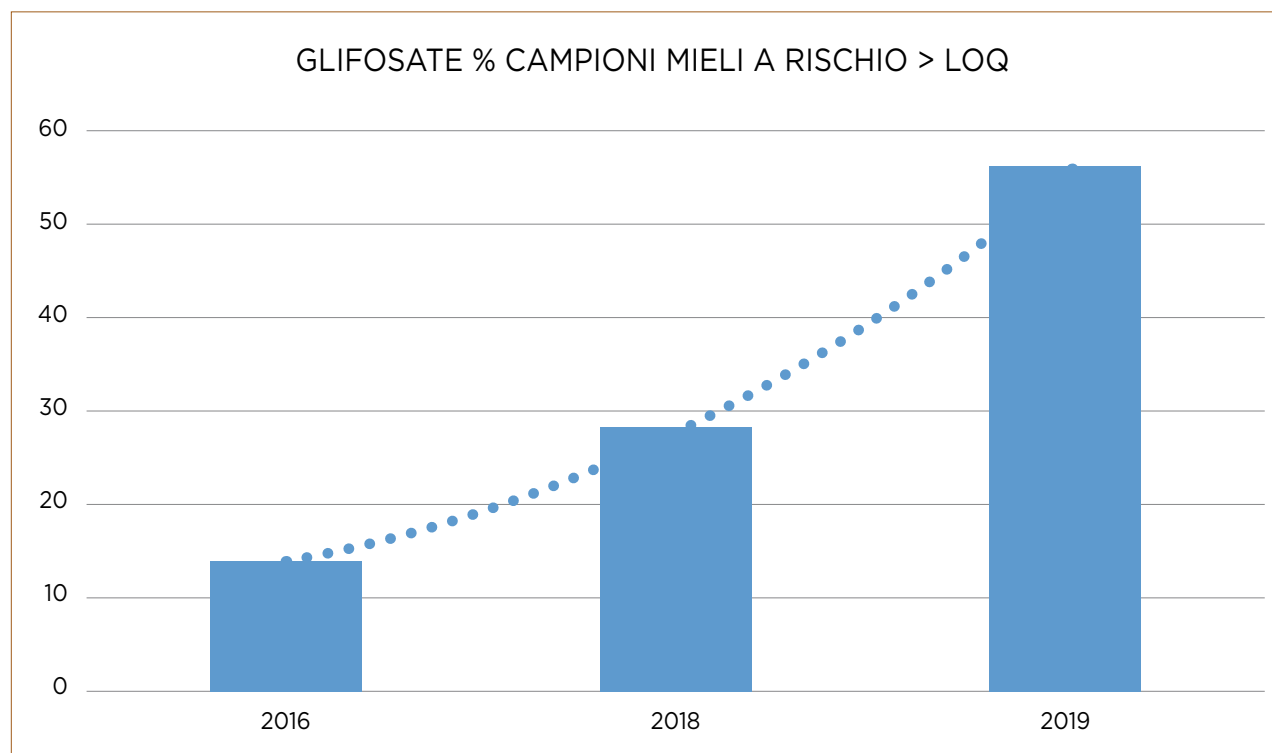


# CONVENZIONALE E BIO A CONFRONTO



Nei campioni a rischio non appare significativa la differenza di contaminazione tra mieli ottenuti con la conduzione convenzionale e quella biologica, probabilmente in relazione all'elevata superficie di azione delle famiglie d'api, che le possono portare in contatto con il contaminante indipendentemente dal posizionamento degli alveari.

# CONCLUSIONI



Pur assicurando il fatto che i livelli di contaminazione restano bassi, quasi sempre inferiori ai limiti consentiti, il trend osservato nei tre anni di ricerca, con una frequenza di contaminazione che è aumentata in maniera esponenziale suggerisce di mantenere il fenomeno sotto osservazione. Come degna di nota è l'elevata frequenza di positività anche in campioni in cui la contaminazione non era attesa (gruppo naturale), indicando un'elevata dispersione e persistenza del contaminante nell'ambiente, fatto che rende molto difficilmente contenibile il problema.



# ZUCCHERI ESOGENI

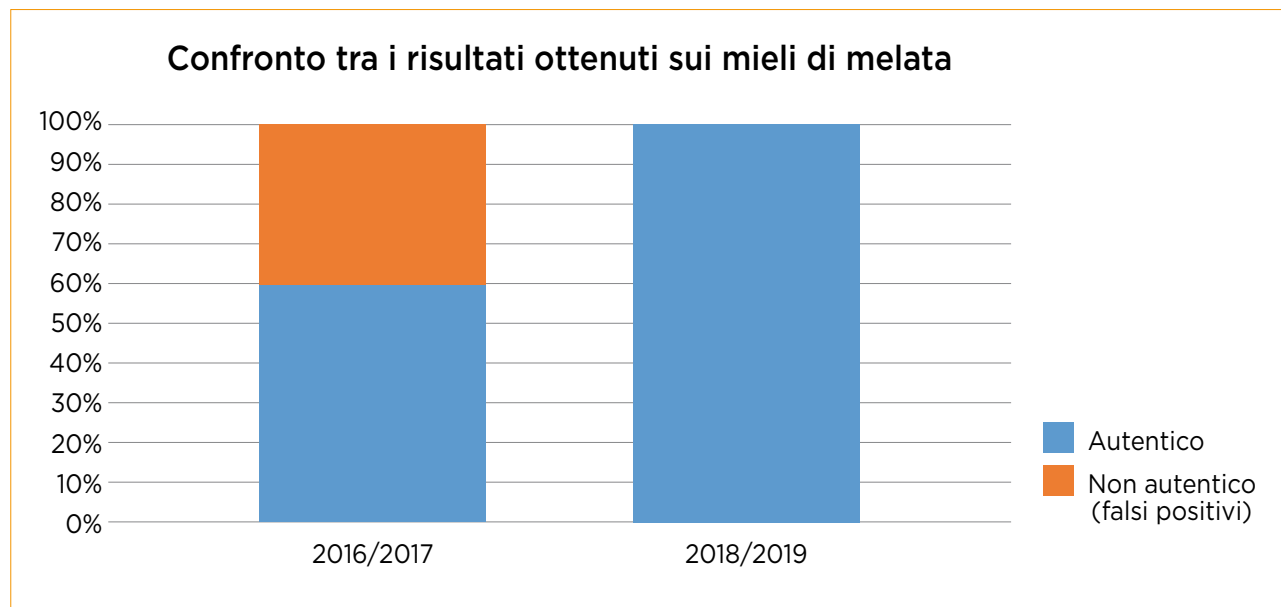
Ricerca di zuccheri esogeni in mieli di produzione nazionale

## Introduzione

Nel panorama commerciale internazionale, il rischio di adulterazioni del miele è tra quelli di maggiore interesse. Infatti, lo squilibrio tra domanda e offerta, l'elevata differenza tra il costo dei potenziali adulteranti (sciroppi zuccherini) e il miele naturale, la difficoltà di individuare analiticamente i prodotti fraudolenti e la scarsità di controlli all'origine per alcuni dei maggiori paesi esportatori (Cina e paesi asiatici in genere) portano a una frequente presenza di prodotti fraudolenti sul mercato. Conseguentemente, i laboratori di controllo, su richiesta degli acquirenti industriali di miele, sono sempre più attivi nella ricerca di metodi altamente performanti per l'individuazione delle frodi. La parte produttiva teme che metodi molto sensibili possano portare a classificare come fraudolenti anche i mieli prodotti seguendo norme di buona produzione.

Non è improbabile, infatti, che tracce minime di nutrizione zuccherina applicata al di fuori del periodo produttivo, a fini di sostentamento e stimolazione delle colonie, finiscano comunque, seppure in tracce, nei mieli prodotti nella stagione attiva. Si tratta di un argomento sensibile e di attualità, considerando anche il ripetersi di un andamento produttivo estremamente sfavorevole.

# ATTIVITÀ DELL'OSSERVATORIO DAL 2017



Confronto tra i risultati ottenuti sui mieli di melata nella prima ricerca (annualità 2016-2017) e la seconda (annualità 2018-2019). I campioni considerati non autentici sulla base dell'analisi degli oligosaccaridi sono da considerare come dei falsi positivi, che non si sono avuti nella seconda ricerca grazie all'avanzamento nelle metodologie analitiche.

## Le ricerche condotte a partire dal 2017 avevano messo in luce che:

- l'analisi microscopica è molto più sensibile rispetto alle analisi isotopiche a quelle sugli oligosaccaridi estranei nel rilevamento di residui di alimentazione nel miele, perlomeno per quelli che contengono elementi particolati;
  - le analisi isotopiche sono maggiormente performanti nell'individuazione di una presenza significativa di zuccheri esogeni
  - l'analisi degli oligosaccaridi estranei può dare dei risultati falsamente positivi sui mieli di melata, se non opportunamente calibrata.
- Nell'ambito delle ricerche per l'anno 2020, si è ritenuto interessante proseguire l'indagine sull'autenticità del miele e la valutazione delle potenzialità di diversi metodi e strumenti nella rilevazione delle stesse in quanto nuove metodiche si sono rese disponibili.



FOTO: BIAGIO NICODEMO



OSSEVATORIO  
NAZIONALE  
MIELE

## MATERIALI E METODI

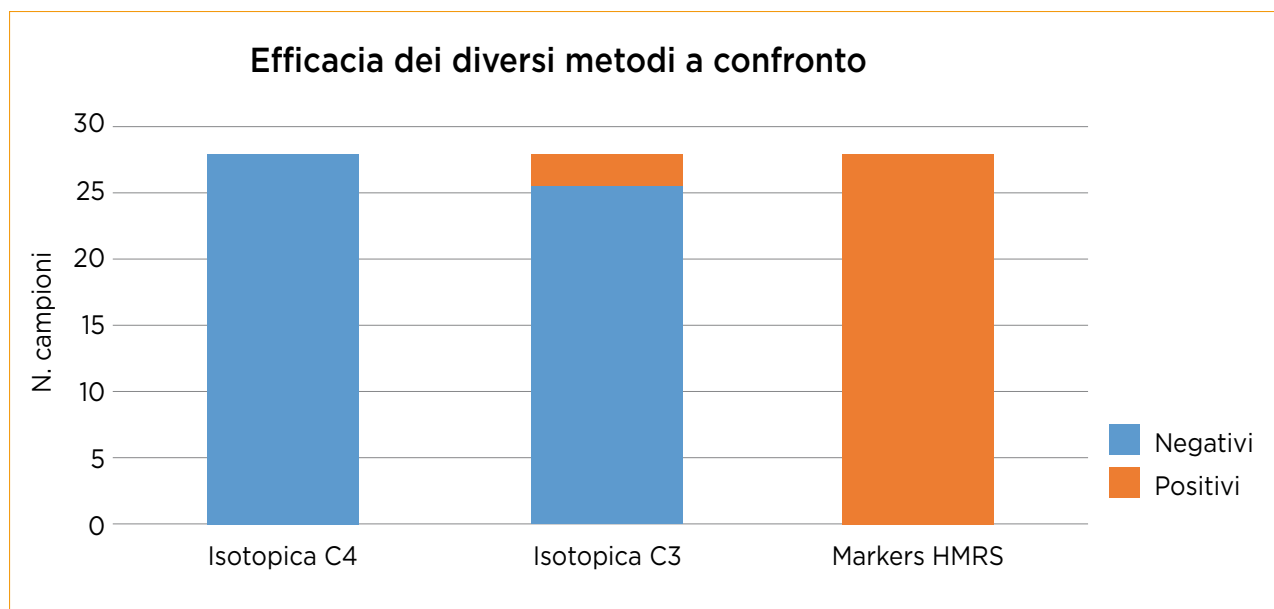
Sono stati sottoposti ad analisi 28 campioni nei quali si aveva il sospetto di presenza di zuccheri esogeni da analisi pollinica con le seguenti tecniche:

- EA-IRMS: Metodo AOAC 998.03:2003 per zuccheri esogeni di tipo C4
- LC-IRMS: Metodo per zuccheri esogeni di tipo C3
- LC-HRMS: Metodo per la determinazione dei marker indicatori di presenza o contaminazione di zuccheri esogeni.

A questi sono stati aggiunti due campioni vistosamente adulterati, come controllo positivo delle metodiche usate.



# RISULTATI



Con la tecnica di spettrometria di massa in alta risoluzione, in tutti i campioni sono state rilevate tracce a valori inferiori allo 0,1% di marker di zuccheri esogeni; solo due campioni sono risultati adulterati attraverso la tecnica LC-IRMS per zuccheri C3, mentre nessuno è apparso adulterato attraverso la tecnica EA-IRMS per zuccheri C4. I due campioni di controllo sono invece risultati positivi con tutte e tre le tecniche.

Le spettrometrie di massa isotopiche non sempre riescono a raggiungere livelli di quantificazione adeguata tale da evidenziare presenza di contaminazione da zuccheri esogeni.



FOTO: CLAUDIO GRECO

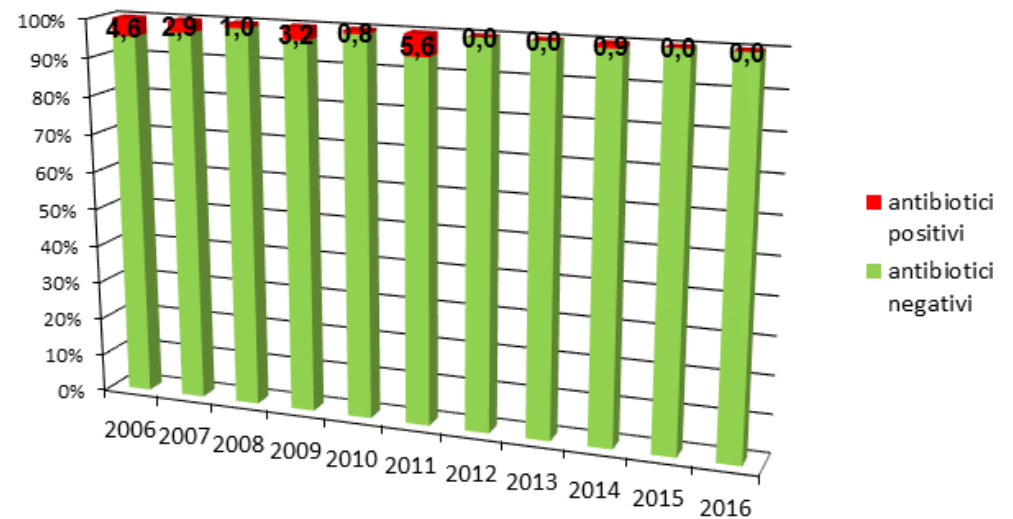
# ANTIBIOTICI

## Monitoraggio presenza antibiotici in mieli italiani di produzione 2019

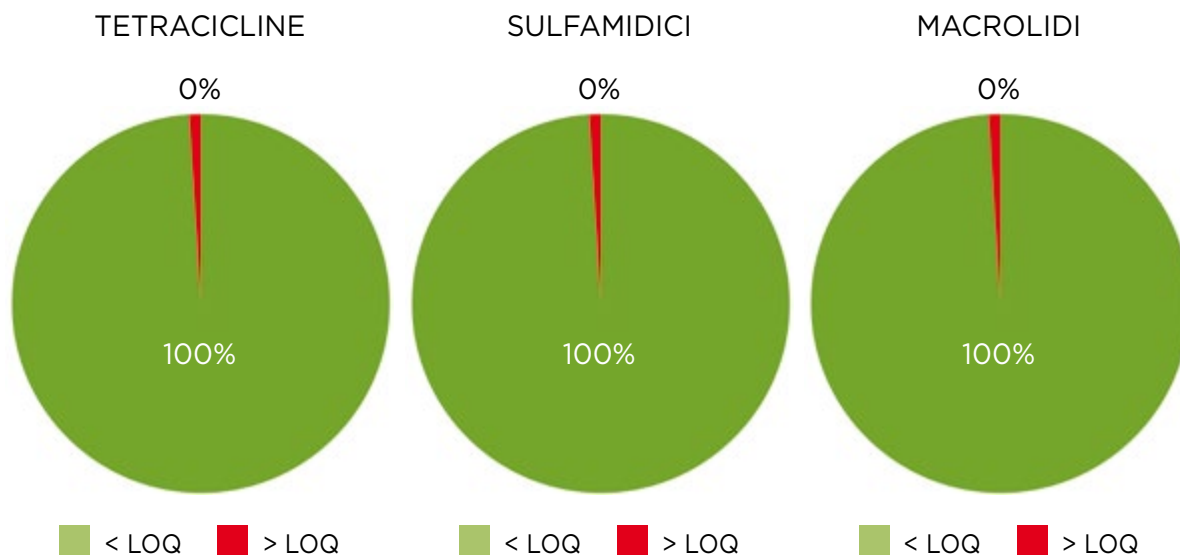
### Introduzione

Dall'inizio degli anni 2000 per circa un decennio il rischio maggiore per la salubrità del miele è stato quello relativo alla contaminazione con farmaci veterinari non autorizzati usati illegalmente per le malattie batteriche delle api (antibiotici e sulfamidici). Negli ultimi anni, tuttavia, tale rischio si era notevolmente ridotto, grazie all'attività di controllo degli organi preposti, di pressione da parte dei consumatori e di assistenza tecnica delle associazioni di categoria. Alcuni segnali facevano tuttavia temere un possibile ritorno di tale rischio.

