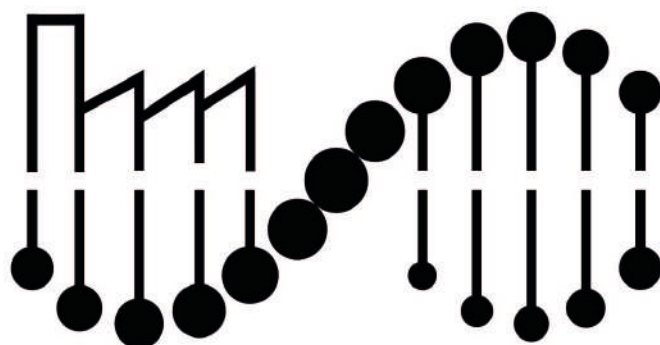




FEM2-AMBIENTE
SPIN-OFF ACCREDITATA
DALL'UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI
MILANO-BICOCCA

RELAZIONE CONCLUSIVA



DNA IN FILIERA



DESCRIZIONE E OBIETTIVI

Il progetto DNA in Filiera promosso da FEM2-Ambiente e dall'Università degli Studi di Milano-Bicocca è nato con l'obiettivo di testare l'efficacia della tecnica di **identificazione genetica** (DNA barcoding) nei processi produttivi delle aziende dei settori di interesse.

Nel dettaglio il progetto si proponeva di:

- Definire i settori produttivi in cui l'utilizzo della tecnica del DNA barcoding possa essere considerato utile e vantaggioso;
- Definire i punti della filiera produttiva più idonei all'applicazione della tecnica;
- Valutare e definire le tempistiche in base alle esigenze delle aziende e del laboratorio di analisi;
- Testare in situazioni concrete le metodologie di campionamento e analisi delle diverse tipologie di matrici;
- Valutare il grado di interesse delle aziende per i risultati ottenuti e l'eventuale impatto sul mercato dei prodotti controllati a livello genetico.

TEMPISTICHE DEL PROGETTO

Il progetto DNA in Filiera ha avuto la durata di un anno, da luglio 2018 a giugno 2019 e si è suddiviso in 4 fasi.

FASE 1 - Selezione delle aziende partner

Tempistiche: Luglio-Settembre

Questa fase è stata dedicata al reclutamento delle aziende partner e alla selezione dei prodotti da sottomettere ad analisi.

FASE 2 - Esecuzione delle analisi

Tempistiche: Ottobre-Febbraio

In questa fase sono state fornite le indicazioni necessarie per il campionamento. I partner, tramite persona incaricata, hanno provveduto autonomamente al prelievo e alla spedizione dei campioni presso il laboratorio di FEM2-Ambiente dove sono state eseguite le analisi.

FASE 3. Raccolta dati e invio risultati

Tempistiche: Marzo - Maggio

Il team scientifico di FEM2-Ambiente ha raccolto e analizzato i dati ottenuti. A seguito delle valutazioni ad ogni partner sono stati inviati: un report riportante tutti i risultati ottenuti, i certificati delle analisi effettuate con successo e un questionario di valutazione dell'esperienza.

FASE 4

Tempistiche: Giugno 2019

L'ultima fase è stata dedicata alla raccolta di tutti i dati ottenuti e alla stesura della relazione finale.



