UNIVERSITÀ CATTOLICA del Sacro Cuore
BioDNA
Centro di ricerca sulla Biodiversità e sul DNA Antico

Identificazione di corpi estranei di origine animale rinvenuti in prodotti alimentari

La presenza di infestanti compromette la qualità igienico-sanitaria delle sostanze destinate al consumo alimentare. La loro corretta identificazione è di fondamentale importanza per le aziende agro-alimentari, che devono garantire la salubrità dei loro prodotti non solo per la loro immissione in commercio ma anche per il rispetto del consumatore, oggi sempre più consapevole ed esigente.

La ricerca di impurità solide nelle derrate alimentari, derivate da contaminazioni accidentali, e la loro successiva identificazione, può essere svolta con l'ausilio di tecniche differenti: dalla diagnosi macroscopica, basata sull'esame visivo diretto e la valutazione di specifici caratteri biologici e morfologici dell'inquinante all'analisi di identificazione molecolare (DNA barcoding).

L'identificazione dell'infestante è in grado di fornire informazioni specifiche utili per l'identificazione del contaminante e avviare quindi misure correttive nel processo produttivo.

"Identificazione di impurità solide in derrate alimentari"

Laboratorio	BioDNA
Area di specializzazione	Agroalimentare
Referenti	Emanuele Mazzoni
Keyword	Identificazione impurità solide, Analisi macroscopiche, Analisi molecolari, Qualità delle derrate alimentari



Fig. 1: Identificazione di insetti e altri organismi animali provenienti da prodotti alimentari e non

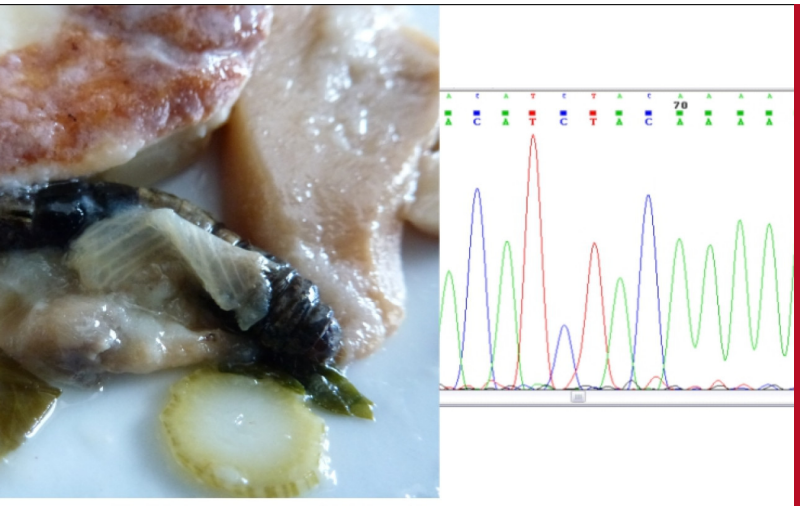


Fig. 2: Infestanti di dubbia/difficile/impossibile identificazione morfologica vengono identificati con la tecnica del DNA barcoding

Descrizione

Il prodotto fornito riguarda attività e competenze per la determinazione dell'origine di impurità solide di origine animale riscontrabili all'interno di derrate alimentari. Il campione, una volta ricevuto dal committente come concordato con il responsabile scientifico della commessa, viene sottoposto ad una prima valutazione per definire le modalità da utilizzare per l'identificazione dell'impurità: analisi macroscopica delle caratteristiche visive e morfologiche dell'inquinante; analisi molecolare del DNA estratto per l'identificazione della specie; entrambe le procedure.

La strategia selezionata viene comunicata al committente. L'identificazione morfologica viene effettuata mediante analisi microscopiche, con o senza la preparazione di appositi preparati, avvalendosi di chiavi di classificazione reperibili presso la biblioteca dell'Università Cattolica o la collezione di documenti disponibili presso il centro di ricerca.

Per l'identificazione molecolare, dal campione fornito (in toto o in parte) viene eseguita un'estrazione del DNA mediante kit commerciali per campioni animali.