Salubrità 2006 - 2016



# RISULTATI RICERCA ANTIBIOTICI



Si è quindi deciso di sondare la situazione attraverso l'analisi di 50 campioni, scelti in maniera casuale, tra quelli partecipanti alla 39° edizione del concorso Tre Gocce d'Oro. Sono stati ricercati le seguenti classi di molecole:

- Tetracicline
- Sulfamidici
- Macrolidi (Tilosina)

Nessuna positività superiore ad 1 µg/kg è stata riscontrata



# CONCLUSIONI

## QUALITÀ OGGETTIVA

Dalle indagini di qualità eseguite su tutti i campioni di miele in concorso emerge un quadro molto positivo della produzione nazionale.

## GLIFOSATE

Pur rassicurando il fatto che i livelli di contaminazione restino bassi, il trend osservato nei tre anni di ricerca, con una frequenza di contaminazione che cresce negli anni in maniera esponenziale, suggerisce di mantenere il fenomeno sotto osservazione.

## ZUCCHERI ESOGENI

I risultati ottenuti indicano che il problema assume contorni decisamente diversi in funzione delle tecniche analitiche utilizzate, in quanto i residui di nutrizione non appaiono, se non occasionalmente, con le tecniche più utilizzate per il controllo nelle transazioni commerciali (EA-IRMS per zuccheri C4 e LC-IRMS per zuccheri C3), mentre sembrerebbero diffusamente presenti quando gli stessi campioni vengono valutati con metodi più sensibili e innovativi (LC-HRMS per markers). Ciò indica la complessità del problema e suggerisce di continuare l'indagine al fine di comprendere meglio la diffusione del problema e le possibili soluzioni.

## ANTIBIOTICI

Dall'indagine eseguita sembra che questa problematica non sia tra le criticità attuali.





# Analisi di mieli italiani di rododendro per la ricerca di Graianotossina e Alcaloidi Pirrolizidinici

Produzione 2017, 2018 e 2019

FRANCESCA

**CAPOLONGO**

Dipartimento Biomedicina Comparata e  
Alimentazione - Università degli Studi di Padova





# INTRODUZIONE

Cosa sono le Graianotossine e gli Alcaloidi Pirrolizidinici?

Le **Graianotossine** (GTXs) e gli **Alcaloidi Pirrolizidinici** e i loro **N-ossidi** (APs-APNOs) sono tossine naturali prodotte da alcuni generi di piante.

Possono rappresentare un rischio per la salute sia dell'uomo che degli animali.

GTXs causano intossicazioni acute note fin dall'antichità.

APs e APNOs causano intossicazioni sia acute che croniche.



# Graianotossine

Il miele, oltre ai composti che forniscono effetti benefici alla salute umana, può contenere tossine naturali come le graianotossine (GTXs) e gli alcaloidi pirrolizidinici (AP) prodotte da alcune specie botaniche come difesa contro gli insetti fitofagi e gli erbivori. Le graianotossine (GTXs) sono diterpeni tetraciclici che possono trovarsi in fiori, steli, nettare, foglie e ramoscelli di piante appartenenti ai generi della famiglia Ericaceae quali: *Rhododendron* spp., *Pieris* spp. e *Kalmia* spp. Sono state isolate circa 25 isoforme di GTXs dal rododendro e tra queste gli isomeri principalmente responsabili di casi di intossicazioni in specie di interesse veterinario (bovini, cavalli, pecore, capre) e nell'uomo sono: graianotossina I (GTX I), graianotossina II (GTX II) e graianotossina III (GTX III). Queste tossine si legano ai canali del sodio voltaggio dipendenti, presenti nelle cellule muscolo scheletriche e cardiache oltre che del sistema nervoso centrale e periferico. Il legame comporta un aumento della permeabilità al sodio con conseguente inibizione della depolarizzazione della cel-

lula. Segni caratteristici dell'intossicazione acuta derivati dalla mancata ripolarizzazione delle cellule target sono: ipotensione, bradicardia, aritmie, vertigini e nei casi più gravi blocco cardiovascolare.

Nell'uomo, le intossicazioni segnalate sono riconducibili al consumo di "miele pazzo" prodotto da polline e nettare di fiori di *Rhododendron ponticum*, pianta endemica presente nella regione del Mar Nero, in molti paesi mediterranei, nelle isole britanniche, in Nord America ed in Asia (Kücük et al., 2007). Il contenuto di tossine in questa specie è particolarmente elevato (Koka, 2007), tuttavia, l'avvelenamento a seguito di ingestione di miele con elevati contenuti di GTX si è verificato soprattutto nelle regioni della costa turca del Mar Nero, in cui tali piante predominano.

Gli apicoltori locali di queste zone infatti, producono miele su piccola scala e il prodotto finale può essere ottenuto da una piccola area o addirittura da un singolo alveare e ciò significa che può contenere una notevole concentrazione di tossina dannosa per l'uo-

mo. Per questo motivo, l'Istituto federale tedesco di valutazione dei rischi (BfR) raccomanda di non consumare miele di rododendro proveniente da queste zone. BfR ritiene che per il miele prodotto in regioni e da specie di rododendro diverse da quelle citate, la concentrazione di GTXs, eventualmente presente, non possa rappresentare un rischio perché il prodotto finale è spesso una miscela di miele prodotto in diversi luoghi e ciò limiterebbe, per effetto della diluizione, la possibilità di una contaminazione ad alte concentrazioni. In realtà non tutte le specie di rododendro producono nettare contenente elevate quantità di GTXs e predire quali ibridi lo secernono è difficile, in quanto sono pochi e talvolta contrastanti i dati disponibili in

letteratura riguardo alla presenza/contenuto di GTXs in relazione alla specie di rododendro ed alla zona geografica.

In Italia le specie di rododendro spontanee sono: *Rhododendron ferrugineum*, specie endemica presente in tutte le Alpi e in particolare in quelle occidentali, e *Rhododendron hirsutum* nelle Alpi centro-orientali.

Il miele di rododendro, in Italia, viene prodotto in tutte le regioni delle Alpi: Val d'Aosta, Piemonte, Lombardia, Trentino-Alto Adige, Veneto e, in misura minore, Friuli-Venezia Giulia. È sicuramente molto apprezzato per le sue caratteristiche organolettiche, ma anche perché viene raccolto in aree incontaminate di alta montagna.

## Alcaloidi pirrolizidinici e loro N-ossidi

Gli alcaloidi pirrolizidinici (AP) e i loro metaboliti N-ossidi (APNO) sono prodotti da piante delle famiglie Asteraceae (tribù Senecioneae ed Eupatorieae), Boraginaceae (tutti i generi, ad esempio *Echium* ed *Heliotropium*) e Fabaceae (genere *Crotalaria*; Hartmann, 1999; Stegelmeier et al. 1999). Nonostante gli effetti tossici riconosciuti degli AP e i casi segnalati di avvelenamento sia nell'uomo che negli animali, causati dal consumo diretto di parti di queste piante o di infusi da esse derivati, attualmente non esistono regolamenti europei che specifichino i limiti massimi di residui negli alimenti di origine animale e nei mangimi (Picron, Herman, Van Hoeck e Gosciny, 2019). Pertanto, il gruppo di esperti scientifici sui contaminanti della

catena alimentare (CONTAM) dell'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA), sulla base dei dati disponibili sulla presenza e la tossicità degli AP, ha raccomandato che l'assunzione giornaliera non superi 0,007 µg/kg peso corporeo (p.c.) die al fine di evitare effetti cancerogeni. Questa dose è stata calcolata applicando un fattore di sicurezza di 10000 al Reference Point di 70 µg/kg p.c./die corrispondente al limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% della BMDL10 (BfR, 2011; COT, 2008; EFSA, 2011). Considerando un peso medio per individuo pari a 60 kg e ipotizzando un consumo medio giornaliero di miele di 20 g, il contenuto totale di AP-APNO non dovrebbe superare i 21 µg/kg nel prodotto miele.





FOTO: MAZZOCCHI LUCA

## SCOPO DELLA RICERCA

Verificare, per la prima volta, la possibile presenza di GTXs e di APs-APNOs nel miele di Rododendro delle zone Alpine italiane.

## Obiettivi

Ad oggi esistono informazioni limitate e contrastanti sulla presenza quali/quantitativa di graianotossina nelle specie *Rhododendron ferrugineum* e *R. hirsutum* (specie presenti in Italia) e non ci sono dati riguardanti la presenza delle stesse nel miele ottenuto dalla bottinatura di queste specie. Scopo primario di questa ricerca è stato quello di indagare sulla presenza di queste tossine nel miele di rododendro prodotto nelle Alpi italiane per la valutazione del rischio associato al suo consumo. Inoltre la ricerca è stata estesa alla possibile co-presenza di alcaloidi pirrolizidinici, tossine presenti nel nettare di piante infestanti che se presenti nel territorio possono essere bottinate in funzione della loro diffusione e potrebbero teoricamente trovarsi come contaminanti naturali anche nel miele di rododendro.

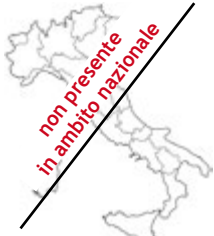
# GTXs

# APs-APNOs

Turchia  
Nord America  
Asia

Ericaceae

ITALIA



*Rhododendron ponticum*



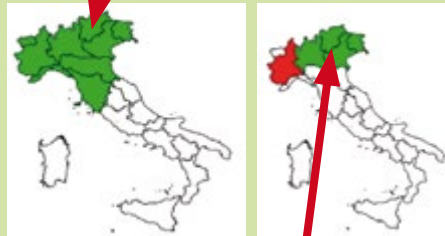
*Rhododendron luteum*



*Pieris japonica*



*Rhododendron ferrugineum*



*Rhododendron hirsutum*

Senecionina, Senecifillina, Retrorsina

Asteraceae



*Senecio erucifolius*



*Senecio vulgaris*



*Petasites hybridus*

Boraginaceae



*Echium plantagineum*



*Symphitum officinale*



*Anchusa officinalis*



*Borago officinalis*

Echimidina, Licopsamina

Di Jean-Pol GRANDMONT - Opera propria, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=21259678>





# Materiali e metodi

**Mieli di Rododendro n.= 125**

**Analisi in Spettrometria di Massa**

**Graianotossina I (LOQ 10 µg/kg)**

**Alcaloidi Pirrolizidinici (9AP; 8 APNO) (LOQ 0,2 µg/kg)**

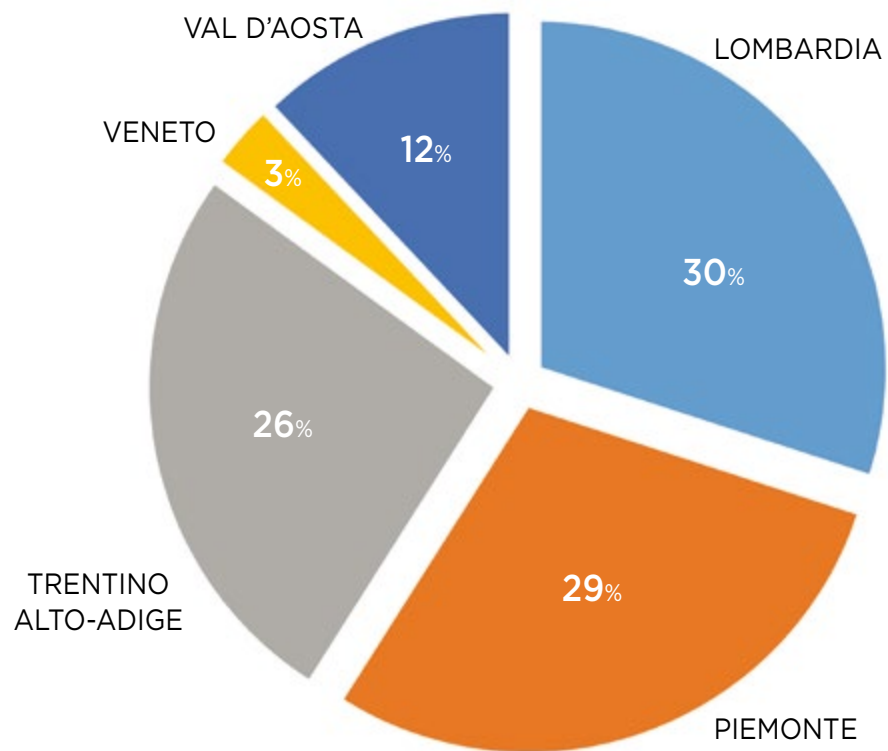
Per la determinazione del contenuto di GTX I, è stato sviluppato e ottimizzato un metodo rapido e molto sensibile basato sulla semplice diluizione dei campioni e un'analisi in cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa (LC-MS/MS). Per la determinazione di AP-APNO è stato impiegato un metodo sviluppato e validato dal nostro gruppo di ricerca che permette l'identificazione e la quantificazione di 9 AP (Echimidina, Eliotrina, Intermedina, Licopsamina, Jacobina, Retrosina, Senecifillina, Senecionina, Senkirkina) e 8 APNO (Echimidina-NO, Eliotrina-NO, Indicina-NO, Jacobina-NO, licopsamina-NO, Retrorsina-NO, Senecifillina-NO, Senecionina-NO) attraverso una estrazione/purificazione del campione mediante colonnine in fase solida (SPE) e successiva analisi in LC-MS/MS.

Questi due metodi sono stati applicati per l'analisi di 125 campioni di miele di Rododendro italiano, forniti dall'Osservatorio Nazionale Miele, raccolti nel 2017, 2018 e 2019.