FEM2-AMBIENTE
SPIN-OFF ACCREDITATA
DALL'UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI
MILANO-BICOCCA



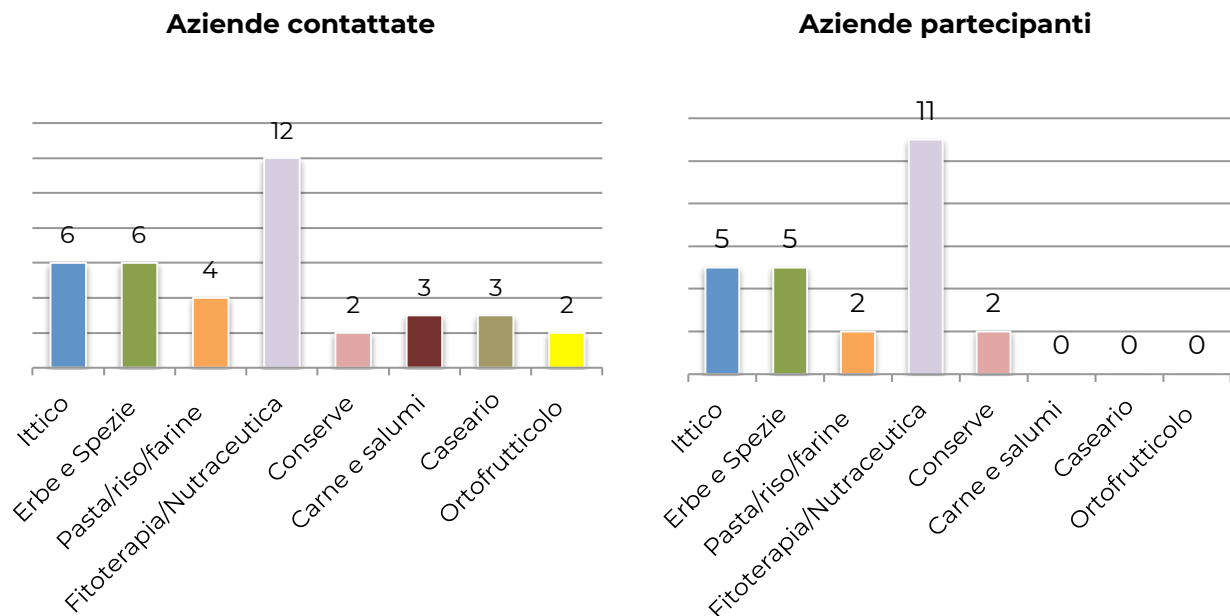
DATI RACCOLTI

Aziende partecipanti

Durante una prima fase di selezione sono stati eseguiti alcuni colloqui preliminari con 35 possibili partner appartenenti a 8 settori produttivi differenti e considerati di interesse da FEM2-Ambiente. Le aziende sono state reclutate tramite contatto diretto o autocandidatura.

Tra le aziende contattate 20¹ sono state considerate idonee e hanno confermato la volontà di partecipare al progetto.

Le aziende che hanno dimostrato una maggiore attenzione verso l'identificazione genetica di specie sono quelle appartenenti al settore ittico, erboristico, nutraceutico e del benessere della persona. Un minore interesse è stato invece riscontrato tra le aziende del settore ortofrutticolo, caseario e della carne e salumi. In questi casi il riconoscimento di specie effettuato tramite la valutazione dei caratteri morfologici e delle caratteristiche organolettiche è stato considerato per lo più sufficiente per l'identificazione. Il riconoscimento varietale o di origine geografica, effettuato tramite metodologie genetiche differenti rispetto al DNA barcoding sono stati considerati maggiormente rilevanti.

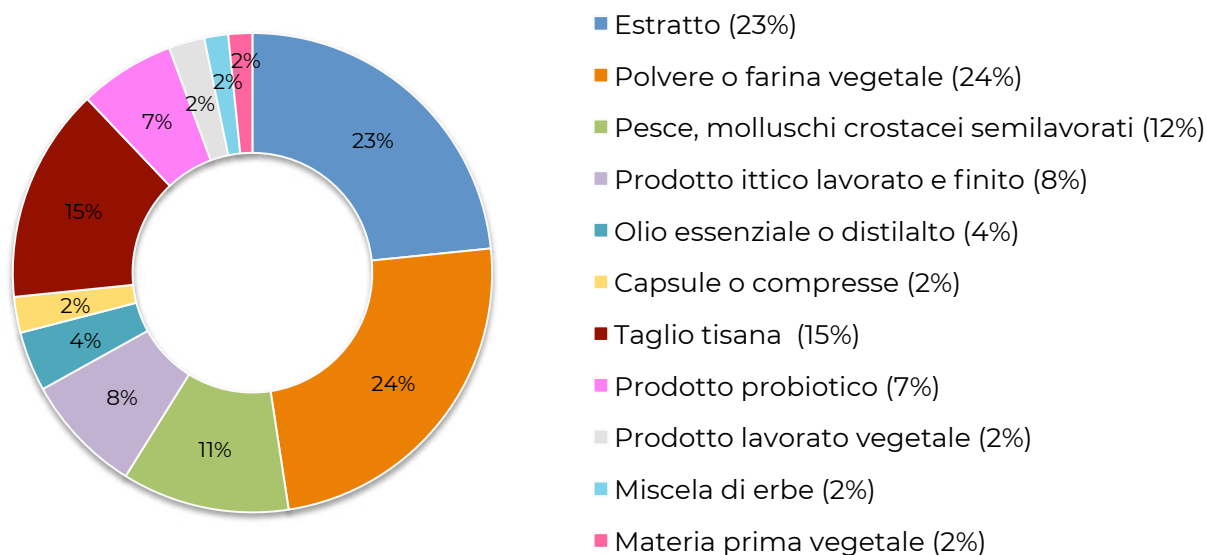
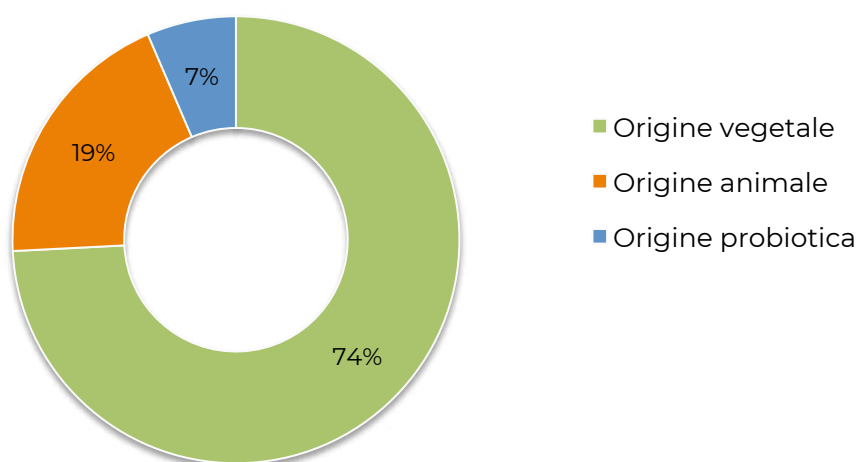