FOTO: FABIO SILVESTRE

# MIELI DI RODODENDRO

da Osservatorio Nazionale Miele



	Analisi sensoriale	Analisi pollinica	Analisi qualità	Risultati
Mieli 2017 (n=45)	✓	✓	✓	3 campioni non di Rododendro
Mieli 2018 (n=45)	✓	Solo su 12 campioni	✓	1 campione non di Rododendro e 3 borderline
Mieli 2019 (n=35)	✓	✗	✓	

↓  
NO GTX I





FOTO: RAIMONDO FULCHERI

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Analisi in LC-MS/MS per  
- Graianotossina I  
- Alcaloidi Pirrolizidinici

### 2017

36% di campioni contengono GTX I  
(media di 37,5 µg/kg)

38% di campioni contengono AP  
(media di 0,82 µg/kg)

### 2018

29% di campioni contengono GTX I  
(media di 30,6 µg/kg)

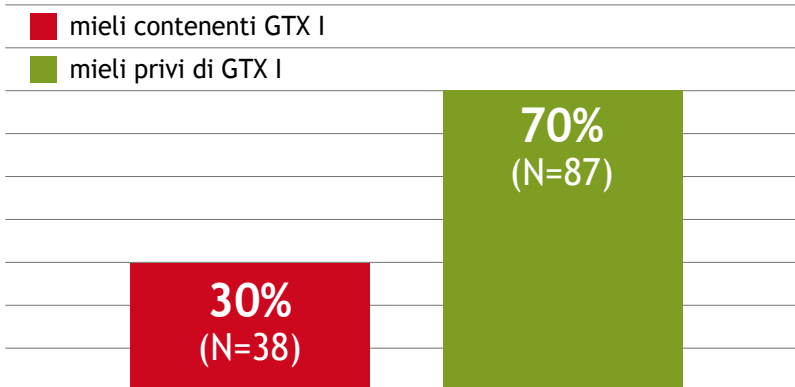
27% di campioni contengono AP  
(media di 0,48 µg/kg)

### 2019

26% di campioni contengono GTX I  
(media di 52,2 µg/kg)

48% di campioni contengono AP  
(media di 1,4 µg/kg)

# GTXs



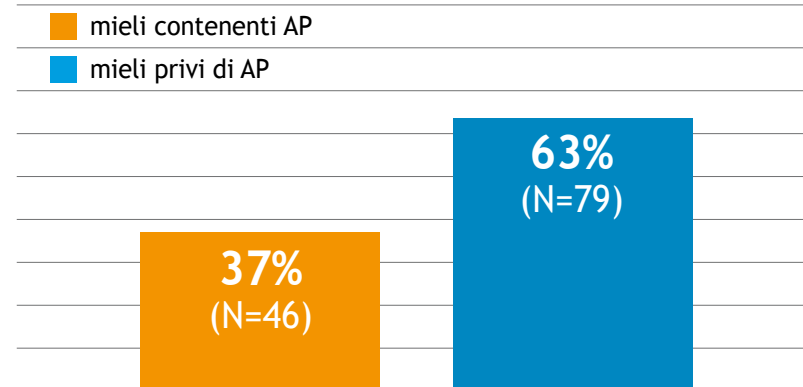
## GTX I in 125

[x] da 12,3 a 103,5 µg/kg

38,6 µg/kg [x] media campioni con GTX I

11,7 µg/kg [x] media in 125 campioni

# APs-APNOs



## APs-APNOs in 125

[x] da 0,2 a 6,2 µg/kg

0,9 µg/kg [x] media campioni con AP

56% senecifillina; 54% echimidina

0,3 µg/kg [x] media in 125 campioni

# GTX I



## ...LE CONCENTRAZIONI DI GTX I IN «MAD HONEY»?

Se consideriamo Aygun et al., (2018):  
8700 µg/kg concentrazione media



## Nel miele di rododendro italiano le concentrazioni di GTX I sono:

38,6 µg/kg (media solo campioni con GTX)  
→ circa 225 volte inferiore

11,7 µg/kg (media su 125 campioni totali)  
→ circa 744 volte inferiore





FOTO: GERMANO BENIZZI

## CONCLUSIONI

- Nel miele di rododendro italiano la concentrazione media di GTX I risulta essere almeno di circa 225 volte più bassa rispetto a quella in «mad honey» che ha provocato intossicazioni nell'uomo
- Un'intossicazione acuta a seguito del consumo di miele di rododendro italiano è da considerarsi come una possibilità remota
- La concentrazione media dei campioni con alcaloidi pirrolizidinici è  $0,9 \mu\text{g}/\text{kg}$  ossia 23 volte più bassa del limite di  $21 \mu\text{g}/\text{kg}$  proposto da EFSA

Il monitoraggio condotto su 125 campioni di miele ha evidenziato che la concentrazione media di GTX I rilevata risulta dalle 225 alle 744 volte inferiore a quella trovata nel miele di rododendro di origine turca responsabile di casi di intossicazione acuta nell'uomo, a seconda che si consideri il valore medio rispetto ai soli campioni contenenti GTX I o il valore medio rispetto a tutti i campioni analizzati. I dati più recenti presenti in letteratura riguardanti uno studio su 25 casi di intossicazione nell'uomo hanno evidenziato che i pazienti avevano consumato quantità variabili di miele contenente una concentrazione media di GTX I pari a 8,73 mg/kg.

I dati raccolti in questa indagine conoscitiva suggeriscono che si possa escludere la possibilità di intossicazione acuta nell'uomo a seguito del consumo di miele proveniente dalle regioni italiane considerate. Va inoltre segnalato che pur non essendo stato possibile quantificare la GTX III, per indisponibilità commerciale dello standard, è stato rilevato che il segnale corrispondente a questo composto non supera mai quello della GTX I, mentre in un campione di miele di rododendro di produzione turca acquistato via internet il rapporto del segnale GTX I vs GTX III risulta 1:3. Questi risultati sono in linea sia con quanto evidenziato da Aygun et al., (2018) che riporta concentrazioni medie pari a 8,73 e 27,6 mg/kg, rispettivamente per GTX I e GTX III (2018) che da Kaplan et al., (2014) nel cui lavoro si evidenzia che il rapporto tra i due composti varia in funzione della provincia di raccolta del miele. Pertanto i risultati ottenuti confermano che vi sono delle differenze non solo quantitative ma anche qualitative per quanto riguarda questi composti legate sia alla specie bottinata che al territorio di origine. In merito alla presenza di alcaloidi pirrolizidinici la concentrazione media rilevata nei campioni 2017- 2018 - 2019 è 0,9 µg/kg che è 23 volte più bassa del limite di 21 µg/kg proposto da EFSA nel 2011. Gli alcaloidi pirrolizidinici identificati e quantificati con maggior frequenza suggeriscono la presenza di specie quali *Senecio spp.* (Asteraceae) ed *Echium spp.* (Boraginaceae).



## IN SINTESI

Prospettive per ulteriori  
sviluppi della ricerca

Valorizzazione del prodotto  
e sicurezza del consumatore



Monitoraggio GTX nel miele italiano  
di rododendro per tre anni

Valutazione quali-quantitativa di GTX  
nelle specie di rododendro presenti  
in Italia in relazione al territorio

Sulla scorta dei risultati ottenuti si suggerisce l'importanza di continuare il monitoraggio sulla presenza di GTX I nel miele di Rododendro italiano estendendolo, se possibile, anche a GTX III (questo dipende dalla disponibilità commerciale dello standard) in modo da poter seguire l'andamento della produzione in funzione dell'annata. Sarebbe anche auspicabile condurre uno studio che caratterizzi la presenza di queste tossine nelle specie botaniche caratteristiche delle zone di produzione, visto che la distribuzione delle due specie italiane è diversa nella parte occidentale rispetto a quella orientale.

# BIBLIOGRAFIA

- Aygun, A., Sahin, A., Karaca, Y., Turkmen, S., Turedi, S., Ahn S.Y., Kim, S., Gunduz A. 2018. Grayanotoxin levels in blood, urine, honey, and their association with clinical status in patients with mad honey intoxication. *Turkish J. Emergency Medicine*: (18), 29-33.
- BfR, 2011. Chemical Analysis and Toxicity of Pyrrolizidine Alkaloids and Assessment of the Health Risks Posed by Their Occurrence in honey. BfR. (Federal Institute for Risk Assessment).
- COT, 2008. COT Statement on Pyrrolizidine Alkaloids in Food. Committee on toxicity of chemicals in food, consumer products and the environment.
- Koka, I., Koka, F. 2007. Poisoning by mad honey: A brief review. *Food and Chem. Toxicol.*: 45, 1315-1318.
- Kukuc, M., Kolaylı, S., Karaoglu, S., Ulusoy, E., Baltacı C., Candan, F. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem.*: 100, 526-534.
- EFSA, 2011. Scientific opinion on pyrrolizidine alkaloids in food and feed: EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA J.*: 9 (11), 1-134.
- Hartmann, T., 1999. Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. *Planta*: 207 (4), 483-495.
- Kaplan, M, Olgun, O.M., Karaoglu, O., 2014. Determination of Grayanotoxins in Honey by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Using Dilute-and- Shoot Sample Preparation Approach *J. Agric. and Food Chem.*: 62, 5485 - 5491.
- Picron, J., Herman, M., Van Hoeck, E., Gosciny, S., 2019. Monitoring of pyrrolizidine alkaloids in beehive products and derivatives on the Belgian market. *Environ. Sci. Pollut. Control Ser.* 1-16.
- Stegelmeier, B., Edgar, J., Colegate, S., Gardner, D.R., Schoch, T.K., Coulombe, R.A., Molyneux, R.J., 1999. Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. *J. Nat. Toxins*: 8 (1), 95-1.







# Metodi innovativi d'indagine con la ricerca dei DNA presenti nei mieli

Dalla genomica, nuovi strumenti  
al servizio dell'apicoltura

LUCA

**FONTANESI**

Dipartimento di Scienze e Tecnologie  
Agro-alimentari Università di Bologna





FOTO: TIZIANO ANDRIOTTO

# INTRODUZIONE

Il miele e il DNA ambientale

## Il DNA del miele

Tutti gli organismi che direttamente o indirettamente sono venuti a contatto con il miele durante il suo “percorso” di produzione lasciano la loro traccia di DNA nel miele

Questo DNA è indicato come “DNA ambientale”

L’informazione che è presente nel DNA ambientale del miele può essere utilizzata per innumerevoli scopi

# IL DNA DEL MIELE

Ma quanti sono gli organismi che partecipano alla produzione o che vengono in contatto con il miele e che quindi lasciano una traccia del loro DNA in questo prodotto? E quanto grande è il loro genoma?



Una prima stima, che deriva dalle conoscenze che potremmo già avere sul processo di produzione del miele, ci permette di predire che decine o centinaia di organismi diversi (l'ape, diversi funghi, batteri, piante, ecc.) potrebbero lasciare una traccia di DNA nel miele.

Il genoma di questi organismi ha una dimensione che può variare da alcune decine di milioni di nucleotidi a qualche miliardo di nucleotidi. Si può quindi già immaginare l'enormità e la complessità dell'informazione contenuta nel DNA che si può ritrovare nel miele.



Risposte più precise le possiamo dare dopo aver illustrato le potenzialità di analisi del DNA

# CHE COS'È IL DNA

Tra i metodi più innovativi di indagine che possono essere applicati a diversi prodotti alimentari, compreso anche il miele, l'analisi del DNA rappresenta probabilmente l'approccio più promettente grazie alle sue potenzialità e alla sua sensibilità. La genomica è la disciplina che studia la struttura e la sequenza del DNA, cioè l'informazione genetica di tutti gli organismi che è racchiusa nel loro genoma.

Il miele contiene molti e diversi componenti che caratterizzano questo prezioso alimento. I vari componenti forniscono informazioni sull'origine botanica e geografica, sullo stato di conservazione e su diversi altri aspetti. Il miele contiene anche DNA.

Dobbiamo precisare che il miele non ha di per sé un "suo DNA", in quanto non è un organismo vivente ma un prodotto che deriva da organismi viventi.

Il suo DNA deriva da tutti gli organismi che direttamente o indirettamente hanno preso parte al suo processo di produzione o che sono venuti a contatto con il miele nel suo percorso di produzione che inizia dal nettare delle piante o dalla melata, continua

nell'alveare e termina nel vasetto o nel contenitore che viene venduto, stoccato e poi consumato o lavorato ulteriormente.

Il DNA presente nel miele è anche indicato con il termine di "DNA ambientale". Cioè il DNA che deriva dall'ambiente e dal contesto in cui questo prodotto è stato ottenuto.

Le tracce di DNA che si ritrovano nel miele sono molto informative. Ma l'informazione che possiamo ottenere dal DNA del miele da dove deriva? Come la possiamo interpretare? E poi, come la possiamo analizzare? Le risposte che daremo permettono di capire meglio il valore del DNA.



Prima di tutto dobbiamo spiegare che cosa è il DNA. I testi di biochimica definiscono in modo preciso questa molecola fondamentale per la vita. A noi interessa solo dare alcuni elementi utili per far intuire le grandi potenzialità che il DNA ha nel nostro contesto.

L'acronimo "DNA" sta per acido desossiribonucleico (che in inglese si traduce con le parole Deoxyribo-Nucleic Acid, da cui la sigla che utilizziamo comunemente). Chimicamente è costituito da quattro tipi di mattoncini, i nucleotidi: Adenina (A), Citosina (C), Guanina (G) e Timina (T).

Questi mattoncini, indicati con le rispettive lettere iniziali, sono legati tra di loro in combinazioni infinite e costituiscono il DNA che si trova nelle cellule degli organismi procarioti (ad esempio i batteri), degli organismi eucarioti (cioè gli organismi che hanno cellule nucleate) e nei virus (considerati "parassiti" cellulari dei diversi organismi).

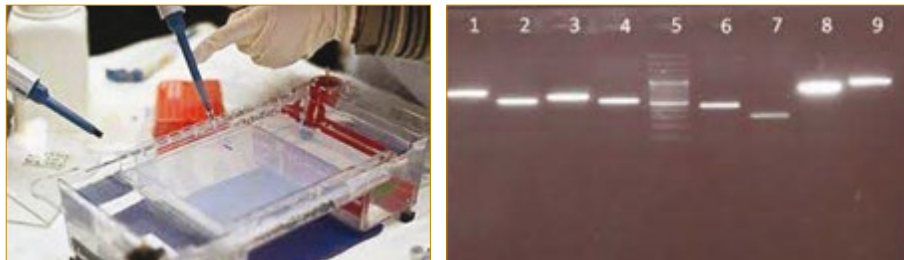
Il DNA rappresenta il materiale genetico di tutti questi organismi e costituisce il loro genoma. Vi sono diversi "tipi" di genoma: il genoma nucleare, il genoma

mitocondriale e il genoma cloroplastico (quest'ultimo presente solo nelle piante). Ciascuno porta diverse informazioni che possono essere molto utili nell'analisi del miele. L'ordine in cui i quattro mattoncini sono disposti nel DNA rappresenta la sequenza del DNA.

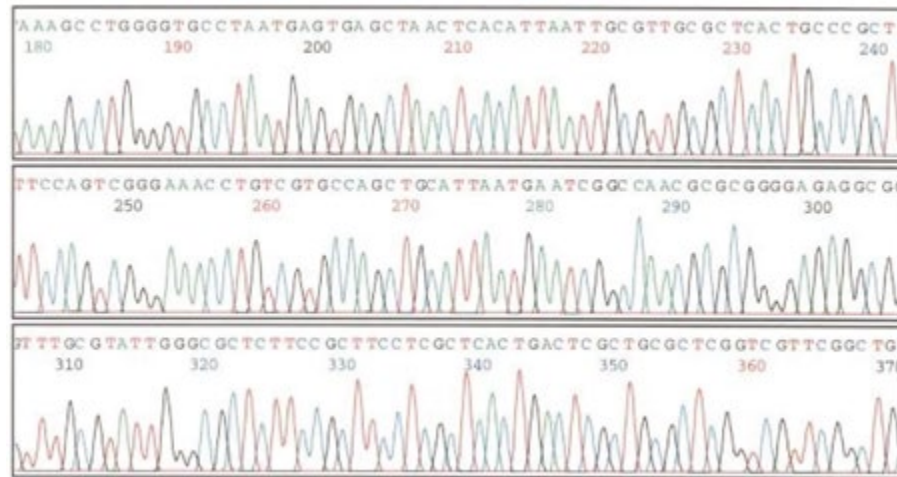
La sequenza del DNA ci permette di dire a quale organismo il DNA che analizziamo appartiene e a quale regione del genoma (o a quale tipo di genoma) corrisponde. Questo è possibile confrontando la sequenza del DNA, ottenuta grazie ai metodi di analisi che spiegheremo più avanti, con le informazioni di sequenza già disponibili in banche dati specializzate e che riportano l'annotazione del DNA. Il confronto viene effettuato con sistemi bioinformatici che ci permettono di "tradurre" la sequenza di mattoncini che, di per sé, sarebbe impossibile interpretare.