¹ Le aziende appartengono a 1 o più settori merceologici.

Tipologie di prodotti analizzati

Durante il progetto DNA in Filiera sono stati analizzati un totale di 124 prodotti di origine animale, vegetale e probiotica. Sono state selezionate materie prime e prodotti semilavorati, lavorati e finiti. I prodotti sono stati selezionati in base alle necessità dei partner e all'interesse scientifico di FEM2-Ambiente con lo scopo di testare la validità e l'efficacia della tecnica del DNA barcoding su una vasta gamma di prodotti per riuscire ad ottenere una sufficiente quantità di dati utili.

I prodotti considerati più interessanti per l'analisi sono stati i semilavorati vegetali come polveri, farine ed erbe in taglio tisana, estratti ma anche i prodotti ittici semilavorati, lavorati e finiti; prodotti accumulati dalle difficoltà riscontrate nel riconoscimento morfologico.



|

Il campionamento

A seconda del prodotto selezionato per l'analisi sono state fornite agli incaricati dalle aziende partner indicazioni differenti per il prelievo e la spedizione del campione.

In tutti i casi i campioni inviati sono risultati idonei all'analisi per tipologia e quantità. Il successo o l'insuccesso dell'analisi è da riferirsi ad altri fattori riportati nel paragrafo successivo.

Quantità di campione minima

| 50 gr | 20 gr | 50 ml | 100 ml | 1 confezione |
|---|---------------------------|----------------------------------|------------------|--------------------------------------|
| Estratto povere | Taglio tisana | Prodotto lavorato vegetale | Estratto liquido | Prodotto ittico lavorato e finito |
| Polvere o farina vegetale | Miscela di erbe | | Olio essenziale | Capsule o comprese |
| Pesce molluschi crostacei semilavorati | Prodotto probiotico | | Distillato | |
| | Materia prima vegetale | | | |

Modalità spedizione:

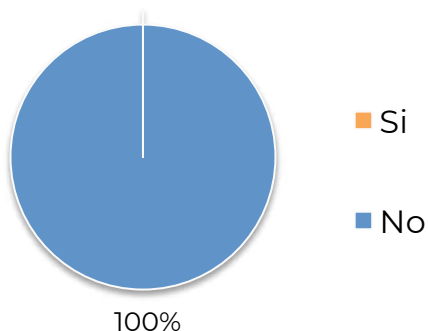
| Temperatura ambiente | Temperatura controllata | Temperatura come da specifiche del prodotto | Temperatura controllata a seguito congelamento | Sottovuoto |
|-------------------------------------|-------------------------|---|---|---|
| Estratto in polvere | Estratto liquido | Prodotto ittico lavorato e finito | Polvere o farina vegetale | Polvere o farina vegetale |
| Olio essenziale | | Prodotto lavorato vegetale | Pesce molluschi crostacei semilavorati | Pesce molluschi crostacei semilavorati |
| Distillato Capsule e Comprese | | | Prodotto probiotico | |
| Miscela di erbe | | | | |



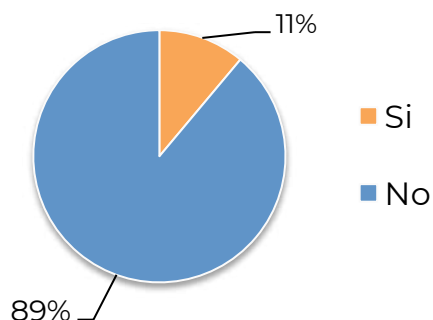
Le indicazioni fornite per il prelievo dei campioni sono state considerate sufficientemente chiare per la raccolta e l'invio dei campioni richiesti da parte dei soggetti incaricati.