# COME SI ANALIZZA IL DNA

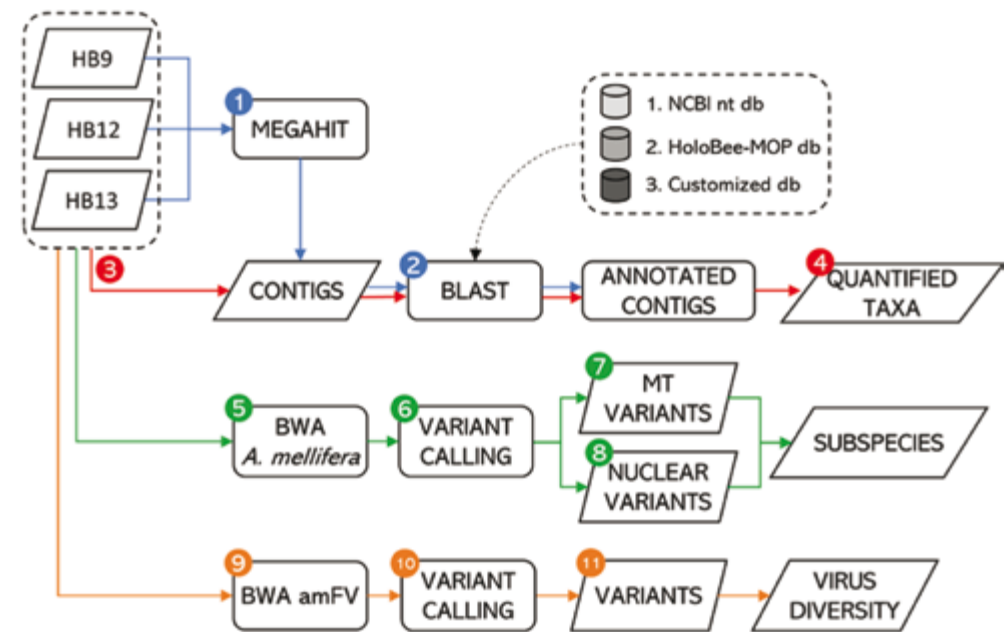
1. Amplificazione del DNA mediante PCR
2. Sequenziamento del DNA con metodo Sanger
3. Sequenziamento del DNA con tecnologie di Next Generation Sequencing



Risultati dell'amplificazione del DNA con PCR



Elettroferogrammi di sequenza ottenuti con metodo Sanger



Analisi bioinformatica dei dati di sequenziamento ottenuti con tecnologie di Next Generation Sequencing

Il DNA si può analizzare con diversi approcci e metodologie.

L'approccio più semplice si basa sull'amplificazione di una piccola parte di un genoma di un organismo il cui DNA viene ricercato appunto nel miele (un cosiddetto frammento di DNA). La tecnica di analisi si chiama PCR che sta per Polymerase Chain Reaction (reazione a catena della polimerasi).

Questa tecnica permette di amplificare milioni di volte un frammento target di DNA. L'amplificazione o la mancata amplificazione del frammento ci permettono di dire che quel DNA, e quindi quell'organismo a cui corrisponde il frammento target, ha contribuito (o è venuto a contatto) oppure non ha contribuito (o non è venuto a contatto) con quel miele analizzato. Un altro approccio si basa sul sequenziamento del DNA presente nel miele. Il sequenziamento (cioè l'atto con cui si stabilisce l'ordine in cui i

quattro mattoncini sono presenti nel DNA) può essere effettuato con una tecnica tradizionale che si chiama metodo di sequenziamento Sanger oppure con un approccio innovativo che viene definito di Next Generation Sequencing. Quest'ultimo rappresenta la svolta epocale nell'analisi del DNA in quanto permette di ottenere la sequenza di milioni o miliardi di frammenti di DNA.

Per l'analisi del DNA presente nel miele le tecnologie di Next Generation Sequencing (NGS) permettono di descrivere in modo molto preciso le tracce a base di DNA di organismo (o quanto di un particolare organismo) che sono presenti nel miele. Per interpretare i dati ottenuti con le tecnologie di NGS, come già accennato, è necessario utilizzare approcci bioinformatici che sono disegnati in modo specifico a seconda della tipologia di informazione che si vuole estrarre dalla mole di dati ottenuta.



## LE APPLICAZIONI

Autenticazione, biodiversità,  
salute delle api

### Qual è l'utilizzo dell'analisi del DNA del miele?

- Identificazione dell'origine botanica
- Identificazione dell'origine entomologica
- Identificazione di patogeni dell'alveare
- Quali e quanti sono gli organismi che contribuiscono al processo di formazione del miele



# ANALISI DEL DNA E ORIGINE BOTANICA DEL MIELE

L'analisi del DNA del miele, che sfrutta le diverse tecnologie a disposizione, permette di ottenere informazioni che possono essere molto utili all'apicoltura per affrontare e combattere le principali problematiche e sfide che stanno condizionando e preoccupando il settore.

In particolare, l'analisi del DNA del miele permette di:

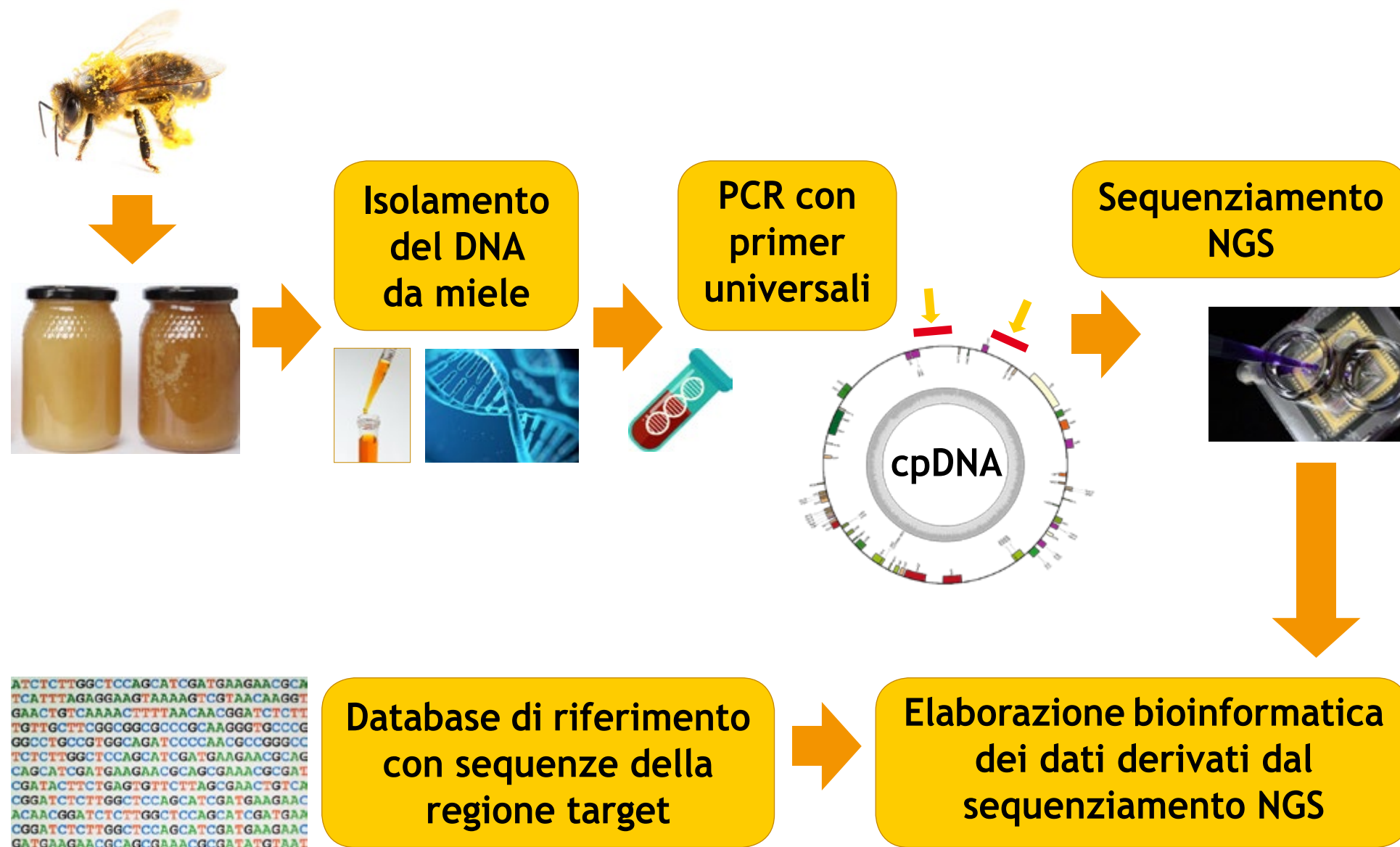
- Identificare l'origine botanica del miele e, di conseguenza, la sua origine geografica. Questo aspetto è particolarmente rilevante nel contrasto delle frodi;
- Identificare l'origine entomologica del miele, sia per quanto riguarda la sottospe-

cie di *Apis mellifera* che lo ha prodotto sia per quanto riguarda gli insetti produttori di melata da cui può originare;

- Identificare la presenza di eventuali patogeni nell'alveare e predisporre sistemi di monitoraggio per evitare la diffusione di avversità e malattie delle api;
- Identificare tutti gli organismi che sono venuti a contatto o che hanno contribuito alla produzione del miele.

Vi sono poi altre applicazioni che derivano dalle informazioni contenute nel DNA del miele e dall'utilizzo che di queste informazioni è possibile fare.

# ANALISI DEL DNA E ORIGINE BOTANICA DEL MIELE



L'analisi del DNA per la determinazione dell'origine botanica del miele dipende dall'interpretazione del DNA vegetale che si ritrova nel miele. Il DNA delle piante è contenuto principalmente nel polline che l'ape trasferisce anche nel miele.

L'analisi melissopalinoologica è la metodologia tradizionale che si applica per identificare l'origine botanica del miele. Questa analisi si basa sul riconoscimento e sulla conta dei granuli pollinici del miele. L'analisi del DNA "conta" e riconosce il DNA che si ritrova nel polline che è presente nel miele. Quindi l'origine botanica viene stabilita non più attraverso una analisi microscopica ma mediante una analisi bioinformatica dei dati di Next Generation Se-

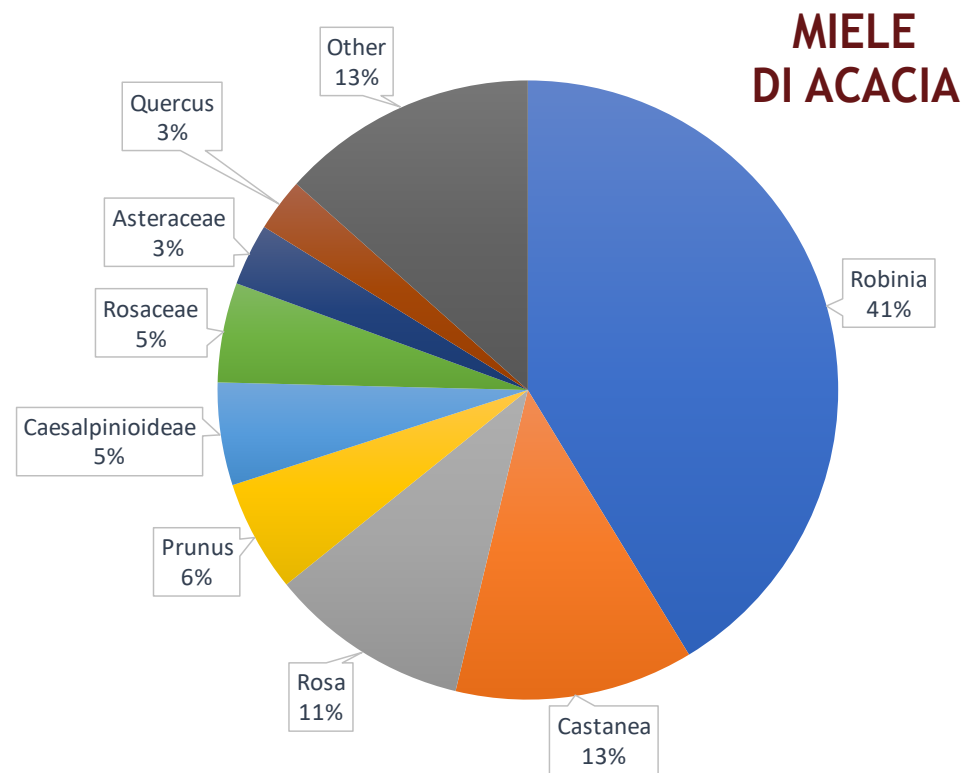
quencing che sono prodotti dal sequenziamento di una parte specifica di DNA cloroplastico che permette di identificare la specie vegetale da cui deriva.

I passaggi tecnici sono i seguenti: estrazione del DNA del miele; amplificazione del DNA del miele (mediante PCR) rappresentato da un frammento di DNA cloroplastico presente in tutti i vegetali; sequenziamento dei milioni di frammenti così generati con l'utilizzo di tecnologie di Next Generation Sequencing; analisi bioinformatica dei dati di sequenziamento e identificazione delle specie vegetali per confronto con i dati presenti in banche dati. Il tutto può essere automatizzato.



# ANALISI DEL DNA E ORIGINE BOTANICA DEL MIELE

La percentuale delle sequenze attribuite ai diversi gruppi botanici permette di attribuire l'origine botanica del miele





# ANALISI DEL DNA E ORIGINE BOTANICA DEL MIELE



I risultati dell'analisi del DNA vegetale presente nel miele possono essere riassunti in un grafico che mostra la percentuale delle sequenze che sono state attribuite ai diversi gruppi botanici. Nel caso del miele in oggetto, circa il 41% delle centinaia di migliaia di sequenze sono state attribuite al genere Robinia. I risultati dell'analisi del DNA, quindi, permettono di attribuire l'origine prevalente del miele all'acacia.

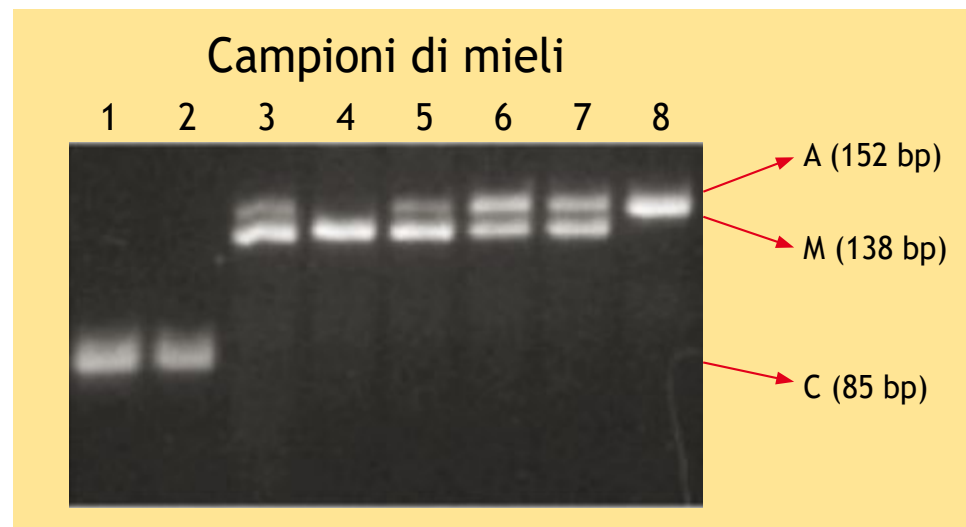
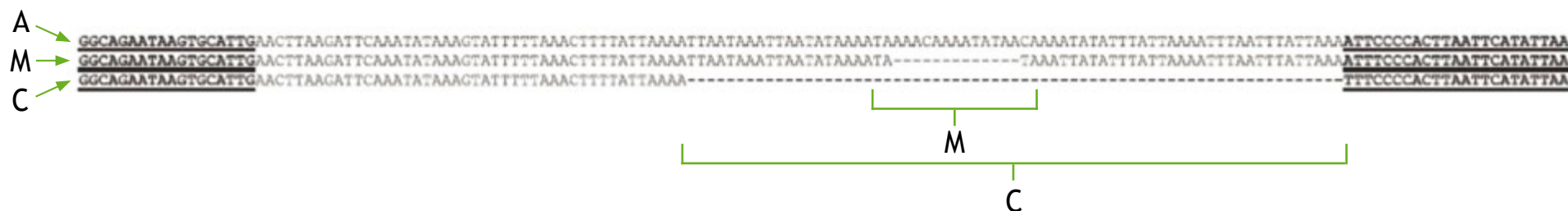
Per ottenere informazioni sull'origine entomologica del miele che possano permettere di risalire alla sottospecie di *Apis mellifera* che ha prodotto il miele, può essere utilizzato il DNA mitocondriale di ape. Dal miele si amplifica un frammento di questo DNA che differisce in lunghezza (cioè nel numero di mattoncini che lo compongono). La diversa lunghezza dei frammen-

ti che si originano con una semplice analisi PCR viene determinata attraverso una elettroforesi su gel di agarosio del DNA amplificato. Le tre linee genetiche principali (A, M e C) si possono differenziare grazie a questa analisi che identifica 3 bande di diversa dimensione su gel, ciascuna corrispondente ad una delle tre linee genetiche menzionate.