Sono state invece riscontrate alcune problematiche riguardanti le tempistiche necessarie e le modalità di campionamento nella filiera ittica.

E' stato difficile prelevare e inviare il campione?



Il prelievo del campione ha influito negativamente sul processo produttivo?



Percentuale di successo delle analisi

Uno degli obiettivi del progetto DNA in Filiera era quello di identificare le tipologie di prodotti su cui l'analisi con metodologia DNA barcoding potesse essere applicata con successo.

Il successo dell'analisi è stato stabilito solo dopo il superamento di tutte le 5 fasi previste:

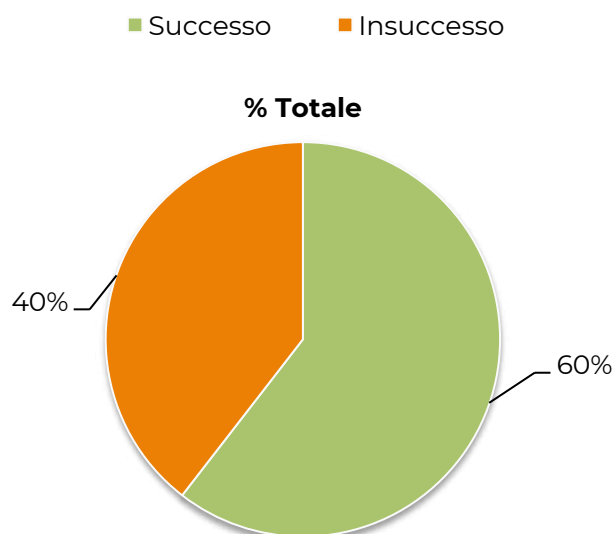
Fase 1 – Analisi preliminari

Fase 2 - Estrazione del DNA genomico

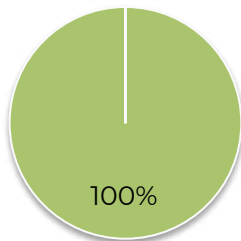
Fase 3 - Amplificazione marcatore genetico

Fase 4 - Purificazione del prodotto di amplificazione e sequenziamento del DNA

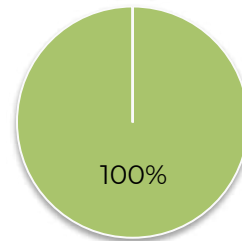
Fase 5 - Allineamento delle sequenze e analisi bioinformatica



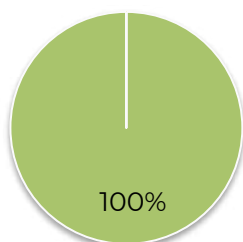
**% di successo:
Pesce, molluschi crostacei
semilavorati**



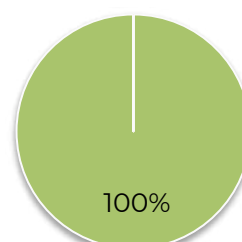
**% di successo:
Prodotto ittico lavorato
e finito**



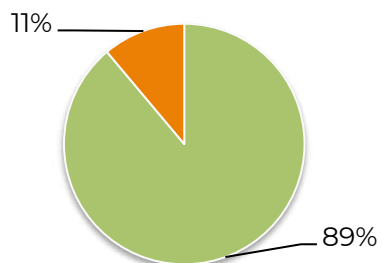
**% di successo
Materia prima vegetale**



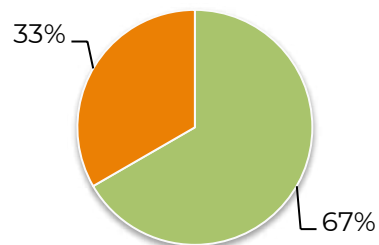
**% di successo
Prodotto probiotico**



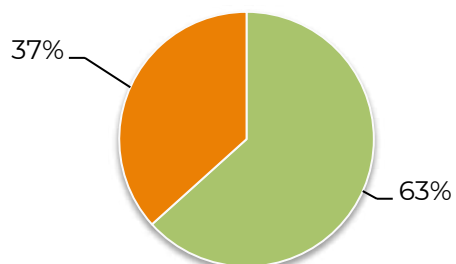
**% di successo
Taglio tisana**



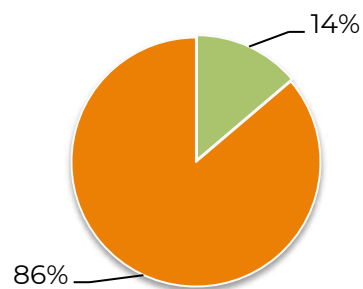
**% di successo
Prodotto lavorato vegetale**



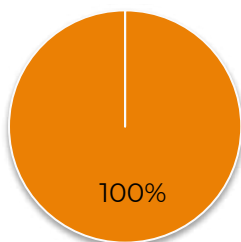
**% di successo:
Polvere o farina vegetale**



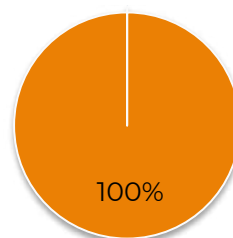
**% di successo:
Estratti**



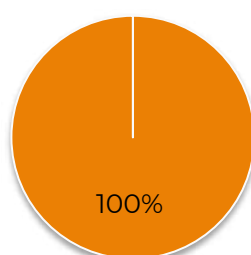
**% di successo
Olio essenziale o distillato**



**% di successo
Capsule o compresse**



**% di successo
Miscela di erbe**

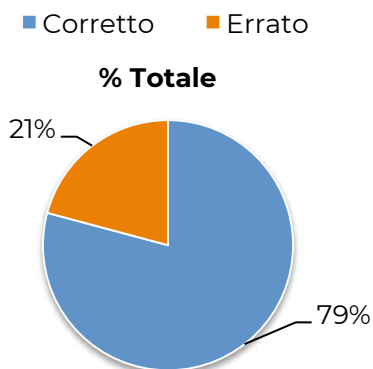


Conferma della corrispondenza con etichettatura

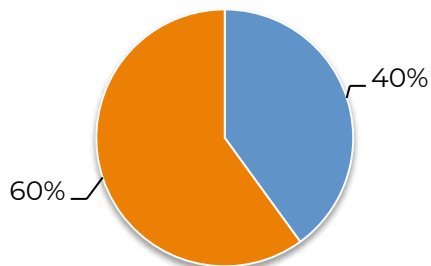
Tra le analisi completate con successo non tutte hanno a loro volta confermato la specie attesa indicata dai partner nella scheda di accompagnamento del campione.

Il maggior numero di casi di mancata corrispondenza tra specie attesa e specie identificata è stato rilevato nei prodotti ittici, semilavorati, lavorati e finiti. Tuttavia è importante sottolineare che i dati ottenuti non possono dare alcuna indicazione riguardante la motivazione della mancata corrispondenza.

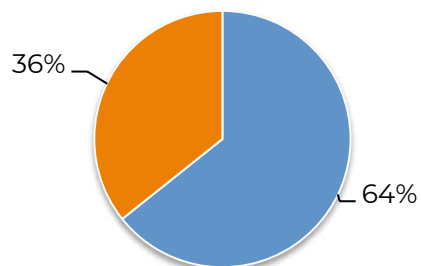
Per quanto riguarda invece i prodotti di tipo vegetale e probiotico la specie attesa indicata dai partner è stata confermata nella quasi totalità dei casi.