# ANALISI DEL DNA E ORIGINE ENTOMOLOGICA DEL MIELE

## Le sottospecie di *Apis mellifera*

Diversa lunghezza della regione COI-COII intergenic spacer

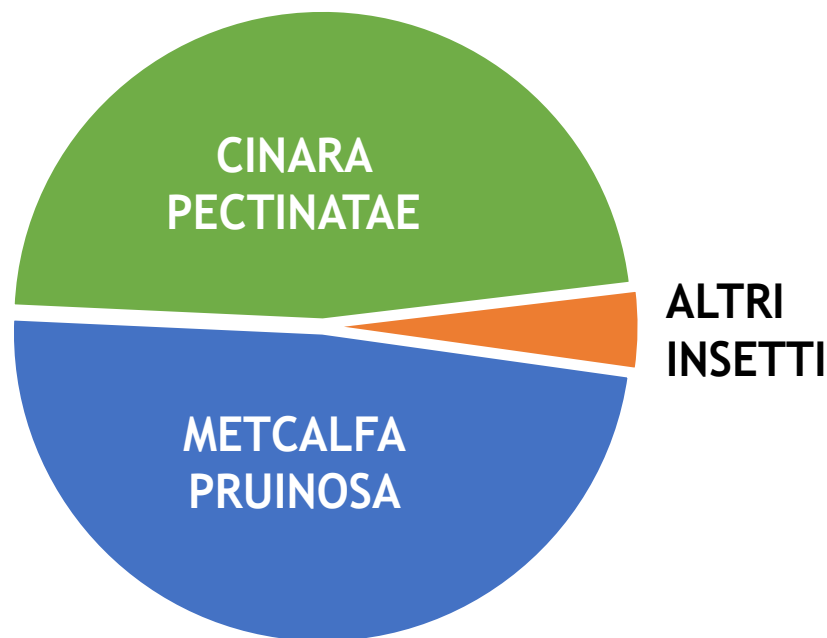


Frammento del DNA mitocondriale che permette di identificare le diverse linee genetiche di ape (A, M e C)

# ANALISI DEL DNA E ORIGINE ENTOMOLOGICA DEL MIELE

## Gli insetti che hanno prodotto la melata

### MIELE DI MELATA D'ABETE BIANCO



Dal DNA del miele è possibile anche ottenere informazioni sugli insetti fitofagi produttori di melata il cui prodotto è stato utilizzato dalle api per produrre il miele. Questo aspetto è particolarmente rilevante per poter autenticare, da una parte, il miele, e quindi definirne l'origine entomologica, oltre a quella che permette di identificare la sottospecie di ape. Dall'altra parte questa analisi è utile per monitorare l'entomofauna che è presente nell'ambiente in cui il miele è prodotto.

In questa analisi il DNA target è il DNA mitocondriale degli insetti dell'ordine dei Rincoti a cui appartiene la maggior parte degli insetti che si nutrono di linfa delle piante.

Il risultato, anche in questo caso, può essere rappresentato in percentuale sulle centinaia di migliaia di sequenze che sono prodotte dall'analisi di Next Generation Sequencing e che appartengono alle diverse specie di insetto. Nella slide è riportata la distribuzione delle sequenze ottenute

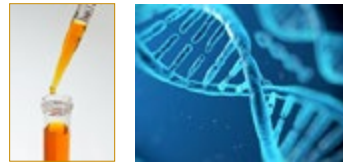
nell'analisi di un miele di melata di abete bianco. La presenza di *Cinara pectinatae* conferma chiaramente che si tratta di un miele di melata prodotto in una foresta di abete bianco. Infatti, questo afide infesta esclusivamente l'abete bianco.

# ANALISI DEL DNA E ORIGINE ENTOMOLOGICA DEL MIELE

## Gli insetti che hanno prodotto la melata



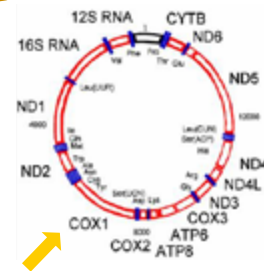
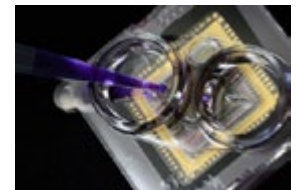
Isolamento del DNA da miele



PCR con primer universali



Sequenziamento NGS



```
ATCTCTGGCTCCAGCATCGATGAAGAACGCA  
TCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAAACAGGT  
GAACGTCAAAACTTTTAAACAACGGATCTCTT  
TGTIGCTTCGGCGGCGCCCGCAAGGGTGCCCG  
GGCCTGCCGTGGCAGATCCCAACGCCGGGCC  
TCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAAGAACGCAG  
CAGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACCGGAT  
CGATACTTCTGAGTGTCTTACGCGAACTGTC  
CGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAAGAAC  
ACAACGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGA  
CGGATCTCTTGGCTCCAGCATCGATGAAGAAC  
GATGAAGAACGCAGCGAAACCGGATATGTAAT
```

Database di riferimento con sequenze della regione target

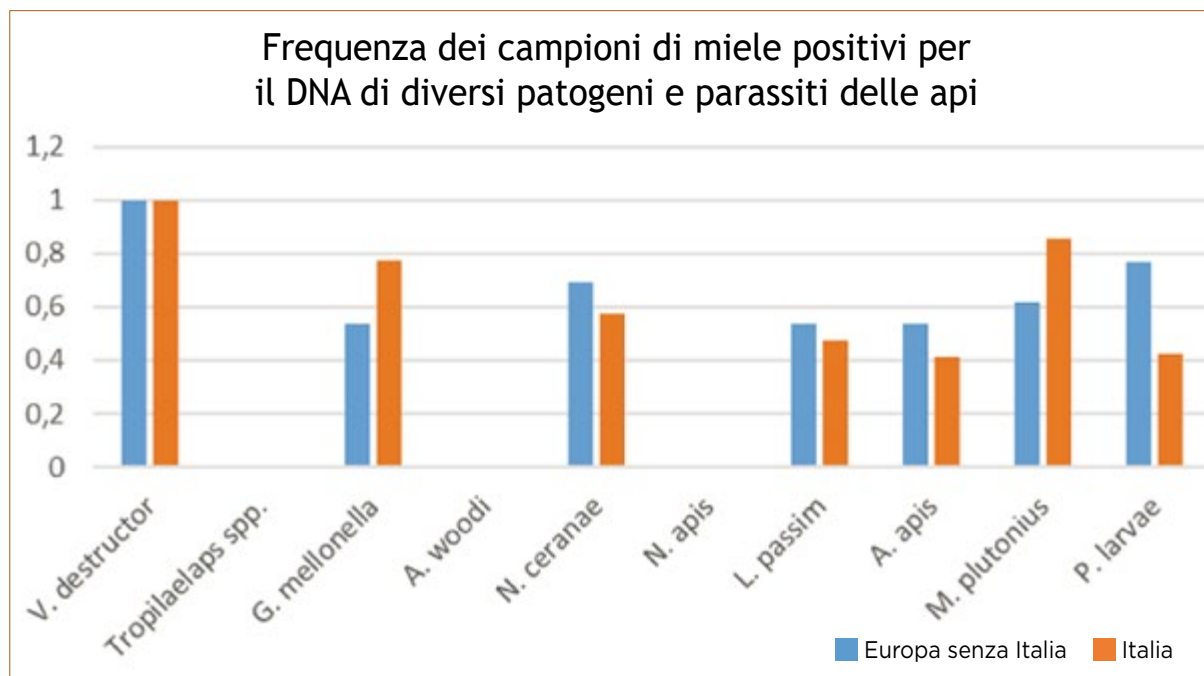
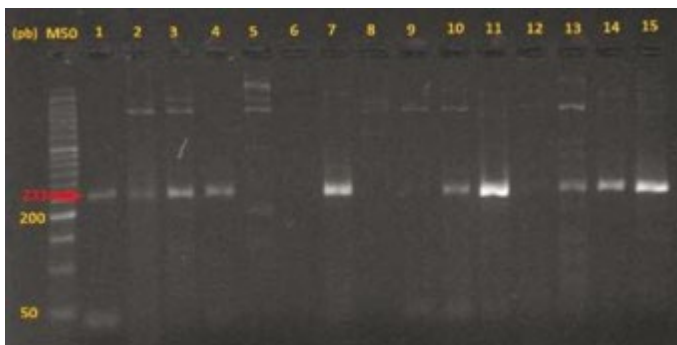
Elaborazione bioinformatica dei dati derivati dal sequenziamento NGS



# ANALISI DEL DNA DEL MIELE E SALUTE DELLE API

La salute delle api è un aspetto fondamentale per garantire un corretto equilibrio nei servizi ecosistemici.

Il miele contiene anche il DNA dei patogeni delle api. La ricerca di questo DNA nel miele permette di monitorare la salute delle api e la diffusione delle malattie a livello globale

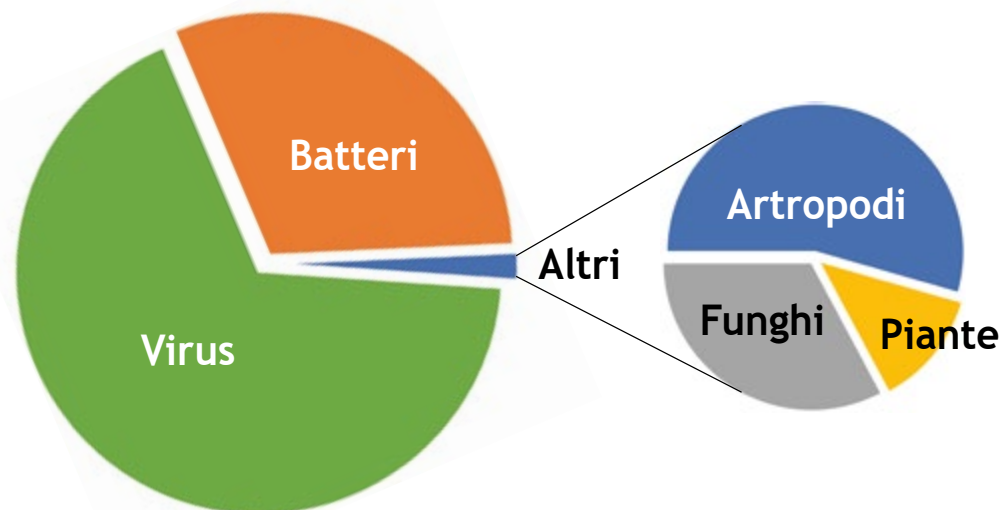


La salute delle api è un aspetto fondamentale per garantire un corretto equilibrio nei servizi ecosistemici. Il miele contiene anche il DNA dei patogeni delle api. Ovviamente i patogeni delle api non sono assolutamente un problema per l'uomo. La ricerca di questo DNA nel miele permette di monitorare la salute delle api e

la diffusione delle malattie. L'Università di Bologna ha condotto una prima indagine per valutare la possibilità di utilizzare a livello globale e su larga scala questo sistema di monitoraggio. E i risultati indicano che il miele può essere un importante elemento per ottenere importanti informazioni anche in questo contesto.

# FORMAZIONE DEL MIELE

Quali e quanti sono gli organismi che contribuiscono al processo



Il DNA del miele permette di effettuare un monitoraggio della biodiversità ambientale

Il miele riporta l'impronta di un elevatissimo numero di specie appartenenti a tutti i regni



Il miele contiene l'impronta di un elevato numero di organismi appartenenti ai principali regni. Questa informazione è stata ottenuta analizzando il DNA del miele con un metodo innovativo (Shotgun metagenomics) che sequenzia tutto il DNA che può isolare da un campione di miele. L'analisi bioinformatica in questo caso è particolarmente complicata e necessita di competenze specifiche. Tuttavia, i risultati ottenuti indicano che il miele può essere utilizzato per monitorare la biodiversità ambientale sfruttando l'instancabile attività esplorativa delle api e la notevole variabilità di microrganismi presenti nel microambiente "alveare".



FOTO: VANNINA VACCA

# CONCLUSIONI

In conclusione, l'analisi del DNA del miele offre molte opportunità e soluzioni ai numerosi problemi che l'apicoltura deve affrontare.

L'implementazione routinaria dell'analisi del DNA permette di avere risposte su molti aspetti che fino ad ora non trovavano soluzioni adeguate.





# L'utilizzo dei “monoflora rari” del concorso TRE GOCCE D'ORO per potenziare la caratterizzazione dei mieli italiani

Proteggere la produzione nazionale mediante  
la differenziazione e la qualità dei prodotti

GIAN LUIGI

**MARCAZZAN**

Ricercatore CREA - Centro di ricerca  
Agricoltura e Ambiente





L'Italia è il paese al mondo in cui maggiormente viene riportata in etichetta l'indicazione dell'origine botanica del miele a fini promozionali e di valorizzazione. Così come è il paese in cui le tipologie di miele che si possono trovare enunciate in etichetta sono le più variegata. È anche tra quelli in cui le tipologie di miele "monoflora" sono più studiate e verificate.

Gli apicoltori in genere conoscono e riconoscono il miele che producono e riportano in etichetta la denominazione corretta della tipologia botanica con discreta certezza. Tuttavia, non è possibile lasciare alla sola discrezionalità del produttore o del confezionatore la facoltà di stabilire la denominazione corretta. Le fonti di errore sono notevoli: incompetenza, "affetto" per una tipolo-

gia (effetto psicologico), valutazione erronea della flora visitata dalle api, comparsa di nuovi raccolti non conosciuti all'apicoltore, sovrastima del potenziale nettario. Può esservi inoltre un abuso di tali denominazioni se non l'intenzionalità di un uso scorretto (frodi) volta a far breccia sul mercato o con lo scopo di un maggior guadagno.

Lo studio dei mieli monoflorali e della loro caratterizzazione è quindi un passo fondamentale. Infatti, è solo da questo che può nascere uno strumento utile ai produttori nella valutazione e riconoscimento dei loro prodotti e un riferimento tecnico necessario agli organi di controllo per la valutazione della veridicità delle dichiarazioni botaniche riportate in etichetta.

# SCHEDA DI CARATTERIZZAZIONE

## Carta d'identità del miele

È necessario a questo punto chiarire cosa si intenda con il termine “miele monoflora” (o uniflora) e “caratterizzazione”. La definizione di miele monoflora è abbastanza nota ma molto spesso poco chiara nella sua applicazione pratica.

Una definizione generica è riportata nella norma europea (Direttiva 2001/110/CE del Consiglio, del 20 dicembre 2001, concernente il miele, recepita con il DECRETO LEGISLATIVO 21 maggio 2004, n.179) che regola la produzione e commercializzazione del miele. Questa sancisce che la denominazione “miele” riportata in etichetta può essere completata da indicazioni che fanno riferimento dall'indicazione floreale o vegetale, se il prodotto è interamente o principalmente ottenuto dalla pianta indicata (quindi miele monoflora) e ne possiede le caratteristiche organolettiche, fisicochimiche e microscopiche.

A questo punto è anche intuibile il significato di caratterizzazione: studio delle caratteristiche organolettiche, fisicochimiche e microscopiche (inteso come l'identificazione e il conteggio dei pollini presenti nel miele: analisi pollinica del miele o melissopalino-logica) di un miele che deriva principalmente da una specie botanica.

Solo i mieli che presentano determinate caratteristiche possono riportare in etichetta la corrispondente denominazione monoflorale.


La caratterizzazione di un miele monoflora inizia sostanzialmente quando se ne presenti la necessità (comparsa di una nuova produzione di miele e/o manifestato interesse dei produttori), passa attraverso lo studio delle sue caratteristiche, come sopra descritto, e si conclude nella stesura della “scheda di caratterizzazione”.

# SCHEDA DI CARATTERIZZAZIONE


## Carta d'identità del miele

**MIELE DI ERICA**  
(*Erica arborea* L. - Ericaceae)

**La pianta**  
La specie ha portamento arbustivo cespuglioso, foglie aghiformi persistenti e piccoli fiori di colore biancastro. Diffusa un po' ovunque, è un tipico elemento della macchia mediterranea sempreverde, ma si spinge a nord anche in località alpine con esposizione soleggiata e suolo siliceo. È maggiormente diffusa sul versante tirrenico e nelle isole. A causa della precocità della fioritura, non sempre le famiglie di api sono sufficientemente sviluppate per sfruttarne il nettare e quindi produrre miele. Altre specie di erica importanti dal punto di vista apistico sono *E. scoparia* L., caratteristica dell'Italia centrale, *E. carnea* L., tipica delle zone alpine (fino a 2400 metri di quota) ed *E. multiflora* L., a diffusione centro-meridionale e fioritura autunnale.  
**Habitat:** macchie, boschi e garighe (0 - 1200 m).  
**Fioritura:** marzo - maggio.  
**Potenziale mellifero:** buono.



**Fiori di erica**



In giallo, le principali zone in cui si produce il miele di erica

**Il miele**  
Miele uniflorale di *E. arborea* si produce prevalentemente in Liguria, Toscana, Umbria e Sardegna. Ha caratteristiche peculiari che non sempre incontrano il gusto dei consumatori; inoltre gli elevati valori di umidità, acidità e HMF lo rendono poco conservabile e quindi ne riducono notevolmente il valore commerciale. Le altre specie di erica partecipano alla formazione di mieli millefiori, ma *E. multiflora* ed *E. carnea* possono occasionalmente fornire mieli uniflorali nelle rispettive zone di maggior diffusione (Italia meridionale e insulare la prima, Friuli la seconda).

**Aspetti organolettici**  
**ESAME VISIVO** - Stato fisico: cristallizza rapidamente formando una massa morbida di cristalli fini, facilmente solubili. Allo stato liquido non è mai perfettamente

**Colore:** ambra più o meno scuro con caratteristici riflessi opachi nel miele liquido; marrone con tonalità arancio (terra di miele cristallizzato).

**O - Odore:** di media intensità; fresco; caratteristico del fiore; di zucchero cotto.

**O - Sapore:** normalmente dolce, con una leggerissima punta a: mediamente intenso; di caramella mou, di crème caramel, acchevole; di legno aromatico; di colla; un po' vegetale; abbassato.

**Fisico-chimiche**

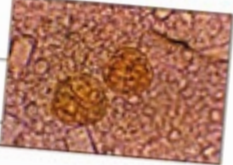
	unità	media	dev. st.
	ad/g	8,7	3,5
	mS/cm	0,70	0,09
	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>20</sup>	-13,9	1,6
	mm Pfund	99,1	12,9
		4,9	0,1
	meq/kg	34,7	5,0
	g/100 g	38,4	1,3
	g/100 g	34,7	1,2
	g/100 g	0,2	0,3
	g/100 g	1,9	0,4
	g/100 g	0,3	0,2
	g/100 g	73,1	1,6
		1,11	0,06

**Microscopiche**

superiore a 45%; costante presenza nel sedimento di materiale cristallino insolubile

PK/10 g: da 40.000 a 150.000  
media = 79.600  
dev.st. = 37.800

II - III



nducibilità elettrica può essere superiore al limite di 0,8 meno di 3 unità, con tenore in HMF inferiore a 15 mg/kg. **Microchimiche** - Valori bassi di diastasi, elevati di umidità, colore e conducibilità elettrica. Il miele di erica presenta un contenuto in genere piuttosto alto, pertanto ha una conservabilità limitata.

Nella scheda di caratterizzazione possono essere riportate alcune informazioni relative alla pianta di origine e alle caratteristiche peculiari e generali del miele e alle zone di produzione, mentre sono fondamentali gli aspetti organolettici e le caratteristiche fisico-chimiche e melissopalinologiche.

In definitiva la scheda di caratterizzazione è una sorta di documento identificativo che riporta tutte le informazioni utili nell'identificazione e verifica della "monofloralità" del miele.





FOTO: ALESSANDRA DECIO

# NOTA INTRODUTTIVA

Verso la definizione dei mieli uniflorali

## DIRETTIVA DEL CONSIGLIO

del 22 luglio 1974

Relativa all'armonizzazione degli Stati membri concernente il miele

...è necessario definire a livello comunitario il concetto di miele, **stabilire le diverse varietà** che possono essere commercializzate con le **opportune denominazioni**, fissare le caratteristiche generali e specifiche di composizione...

## DIRETTIVA DEL CONSIGLIO DEL 22 LUGLIO 1974

In Italia non è esistita alcuna disciplina legislativa che definisse il miele e le sue caratteristiche compositive così come ne regolamentasse la produzione e la commercializzazione fino al recepimento della direttiva comunitaria 74/409/CEE, avvenuto con la legge 12 ottobre 1982, n. 753, nota come “legge sul miele”.

Fino ad allora l'unico riferimento normativo era il REGIO DECRETO 3 agosto 1890, n. 7045 (entrato in vigore il 21/09/1890) che all'art. 131 recitava “È proibita la vendita del miele alterato o naturalmente nocivo o sofisticato con acqua, zucchero di fecola, melasse, destrina, saccarina, o con altre sostanze organiche o minerali”. L'attenzione era dunque concentrata, in maniera generica, esclusivamente sulla salubrità e genuinità del prodotto. Nel Regio Decreto non era riportata una definizione che chiarisse cosa fosse il miele, dando per assunto, forse fin troppo, che ciò fosse chiaro nella mente del produttore e consumatore. Tanto meno si accennava alle diverse tipologie di miele.

Delle diverse tipologie di miele se ne parlava già in antichità. In età repubblicana si importava dalla Sicilia il famoso miele di timo di Ibla, equiparato a quello greco del monte Imetto e ugualmente celebrato da numerosi autori classici. Non vi erano tuttavia classificazioni strutturate e, tantomeno, regolamentate.

La necessità di caratterizzare le tipologie di miele è nata alla fine degli anni 60 ('69) quando le associazioni di apicoltori di Varese e Como commissionarono uno studio del miele di acacia all'Istituto Nazionale di Apicoltura (INA). Si voleva quindi dare un'identità al miele di acacia prodotto in quelle province per valorizzarlo e difenderlo da quello, già allora, importato dalla Cina. Ma è solo negli anni 70, con l'emanazione della direttiva europea 74/409/CEE, che nasce l'esigenza di uno studio approfondito delle diverse tipologie di miele. La direttiva, tra le altre cose, definiva il prodotto miele e nutriva l'intento di stabilire le diverse varietà che potevano essere immesse sul mercato.

# DIRETTIVA DEL CONSIGLIO DEL 22 LUGLIO 1974

## Art. 7



La denominazione miele può essere completa da

- **Un'indicazione inerente all'origine floreale o vegetale** se il prodotto proviene soprattutto da tale origine e ne possiede le caratteristiche organolettiche, fisico-chimiche e microscopiche;

Sebbene la direttiva prevedeva la possibilità di riportare in etichetta un'indicazione inerente all'origine floreale o vegetale del miele, nella pratica non dava indicazioni su quelle che dovevano essere le caratteristiche organolettiche, fisico-chimiche e microscopiche di tali prodotti. I singoli stati dovevano così mettere in atto le misure idonee alla definizione e controllo dei “Mieli uniflorali”.

## LEGGE 12 OTTOBRE 1982, N. 753

Recepimento della direttiva del Consiglio della Comunità economica europea riguardante l'armonizzazione delle legislazioni degli Stati membri della C.E.E. concernenti il miele. (GU n.288 del 19-10-1982)

### Art. 6

La denominazione “miele”...  
...può essere completata tra l'altro da:

- **Un'indicazione inerente all'origine botanica**, se il prodotto proviene soprattutto da tale origine e ne possiede le caratteristiche organolettiche, fisico-chimiche e microscopiche.

Concetto che viene ripreso dalla legge nazionale di recepimento della direttiva (Legge 12 ottobre 1982, n. 753)...

## DECRETO LEGISLATIVO 21 MAGGIO 2004, N.179

Concernente la produzione e la commercializzazione del miele

### Art. 3

ad esclusione del miele filtrato e del miele per uso industriale, le denominazioni possono essere completate da indicazioni che fanno riferimento

- **All'origine floreale o vegetale**

...e riproposto nella nuova ed ultima Direttiva 2001/110/CE, recepita con Decreto legislativo 21 maggio 2004, n.179.



# LEGGE 12 OTTOBRE 1982, N. 753

Recepimento della direttiva del Consiglio della Comunità economica europea riguardante l'armonizzazione delle legislazioni degli Stati membri della C.E.E. concernenti il miele. (GU n.288 del 19-10-1982)

## Art. 7

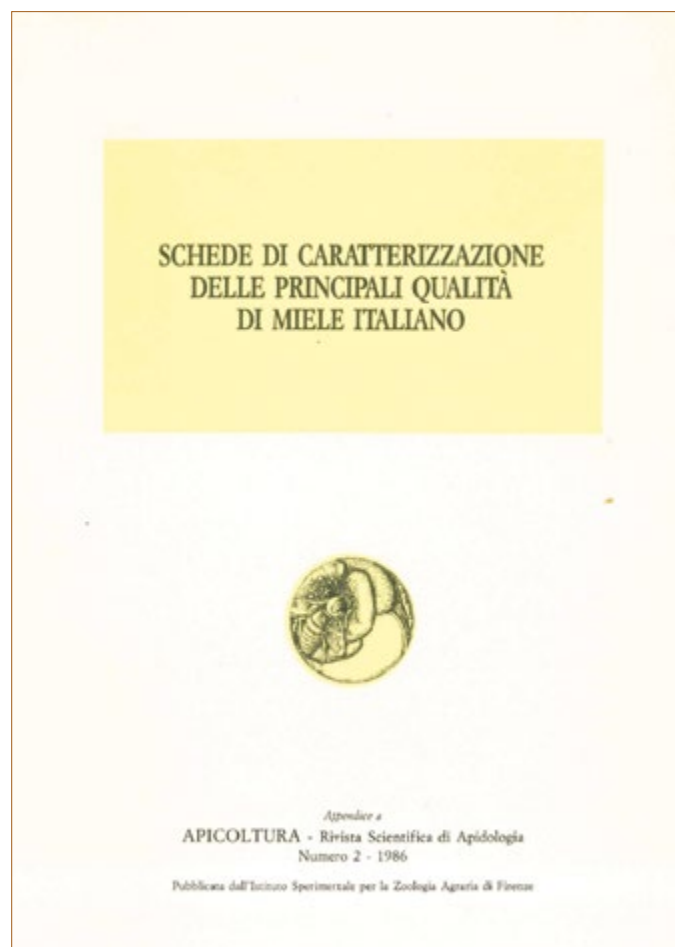
Il Ministero della sanità, di concerto con il Ministero dell'agricoltura e delle foreste e con il Ministero dell'Industria, del commercio e dell'artigianato, **entro sei mesi** dalla data di entrata in vigore della presente legge, pubblica le metodiche ufficiali di analisi per il miele e stabilisce le caratteristiche fisico-chimiche, microscopiche e organolettiche delle principali qualità di miele nazionale.

La legge 753 all'art. 7 disponeva che Il Ministero della sanità, di concerto con il Ministero dell'agricoltura e delle foreste e con il Ministero dell'Industria, del commercio e dell'artigianato, entro sei mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge, pubblicasse le metodiche ufficiali di analisi per il miele e stabilisse le caratteristiche fisico-chimiche, microscopiche e organolettiche delle principali qualità di miele nazionale.

Fu in seguito all'emanazione di questa legge che il Ministero dell'agricoltura nel 1984 commissionò alla sezione di apicoltura di Roma dell'Istituto Sperimentale di Zoologia Agraria (Firenze), lo studio di caratterizzazione dei mieli uniflorali. Questo, in collaborazione con l'INA, eseguì lo studio e pubblicò, nel 1986, le schede di caratterizzazione di 12 mieli uniflorali, tra quelli più diffusi in Italia.

# 1986 - 12 MIELI CARATTERIZZATI

Le prime schede di caratterizzazione, come previsto dalla legge, contenevano gli elementi essenziali per la classificazione di alcune tipologie di miele. In pratica venivano elencate le proprietà organolettiche, esposte in maniera molto stringata a dire il vero, le caratteristiche melissopalinologiche e quelle chimico-fisiche. Purtroppo, queste non sono mai state acquisite in un documento normativo ufficiale, tuttavia sono state uno strumento scientifico di riferimento indispensabile.



**MIELE UNIFLORALE DI ACACIA**

**Proprietà organolettiche**

*Stato fisico:* liquido e trasparente  
*Colore:* da bianco acqua a giallo paglierino chiaro  
*Odore:* florale debole  
*Sapore:* dolce e delicato

**Caratteristiche melissopalinologiche**

*Polline di Robinia:* superiore al 10%  
*Classe di rappresentatività:* I  
*Quantità assoluta di granuli pollinici (PK/10 g):* inferiore a 20.000  
 (n = 117; m = 8.000; ds = 5.000)

Proprietà chimico-fisiche	m	ds	n	Limiti suggeriti
<i>Colore</i> (cm scala Pfund)	1,5	0,6	114	≤ 2,7
<i>Potere rotat. spec.</i> $[\alpha]_D^{20}$	-16,8	3,0	132	≤ -10
<i>Umidità</i> (%)	16,9	1,0	151	≤ 19
<i>HMF</i> (mg/Kg)	3,8	3,0	115	≤ 15
<i>Diastasi</i> (scala Gothe)	9,6	4,2	117	3 - 15
<i>pH</i>	3,9	0,2	141	3,6 - 4,3
<i>Acidità totale</i> (meq/kg)	13,7	3,9	122	≤ 20
<i>Cond. electr.</i> ( $10^{-4}$ S cm <sup>-1</sup> )	1,5	0,4	142	≤ 2,5
<i>Fruttosio</i> (%)	42,7	3,1	76	≥ 37
<i>Glucosio</i> (%)	25,7	1,5	76	21 - 29
<i>Glucosio + fruttosio</i> (%)	68,4	3,9	76	62 - 76
<i>Saccarosio</i> (%)	2,66	2,11	76	≤ 10 (>0)
<i>Maltosio</i> (%)	1,13	0,61	76	≤ 3 (>0)
<i>Isomaltosio</i> (%)	0,68	0,35	76	≤ 2 (>0)
<i>Melezitosio</i> (%)	—	—	76	assente
<i>Rapporto fruttosio/glucosio</i>	1,66	0,12	76	≥ 1,35
<i>Rapporto glucosio/acqua</i>	1,54	0,11	76	1,20 - 1,80

## 22 I TIPI DI MIELE CARATTERIZZATI



2000

18 mieli caratterizzati



2007

22 mieli caratterizzati

Il Ministero delle Politiche Agricole e Forestali ha continuato a sostenere negli anni lo studio di caratterizzazione. Ciò ha consentito di acquisire dati per la caratterizzazione di altre sei tipologie di miele le cui schede sono state pubblicate nella raccolta delle “Nuove schede di caratterizzazione”.

La nuova edizione era stata aggiornata e ampliata e constava di 18 schede. Queste forniscono un quadro più ampio e dettagliato del prodotto. In particolare, le caratteristiche organolettiche sono state sviluppate in maniera più strutturata ed organica.

L’ultima pubblicazione a riguardo risale al 2007, con il libro “Conoscere il miele”. In questo si sono aggiunte 4 nuove schede portando a 22 le tipologie di miele uniflorale italiano caratterizzate.