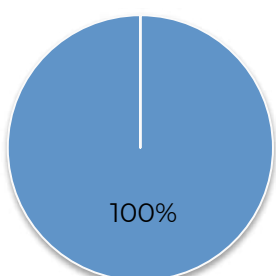
Ittico: prodotto lavorato o finito



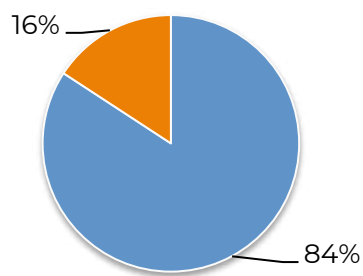
Ittico: materia prima o semilavorato



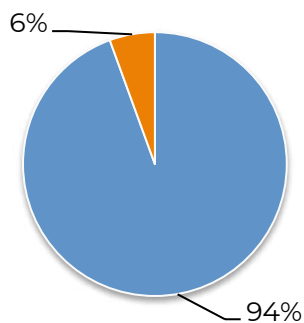
Prodotto lavorato o finito vegetale



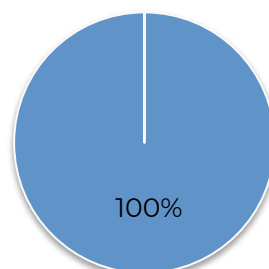
Polvere o farina vegetale



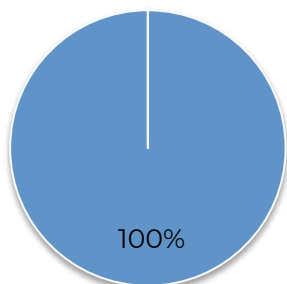
Taglio tisana



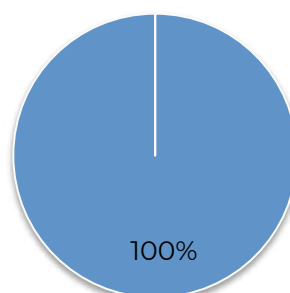
Prodotto probiotico



Materia prima vegetale



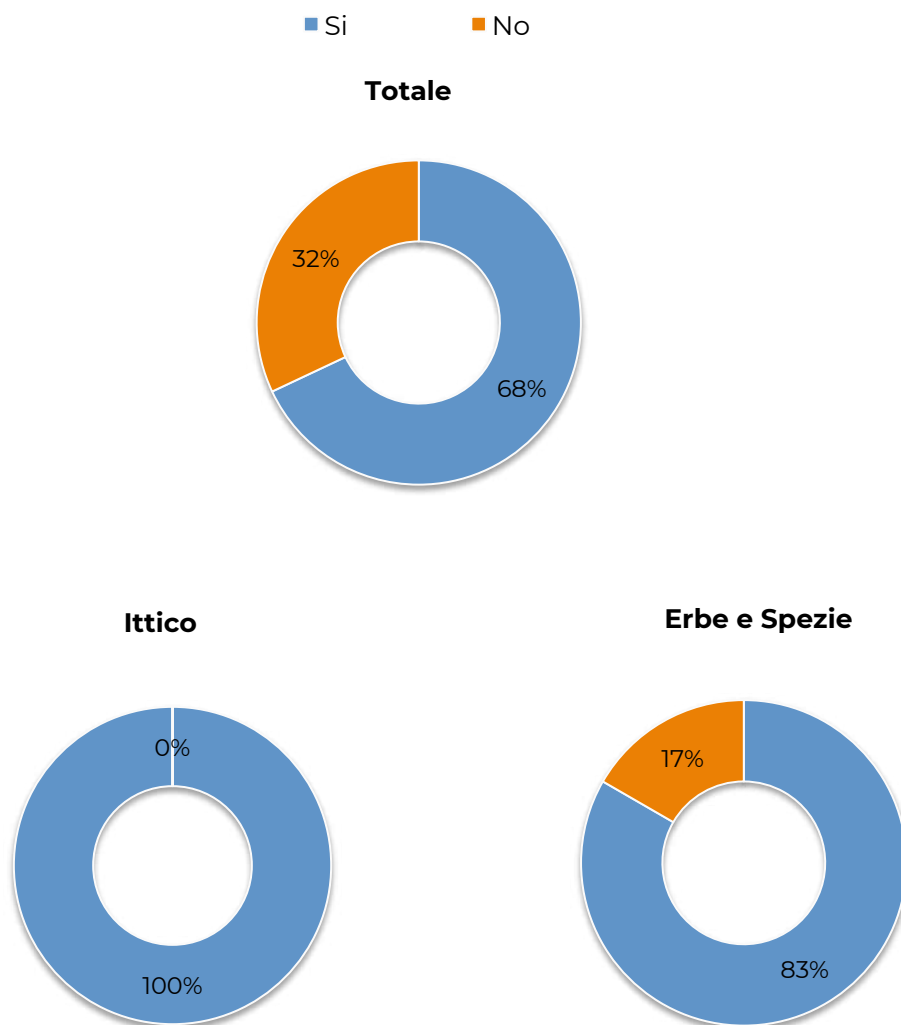
Estratto



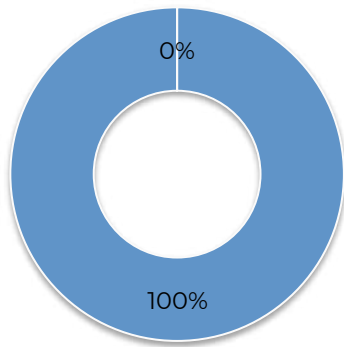
Utilità dell'analisi

I risultati ottenuti dalle analisi genetiche effettuate sui campioni inviati sono stati considerati utili dalla maggior parte dei partner coinvolti. In particolare, i dati ricavati hanno fornito informazioni a garanzia della qualità dei prodotti acquistati e delle informazioni dichiarate in etichetta fornendo uno strumento utile per la tutela.