Acacia (*Robinia pseudoacacia*)  
 Agrumi (*Citrus spp.*)  
 Ailanto (*Ailanthus altissima*)  
 Asfodelo (*Asphodelus microcarpus*)  
 Cardo (*Galactites tomentosa*)  
 Castagno (*Castanea sativa*)  
 Colza (*Brassica napus*)  
 Corbezzolo (*Arbutus unedo*)  
 Erba medica (*Medicago sativa*)  
 Erica (*Erica arborea*)  
 Eucalipto (*Eucalyptus spp.*)  
 Girasole (*Helianthus annuus*)

Lavanda (*Lavandula angustifolia*)  
 Melata di abete  
 Melata di Metcalfa  
 Nespolo del Giappone  
 (*Eryobotrya japonica*)  
 Rododendro (*Rhododendron spp.*)  
 Rosmarino (*Rosmarinus officinalis*)  
 Sulla (*Hedysarum coronarium*)  
 Tarassaco (*Taraxacum officinale*)  
 Tiglio (*Tilia spp.*)  
 Timo (*Thymus capitatus*)



# RISORSE WEB

**9 mieli uniflorali italiani**  
Nuove schede di caratterizzazione

Allegati

presentazione

la valutazione del miele

il miele: origine, composizione e proprietà

la qualità e la valorizzazione del miele

miele uniflorali meno comuni

presentazione delle schede dei mieli uniflorali

schede dei principali mieli uniflorali

Realizzazione HTML a cura di:  
M. Accorti  
L. Aloj  
L. Persano Oddo

Vai al capitolo

**I mieli uniflorali italiani**  
I principali mieli uniflorali italiani

**Pollini a confronto**

Acacia    Agrumi

Corbezzolo    Erba medica

Girasole    Nepolo del Giappone

Sulla    Tarassaco

Melata di abete    Melata di metcalfa

Vai al capitolo    Vai al paragrafo    Vai a

**I mieli uniflorali italiani**  
I principali mieli uniflorali italiani

**Miele di robinia o acacia**

**La pianta**  
(*Robinia pseudoacacia* L. Leguminosae)

Specie a portamento arbustivo o arboreo (fino a 20 - 25 m), con spine, foglie caduche e fiori bianchi in grappoli, introdotta in Europa nel XVII secolo dal Nord America, inizialmente coltivata a scopo ornamentale, ora completamente spontaneizzata in tutto il territorio, spesso con carattere di vera e propria infestante.

A causa della diffusione per via vegetativa e del rapidissimo accrescimento è comune nei terreni marginali (bordi delle strade, argini), ma forma anche dense boscaglie, soprattutto nelle valli prealpine e appenniniche.

Viene usata per la produzione di legno per diversi usi agricoli e da ardere, per rinsaldare rive e scarpe ed è anche apprezzata come specie ornamentale, soprattutto in città in quanto è resistente all'inquinamento.

Il periodo di fioritura molto breve e precoce rende la produzione di mieli uniflorali aleatoria e molto soggetta all'andamento stagionale.

**Ambiente di diffusione:**  
Scarpare, incolti, siepi (0-1000 m).

**Fioritura:**  
Aprile - maggio.

**Potenziale mellifero:**  
Molto buono (classe IV - VI).

**Il miele**

In Italia viene prodotto soprattutto nella zona prealpina e in Toscana, ma se ne raccolgono partite di discreta purezza anche in molte altre regioni (per esempio Emilia Romagna, Abruzzo e Campania).

Se ne importano ingenti quantità provenienti dai paesi

**Distribuzione della specie**

■ assente  
■ presente  
■ produzione significativa di miele uniflorale

È possibile consultare online 18 schede di caratterizzazione all'indirizzo web <http://profilomieli.albomiele.it>



# NORME DI PRODOTTO 2010



## ACACIA

Robinia pseudoacacia

UNI 11382:2010

Miele di acacia (Robinia pseudacacia L.)  
Definizione, requisiti e metodi analisi

## AGRUMI

Citrus spp.

UNI 11384:2010

Miele di agrumi (*Citrus spp.*)  
Definizione, requisiti e metodi analisi

## CASTAGNO

Castanea spp.

UNI 11376:2010

Miele di castagno (*Castanea sativa* Miller)  
Definizione, requisiti e metodi analisi

## MELATA o BOSCO

Robinia pseudoacacia

UNI 11375:2010

Miele di melata o miele di bosco  
Definizione, requisiti e metodi analisi



## EUCALIPTO

Eucalyptus spp.

UNI 11383:2010

Miele di eucalipto  
Definizione, requisiti e metodi di analisi

Per dare una sembianza più ufficiale alle schede, ma soprattutto per dare ai produttori un ulteriore mezzo di valorizzazione dei prodotti e agli ispettori un riferimento normativo autorevole, un gruppo di esperti in campo apistico e di studio e controllo del miele ha lavorato per la realizzazione di norme di prodotto.

Nel 2010 sono state pubblicate dall'UNI (Ente italiano di normazione) norme di prodotto per 5 tipologie di miele uniflorale tra le più diffuse (acacia, castagno, agrumi, eucalipto e melata). L'UNI non è un organo legislativo, ma pubblica documenti normativi volontari il cui valore è riconosciuto a livello internazionale.



## MIELE DI AGRUMI



### REQUISITI CARATTERIZZANTI

- Colore  $\leq 30$  mm Pfund
- Conducibilità elettrica  $\leq 0,30$  mS/cm
- Metilantranilato  $\geq 0,5$  mg/kg

### REQUISITI AGGIUNTIVI

- Requisiti sensoriali
- Requisiti microscopici o melissopalinologici



## MIELE DI CASTAGNO



### REQUISITI CARATTERIZZANTI

- Colore  $\geq 55$  mm Pfund
- Conducibilità elettrica  $\geq 1,0$  mS/cm
- pH  $\geq 4,6$
- Fruttosio  $\geq 38$  g/100g
- Glucosio  $\leq 29$  g/100g
- Requisiti microscopici o melissopalinologici

### REQUISITI AGGIUNTIVI

- Requisiti sensoriali
- Acidità libera
- Attività diastatica
- Rotazione specifica

La norma di prodotto non è una scheda di caratterizzazione completa di tutti i dati rilevati nell'indagine conoscitiva, ma riporta, in uno schema simile ad una procedura di analisi, i valori e i limiti dei requisiti caratterizzanti la tipologia di miele interessata e i dati di alcune caratteristiche aggiuntive utili all'identificazione dello stesso. In questa si trovano anche indicazioni sulle metodiche analitiche da adottare in caso di verifica o controllo.

I requisiti caratterizzanti e le caratteristiche aggiuntive variano in funzione della tipologia di miele. Così se i requisiti caratterizzanti per il miele di agrumi sono il colore, la conducibilità elettrica e il contenuto in metilantranilato, nel miele di castagno oltre al colore e alla conducibilità elettrica, caratterizzanti sono anche i valori del pH e degli zuccheri, nonché le caratteristiche microscopiche.

# I MIELI “RARI” E “NUOVI”



**Miele di carrubo**  
**Miele di lupinella**  
**Miele di marruca**  
**Miele di melo**



**Miele di rovo**  
**Miele di santoreggia**  
**Miele di timo serpillo**  
**Miele di trifoglio**

Possiamo senz'altro affermare che i principali mieli uniflorali italiani sono stati caratterizzati. Tuttavia, sappiamo che la potenzialità che offre il nostro territorio è ben superiore. Le tipologie di miele prodotte possono essere 50, e forse anche un numero maggiore.

Il concorso “Tre gocce d'oro” ne è testimone. Nei mille e più campioni che vengono valutati ogni anno ve ne sono di quelli che noi definiamo “rari” o “poco comuni” difficilmente reperibili in commercio. Sono ad esempio

il miele di carrubo, melo, ciliegio, santoreggia. Questi sono mieli che si producono in piccole quantità perché le piante da cui derivano sono diffuse in aree geografiche ristrette o perché solo in determinate aree ci sono le condizioni utili alla pianta per produrre nettare in quantità sufficiente alla produzione di miele in purezza. Per questi mieli non esiste una scheda di caratterizzazione, non ci sono dunque gli elementi per la verifica o il controllo.



# FANTASIA O REALTÀ?

Capita inoltre di incontrare sul mercato le più disparate tipologie di miele, come il miele di zucca o di albicocco, di cui si sa poco o nulla. A volte si ha addirittura la certezza che certe tipologie non possono essere prodotte, ma non sempre si pos-

seggono le conoscenze tecniche o disposizioni ufficiali chiare per contrastare le produzioni di fantasia o fraudolente. Ciò a discapito dei produttori seri e dei consumatori.

## Miele di biancospino



## Miele di rosa canina



## Miele di zucca



## Miele di albicocco





# PERCHÉ CARATTERIZZARE I MIELI?

## MIELE DI MARRUCA

*Paliurus spina-christi*

Quando i mieli non sono caratterizzati non ci sono gli elementi per una loro identificazione e per verificarne la corrispondenza alla tipologia dichiarata in etichetta. Si presentano dunque situazioni in cui la stessa tipologia di miele, stando a quanto dichiarato in etichetta, si presenta con caratteristiche organolettiche alquanto diverse e variabili.

Tra queste caratteristiche il colore è quello che prontamente cade agli occhi, così si può osservare come un miele di marruca

si presenti sullo scaffale con un colore che varia dal giallo molto chiaro al quasi nero attraverso tutte le sfumature dell'ambra. È lampante che molti di questi prodotti sono cosa diversa da quanto dichiarato in etichetta.

Appare dunque evidente l'importanza della caratterizzazione, non solo come mezzo di promozione e valorizzazione del prodotto, ma anche come elemento indispensabile di protezione del produttore da una parte e dell'utilizzatore finale dall'altra.

**Proteggere**  
(produttori e consumatori)

**Valorizzare**

**Promuovere**





# MATERIALI E METODI

Raccolta dei campioni e analisi

## MIELI UNIFLORALI RARI E NUOVI IN FASE DI STUDIO DI CARATTERIZZAZIONE

### 9 NUOVE DENOMINAZIONI

Ciliegio	Marruca
Cisto	Reynutria
Coriandolo	Teucrium
Fiordaliso giallo	Trifoglio alessandrino

### ...E ALTRE IN ATTESA

Barena	Amorpha fruticosa
Stachys	Lupinella
Carrubo	Santoreggia
Edera	Syderitis



## STUDIO DI CARATTERIZZAZIONE

Il processo di caratterizzazione richiede competenze, tempo, investimenti e, non ultimo, campioni in quantità sufficiente e sufficientemente rappresentativi da cui iniziare lo studio. Questo ultimo aspetto è cosa tutt'altro che facile in quanto, come detto, si tratta di mieli poco comuni. Condizione necessaria è una campionatura che sia rappresentativa della tipologia botanica in questione, raccolta dalle diverse zone di produzione e prodotta su più anni. Ciò è necessario per comprendere nello studio la variabilità dei dati dovuta alle condizioni ambientali e climatiche. Ecco dunque che il concorso dei mieli "Tre gocce d'oro" risulta il bacino di raccolta ideale. Infatti, in esso affluiscono ogni anno campioni di mieli da tutto il territorio nazionale e delle tipologie più diverse. Poiché il concorso è una vetrina importante e prestigiosa, gli apicoltori presentano svariate ti-

pologie di miele, spesso nella speranza di aver prodotto qualcosa di unico o raro. È così nata nel 2018 una fruttuosa collaborazione tra il Centro di ricerca Agricoltura e Ambiente del CREA e l'Osservatorio Nazionale Miele. Il CREA può, in questo modo, fare affidamento su un'ottima campionatura di mieli sia in termini quantitativi che qualitativi in quanto già in parte selezionata. Reperimento altrimenti quasi impossibile.

In questi primi due anni di collaborazione abbiamo selezionato 136 campioni e abbiamo approfondito o cominciato lo studio sui mieli di ailanto, asfodelo, ciliegio, coriandolo, fiordaliso giallo, marruca, reynutria, teucrium e trifoglio. Altre tipologie quali barena, stachys, car-rubo, edera sono conservate in freezer in attesa di essere analizzate.

# STUDIO DI CARATTERIZZAZIONE

## Analisi svolte sui campioni

### ANALISI SENSORIALE

Analisi descrittiva

Analisi quantitativa descrittiva  
(profilo sensoriale del miele)



### ANALISI MELISSOPALINOLOGICA

Qualitativa  
(identificazione dei tipi pollinici)

Quantitativa  
(conteggio granuli pollinici)



### ANALISI FISICO-CHIMICA

Diastasi	Zuccheri
Acidità	Prolina
Colore	Conducibilità elettrica




La caratterizzazione che si svolge presso il CREA è quella “classica”, vale a dire che vengono prese in considerazione le caratteristiche previste dal decreto legislativo 179/2004 per i mieli uniflorali. Sono così indagate le peculiarità organolettiche, melissopalynologiche e fisico-chimiche. Relativamente a queste ultime si valutano i parametri riportati in allegato al d.lgs più alcuni altri, quale ad es. il colore, che si reputano importanti per la caratterizzazione. Il CREA dispone di un laboratorio accreditato per le suddette analisi.



# SCHEDA DESCRITTIVA

- Analisi descrittiva -  
utilizzata per la descrizione sensoriale dei mieli

## Miele di CAMEDRIO

	ANALISI SENSORIALE DESCRITTIVA	MOD/5.4.7/17 Rev. 2 Pag. 1 di 2
Codice d'assaggio: _____ Seduta assaggio n° _____ del _____		
ORIGINE BOTANICA DICHIARATA .....		
ORIGINE GEOGRAFICA DICHIARATA .....		
<small>Analizzare il campione attenendosi a quanto riportato nel metodo PDPO9. Usare preferibilmente i termini della "Lista dei termini per l'analisi sensoriale descrittiva".</small>		
<b>Esame visivo</b>		
Stato fisico: .....		
Aspetto: .....		
Colore: .....		
Altri apprezzamenti visivi (difetti): .....		
<b>Esame olfattivo</b>		
Intensità dell'odore: .....		
Qualità (descrizione dell'odore): .....		
Difetti olfattivi: .....		
<b>Esame gustativo</b>		
Sapore Dolce: .....		
Sapore Acido: .....		
Sapore Amaro: .....		
Sapore salato: .....		
Intensità dell'aroma: .....		
Qualità (descrizione dell'aroma): .....		
Difetti olfatto-gustativi: .....		
Persistenza dell'aroma: .....		
Retrogusto: .....		
Descrizione Retrogusto: .....		
Altre sensazioni di bocca: .....		
<b>Esame tattile</b>		
Consistenza: .....		
Cristalli (dimensioni, forma, solubilità): .....		
Altre caratteristiche tattili: .....		
DATA _____ NOME ASSAGGIATORE _____ FIRMA ASSAGGIATORE _____		

**Colore:** molto chiaro in generale; da quasi incolore a giallo paglierino nel miele liquido, bianco/avorio in quello cristallizzato.

**Odore:** debole, florale di viola, fiorellini di montagna e erbe aromatiche, delicato, di erba cedrina, di sapone profumato (componente chimica del florale). Nota chimica di plastica.

**Sapore - aroma:** normalmente dolce e acido; intensità dell'aroma debole, florale, inebriante, di zagara (tipo agrumi) con leggera nota chimica fine, medicinale, di plastica (ricorda il timo capitato) ma anche calda di mandorla, zuccherina. Leggermente fruttato. Aroma non persistente.

Al panel di esperti in analisi sensoriale del miele è chiesto di eseguire un'analisi descrittiva ed un'analisi quantitativa descrittiva (QDA).

L'analisi descrittiva è eseguita su una scheda complessa, libera, in cui il giudice riporta tutte le sensazioni percepite relativamente a vista, olfatto, gusto (sapore e aroma) e sensazioni tattili di bocca. Questa analisi ci permette di costruire un vocabolario di descrittori utili per individuare eventuali caratteristiche peculiari identificative del prodotto utili a descriverlo.

# SCHEDA A PROFILO

Analisi QDA utilizzata per lo studio del profilo sensoriale dei mieli

Miele di CAMEDRIO

**crea**  
Consorzio per la tutela e promozione  
e l'analisi dell'ecosistema agrario

Codice d'assaggio: \_\_\_\_\_

**INTENSITA' DI PERCEZIONE DEI DESCRITTORI QUALITATIVI**

AROMA/ODORE \_\_\_\_\_

FLOREALE \_\_\_\_\_

FRUTTATO \_\_\_\_\_  
 Frutta fresca     Frutta fermentata  
 Frutta tropicale    (Vinoso)  
 Frutti trasformati

CALDO \_\_\_\_\_  
 Fine / Lattico / Mandorla amara  
 Caramellato / Tostato / Maltato / Bruciato

AROMATICO \_\_\_\_\_  
 Speziato     Agrumato (esperidato)  
 Resinoso, Balsamico (canforato)

VEGETALE \_\_\_\_\_  
 Legnoso     Verde  
 Umido     Secco

CHIMICO \_\_\_\_\_  
 Affumicato     Farmacia / Medicinale (sapone)  
 Pungente (aceto)  
 Plastico / Petrochimico / Fenolico

ANIMALE \_\_\_\_\_  
 Solforato     Valerianico  
 Proteico     Rancido  
 Degradato

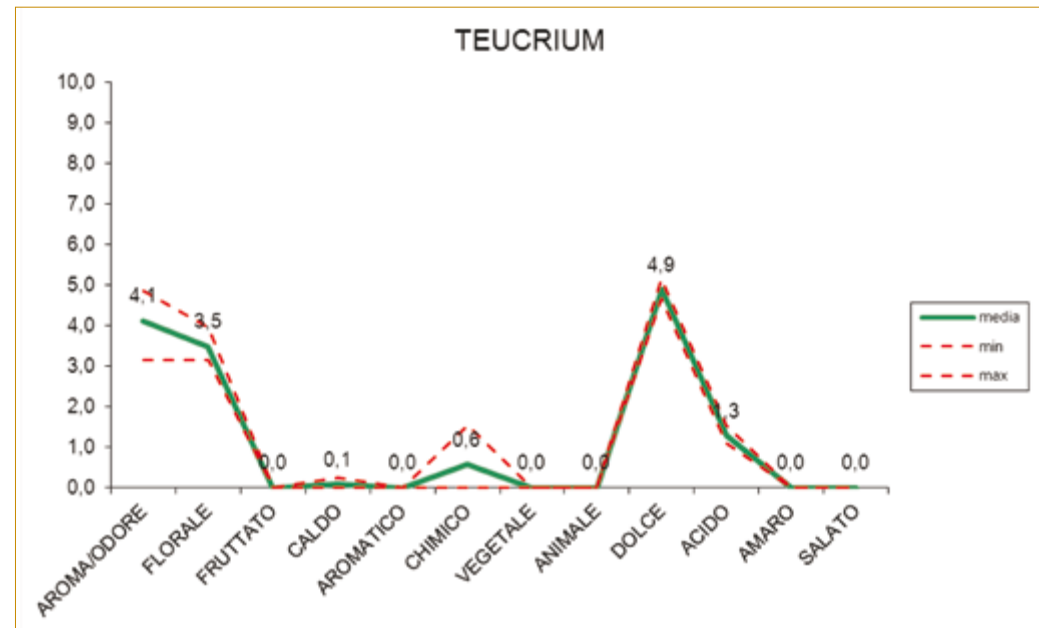
**INTENSITA' DI PERCEZIONE DEL SAPORE**

DOLCE \_\_\_\_\_

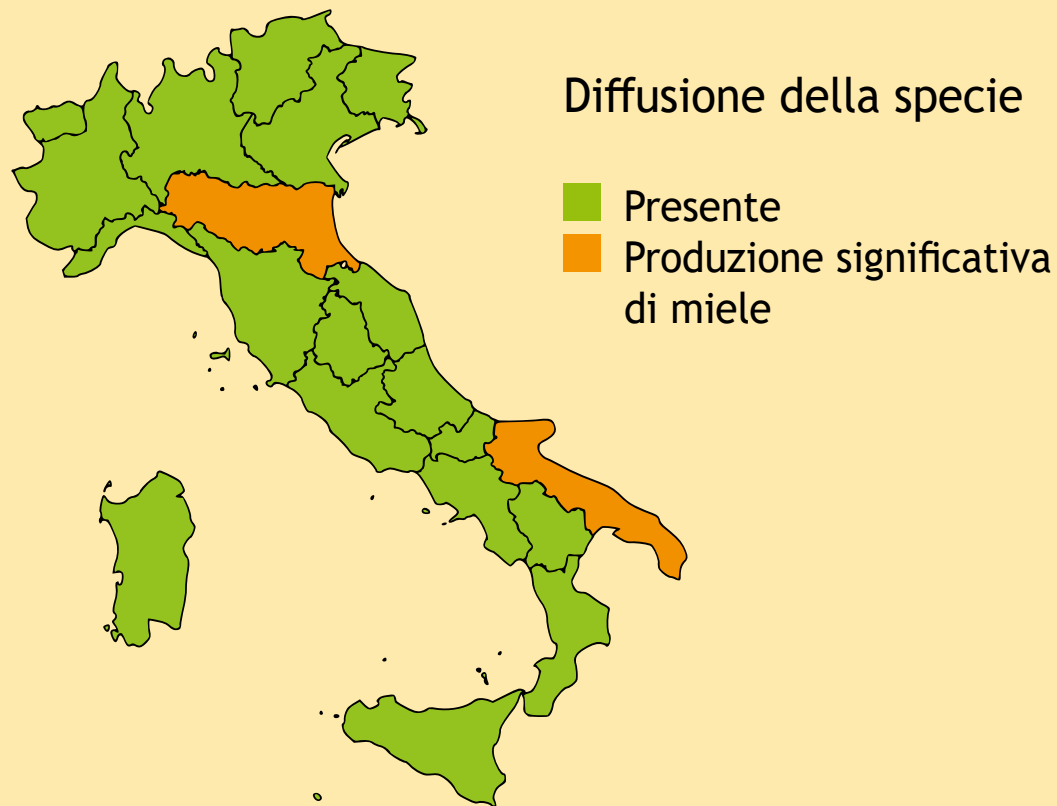
ACIDO \_\_\_\_\_

AMARO \_\_\_\_\_

SALATO \_\_\_\_\_



L'analisi QDA è impiegata per identificare e quantificare le caratteristiche organolettiche del prodotto al fine di definirne il profilo sensoriale. La scheda per la valutazione QDA si basa su descrittori già codificati per l'analisi del miele. Questa metodica ha il pregio di mettere in evidenza quelle che sono le caratteristiche peculiari del prodotto, in quanto quantifica la percezione dei descrittori permettendo di costruire un profilo sensoriale tipico, anche se non necessariamente unico.



# Miele di ciliegio

*Prunus avium*

In questo testo non verranno riportati i dati di tutte le schede prodotte, tra l'altro ancora in via di sviluppo, ma a puro scopo esemplificativo e informativo verrà illustrato lo sviluppo di una scheda di caratterizzazione che, in questo caso, riguarda il miele di ciliegio. Va sottolineato che i campioni analizzati ad oggi sono pochi per poter pretendere che i dati siano sufficienti alla produzione della scheda di caratterizzazione.

Il miele di ciliegio si produce principalmente in Emilia-Romagna e Puglia dove la coltivazione di questa pianta è particolarmente estesa. Produzioni di miele di ciliegio selvatico sono possibili in altre regioni come in Friuli-Venezia Giulia

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Esempio di scheda di caratterizzazione

**CILIEGIO**

# MIELE DI CILIEGIO

*Prunus avium*



**Fioritura:** aprile-maggio

**Potenziale mellifero:** molto buono (classe IV-V)

**Colore:** da ambra chiaro fino ad ambra scuro quando liquido, da beige chiaro con tonalità aranciate a marrone quando cristallizzato.

**Odore:** di media intensità; non molto fine, di “straccio bagnato”, vegetale legnoso che richiama quello del nocciolo di ciliegia, caldo tostato, di mandorla, caramella mou, frutta trasformati (datteri), aromatico speziato (chiodi di garofano), chimico fenolico, medicinale, naftalina, canfora.

**Sapore - aroma:** normalmente dolce e acido, a volte leggermente amaro persistente; l’aroma ha un’intensità media, vegetale legnoso (note di carciofo), di nocciolo della ciliegia, caldo fine, di mandorla, caramellato, caramella mou, aromatico speziato, di mandorla amara (chimico), leggera nota di frutti processati o frutti molto maturi. Poco persistente.

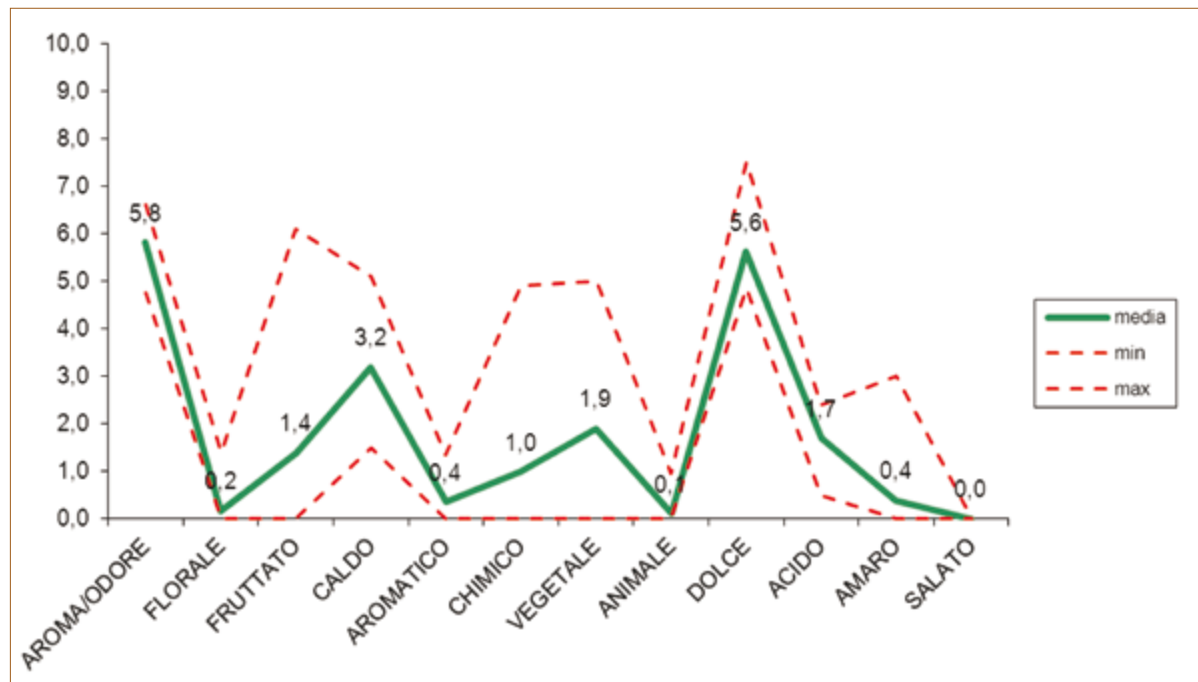
Per quanto riguarda la descrizione organolettica del miele, questo è caratterizzato da un colore abbastanza marcato, più o meno intense le caratteristiche dell’ambra nei mieli liquidi e del marrone-aranciato nei mieli cristallizzati.

All’odore caratteristiche sono le sensazioni vegetali-legnose che richiamano quelle del nocciolo di ciliegia. Il gusto è piuttosto complesso, in parte richiama le sensazioni olfattive ed è sempre ben percepibile una nota amarognola.



# MIELE DI CILIEGIO

*Prunus avium*



Il profilo organolettico mette in evidenza le caratteristiche calde, ma anche chimiche e vegetali; il sapore dolce è mite, non accentuato, la percezione dell'acido è medio bassa, si percepisce un leggero sentore amaro.

Caratteristiche melissopalinologiche		
Percentuale di polline di Ciliegio n=8	media DS	73,9 15,3
PK/10g n=5	media DS	17.800 3.420
Classe di rappresentatività	I-II	

Dal punto di vista melissopalinologico il miele di ciliegio non è particolarmente ricco di polline. Il conteggio del numero assoluto di granuli pollinici contenuti in 10 g di miele (PK) si aggira intorno a 18000. La percentuale di polline di Prunus è piuttosto elevata, in genere superiore a 60%.

# MIELE DI CILIEGIO

## *Prunus avium*

A livello chimico è caratterizzato da un valore di conducibilità elettrica medio alta; il valore medio per questo parametro è di 0,9 mS/cm. Nonostante la ristrettezza dei dati, sicuramente ancora non definitivi e sufficienti per fissare un ambito di variabilità caratterizzante questa tipologia di miele, già è evidente che il miele di ciliegio rientra tra quelle tipologie di miele per le quali non è previsto un limite minimo o massimo per questo parametro. Per quanto riguarda gli altri parametri non si rileva nulla di particolare se non una tendenza ad un basso valore di acidità e un contenuto relativamente alto di fruttosio.



### CARATTERISTICHE FISICO-CHIMICHE

		media	DS
Colore n=13	mm Pfund	57,6	7,5
pH n=13		4,8	0,2
Acidità libera n=13	meq/kg	15,0	2,7
Lattoni n=13	meq/kg	3,4	2,3
Acidità totale n=13	meq/kg	18,4	4,8
Conducibilità n=13	mS/cm	0,91	0,14
Umidità n=13	g/100g	16,7	0,8
Diastasi n=13	U.D./g	28,2	9,4
Prolina n=8	mg/100g	33,4	7,4

### CARATTERISTICHE FISICO-CHIMICHE

		media	DS
Fruttosio n=5	g/100g	40,4	1,2
Glucosio n=5	g/100g	34,2	2,2
Saccarosio n=5	g/100g	0,04	0,06
TOT Zuccheri n=5	g/100g	80,1	1,3
F/G n=5		1,18	0,08



## CONCLUSIONI

Prospettive per ulteriori sviluppi della ricerca

Le schede di caratterizzazione sono complemento indispensabile alla produzione e commercializzazione del miele uniflorale

È un'attività continua nel tempo, imposta dall'evoluzione della flora

Nuove tecniche di indagine (es. fingerprinting, molecolari, ...) potrebbero velocizzare il tempo di analisi e abbattere i costi

Le schede di caratterizzazione sono uno strumento indispensabile di complemento alla produzione del miele uniflorale. Fin tanto che esisteranno i mieli uniflorali dovranno forzatamente esistere anche le schede. Non è pensabile prevedere l'utilizzo in etichetta di una denominazione botanica se non esiste un documento che ne descriva le caratteristiche e che ne permetta il controllo. Questo è fondamentale per tutelare i produttori onesti da facile e sleale concorrenza e per garantire i consumatori sulla tipicità del prodotto che stanno acquistando.

# CONCLUSIONI

## Prospettive per ulteriori sviluppi della ricerca

Il lavoro di caratterizzazione è lungo e, forse, senza termine. I cambiamenti climatici, l'evoluzione delle pratiche agricole, gli avvicendamenti colturali e l'introduzione di specie esotiche agiscono sull'evoluzione della flora e, di conseguenza, sui mieli che si producono. Nuovi mieli compaiono e quelli esistenti, già caratterizzati, possono subire modifiche delle loro caratteristiche. Questi ultimi necessitano così di verifiche periodiche.

Lo sviluppo delle schede di caratterizzazione è lavoro lungo e costoso. Le analisi da svolgere sono parecchie e allo stato attuale tutte indispensabili. Queste si integrano a vicenda, fornendo ognuna un dato che è di aiuto o indispensabile o unico all'identificazione di uno specifico miele. Negli ultimi anni con l'avvento di nuove tecniche analitiche, in particolare quelle definite "Fingerprinting", si sta tentando di individuare metodi singoli, rapidi ed economici che possano sostituire quelli tradizionali. Diversi tentativi, studi e prove sono stati fatti e alcuni risultano promettenti per la verifica della tipologia botanica dichiarata in etichetta. È difficile comunque attualmente pensare che queste potranno dare una panoramica generale del prodotto, sulla sua qualità e di come lo percepisce il consumatore.





**QUALITÀ** oggettiva, **RICERCA** di fattori impattanti da attività agricole (glifosate), **ANALISI** di eventuali fattori di criticità interni al processo produttivo (zuccheri esogeni e antibiotici), ricerca di alcaloidi nel miele italiano di rododendro (graianotossine e alcaloidi pirrolizidinici) in previsione di nuove norme europee, ricerca dei DNA presenti nei mieli per metodi innovativi d'indagine, utilizzo dei “monoflora rari” in concorso per completare e aggiornare la caratterizzazione dei mieli italiani.

Dal Concorso **TRE GOCCE D'ORO**, con oltre mille analisi l'anno, un patrimonio di conoscenze essenziale che conferma il valore straordinario dei mieli italiani, conoscenze a disposizione della filiera e delle autorità per sostenere il comparto e per prevenire eventuali criticità.

IN COLLABORAZIONE CON