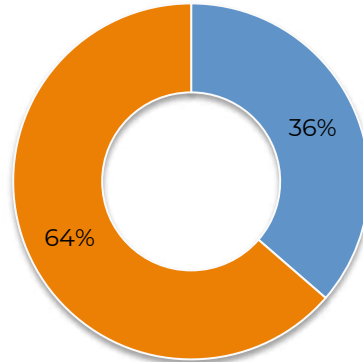
I casi in cui le analisi non si sono dimostrate utili coincidono con i casi di insuccesso sopra riportati: estratti, distillati, oli essenziali e miscele di erbe.



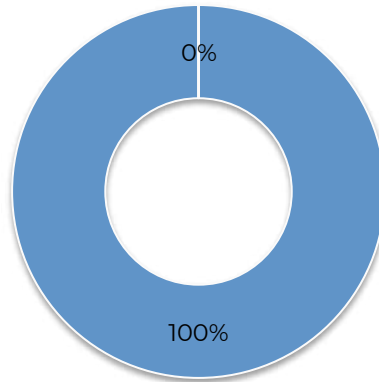
Pasta/riso/farine



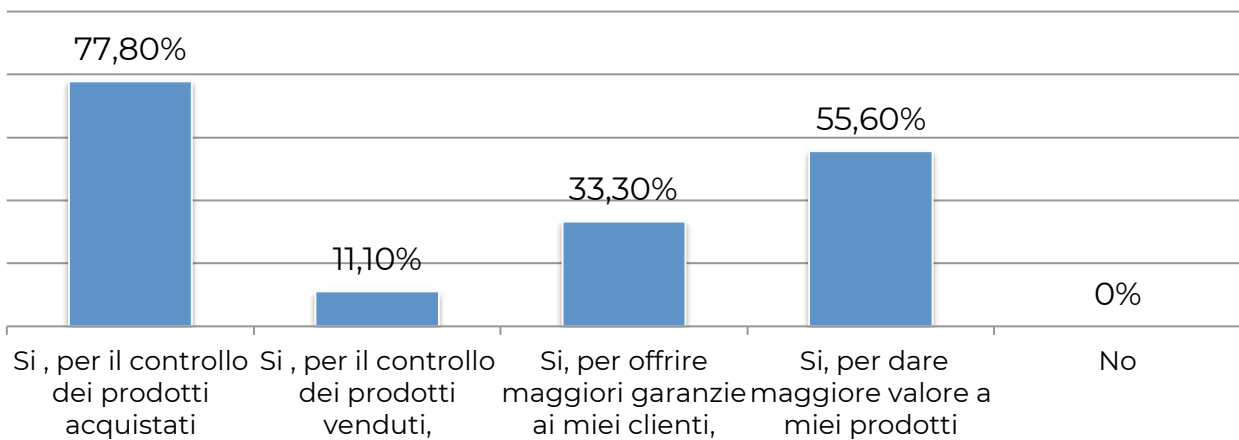
Benessere/Nutraceutica



Conserve



L'utilità dell'analisi è stata confermata dalle aziende partner anche attraverso la risposta ai questionari inviati durante la terza fase del progetto. I partner hanno indicato che in futuro le analisi di identificazione di specie potrebbero essere utilizzate per il controllo dei prodotti acquistati, per offrire maggiori garanzie ai clienti e per dare maggiore valore ai prodotti venduti.



CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI

In conclusione l'esperienza del progetto DNA in Filiera può essere valutata in modo positivo. In particolare il lavoro svolto ha permesso di raggiungere gli obiettivi prefissati e ha consentito a FEM2-Ambiente di comprendere le esigenze e i limiti dell'applicazione della tecnica del DNA barcoding nelle diverse filiere produttive, anche con riscontri inaspettati.

Il settore ittico, erboristico, nutraceutico e del benessere della persona sono i settori con il più alto interesse rivolto verso l'identificazione di specie.

Un minore interesse è stato invece riscontrato tra le aziende del settore ortofrutticolo, caseario e della carne e salumi. Un possibile sviluppo del progetto DNA in Filiera potrebbe quindi essere la ricerca e la nascita di collaborazioni volte alla creazione di sistemi di analisi genetiche dedicati al riconoscimento varietale (come è già avvenuto per l'uva da tavola) e dell'origine geografica, temi considerati di maggiore interesse per le tipologie di aziende sopra indicate.

Per quanto riguarda il settore ittico le analisi genetiche si sono dimostrate efficaci dal punto di vista della fattibilità e per la tipologia di dati e di informazioni ottenute. L'analisi tramite DNA barcoding sui prodotti ittici semilavorati, lavorati e finiti ha avuto successo in tutti i casi presi in considerazione, portando alla luce anche situazioni di mancata corrispondenza tra specie identificata e specie attesa, andando a confermare i dati di precedenti studi scientifici². L'analisi tramite DNA barcoding si è dimostrata quindi un utile strumento di supporto al riconoscimento morfologico in grado di tutelare le aziende da possibili errori. Un aspetto fondamentale per il settore ittico, in cui le tempistiche sono molto ristrette, rimane la rapidità nell'esecuzione dell'analisi, per non gravare in modo eccessivo sui processi produttivi.

Un buon successo dell'analisi è stato riscontrato anche per il settore erboristico e delle spezie. In questo caso le analisi sui prodotti in polvere e in taglio tisana hanno restituito una buona percentuale di successo³ e confermato la specie attesa, senza influire in maniera negativa sui processi produttivi.

Le aziende partner appartenenti al settore erboristico e delle spezie hanno identificato le analisi genetiche come strumento utile per il controllo delle materie prime acquistate e in grado di aggiungere valore ai propri prodotti soprattutto nelle vendite B2B.

Più complesso è invece il caso dei mix di erbe, risultate non analizzabili con il DNA barcoding ma solamente tramite una diversa metodologia genetica non presa in considerazione nel progetto DNA in Filiera.

Un caso molto interessante è invece quello del settore nutraceutico e del benessere della persona. Trattandosi di un settore in cui gli aspetti salutistici sono molto rilevanti, la possibilità di poter avere a disposizione un ulteriore strumento di garanzia per i prodotti venduti ha sollecitato un forte interesse da parte delle aziende.

² **Survey of mislabelling across finfish supply chain reveals mislabelling both outside and within Canada.** Hanan R. Shehataab Danielle Bourqueab Dirk Steinkeb Shu Chenc Robert Hannera.

Using DNA Barcoding to Investigate Patterns of Species Utilisation in UK Shark Products Reveals Threatened Species on Sale. Catherine A. D. Hobbs, Robert W. A. Potts, Matthew Bjerregaard Walsh, Jane Usher & Andrew M. Griffiths

³ I casi di insuccesso sono stati riscontrati esclusivamente su frutta in polvere.

Se l'identificazione di batteri nei prodotti probiotici non sembra dare alcun tipo di problematica, diverso è il caso di estratti, oli essenziali, distillati e compresse. Quest'ultimi infatti non sono risultati idonei per le analisi genetiche, nella quasi totalità dei casi, in quanto soggetti a processi di lavorazione intensivi che provocano una degradazione eccessiva del DNA, tanto da renderlo non analizzabile.

Tale problema potrebbe essere in parte risolto attraverso l'analisi e la certificazione delle materie prime utilizzate per le produzioni di estratti, oli essenziali e distillati, la cui fattibilità è stata ampiamente confermata (per esempio "Olio essenziale prodotto con *Rosmarinus officinalis* geneticamente controllato" o "Estratto di *Hypericum perforatum* geneticamente controllato").

FEM2-Ambiente è consapevole del fatto che rimane ancora molto da indagare relativamente alle applicazioni industriali dell'identificazione genetica. Il materiale analizzato fino ad oggi ha ricoperto un ampio ventaglio di possibilità ma sicuramente non è in grado di coprire tutte le realtà esistenti. Ad esempio, potrebbe essere meglio approfondito il caso di prodotti finiti di origine vegetale commercializzati da aziende agroalimentari e di tipologie molto differenti tra loro e indagarne l'effetto sul consumatore finale.

Il team di FEM2-Ambiente rimane a disposizione per affrontare nuove sfide e instaurare collaborazioni per poter sviluppare servizi utili per le aziende di diverse filiere produttive e consorzi attraverso progetti di ricerca e sviluppo realizzati *ad hoc*.



FEM2-AMBIENTE
SPIN-OFF ACCREDITATA
DALL'UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI
MILANO-BICOCCA