L'identificazione della specie avivene mediante DNA barcoding basato sull'amplificazione e sequenziamento dei geni mitocondriali citocromo ossidasi I (COI) e/ o il citocromo b (CYTb), seguiti da analisi in banca dati per determinare la specie.

Un certificato di analisi viene predisposto per il committente corredato da: descrizione attività e risultati, foto campione e sequenze ottenute.

Aspetti innovativi

Tra i principali aspetti innovativi, l'analisi della sequenza del DNA consente l'identificazione di campioni non diversamente identificabili come gli stadi giovanili di molte specie di artropodi per le quali normalmente non esistono chiavi di classificazione complete.

Un ulteriore vantaggio derivante dalle tecniche di barcoding è la possibilità di indentificare infestanti morfologicamente incompleti o disponibili solo in parte.

Applicazioni

La tecnica del DNA barcoding è utilizzabile in tutto il settore agroalimentare a supporto dell'identificazione di infestanti di origine animale.

Il servizio è rivolto ad aziende agroalimentari dalla trasformazione, al processamento e alla distribuzione e aziende mangimistiche.

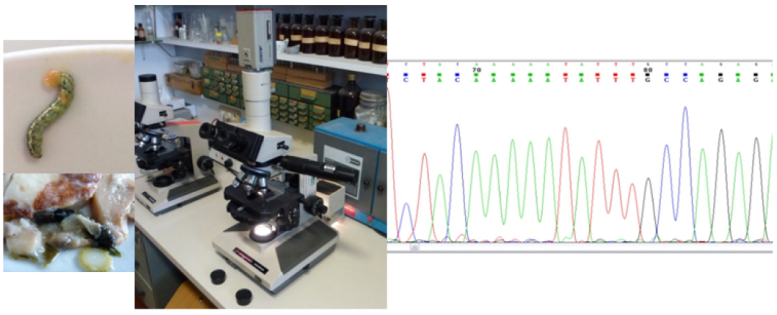


Fig. 3: Identificazione di infestanti delle derrate mediante approcci morfologici e molecolari.

Partner coinvolti	Aziende agroalimentari committenti
Tempi di realizzazione	In media sette giorni lavorativi
Livello di maturità tecnologica	TRL 8 - sistema completo e validato
Valorizzazione applicazione	L'analisi del DNA permette di identificare con semplici tecniche di laboratorio specie che rischierebbero competenze di differenti specialisti. La corretta identificazione permette di prevenire future infestazioni e di identificare eventuali criticità della filiera produttiva. L'applicazione è a disposizione delle aziende del settore agroalimentare.

Esempio di applicazione

Identificazione mediante analisi del DNA mitocondriale di campioni per i quali non esistono tecniche/chiavi di identificazione morfologica o la cattiva conservazione del campione ha causato la perdita di caratteri diagnostici necessari alla corretta classificazione del reperto.

Situazione concreta: esemplare di ragno trovato vivo in un una confezione di ortaggi presso un negozio della GDO.

L'analisi morfologica utilizzando chiavi di classificazione (Nentwig W, Blick T, Bosmans R, Gloor D, Hänggi A, Kropf C, 2021. Spiders of Europe. Version 02.2021. https://doi.org/10.24436/1) identifica il reperto come un esemplare di sesso femminile appartenente alla famiglia "Theridiidae".

Tuttavia l'identificazione a livello di genere e specie viene preclusa dal fatto che le chiavi di classificazione si basano sui caratteri dei maschi per distinguere le varie specie (114 in Italia). Il ricorso al barcoding diventa quindi indispensabile.

L'esemplare è stato spedito in etanolo al centro di ricerca. Sono state rimosse in ambiente sterile 2 zampe da cui è stato estratto il DNA. E' stata allestita una reazione di PCR impiegando i primers LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') and HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') (Folmer et al, 1994).

Il prodotto di amplificazione è stato sequenziato e la sequenza allineata con le sequenze in banca dati (NCBI e BOLDSYSTEM) consentendo l'identificazione del ragno come un esemplare appartenente alla specie Steatoda paykulliana.

UNIVERSITÀ CATTOLICA del Sacro Cuore

BioDNA

Centro di ricerca sulla Biodiversità e sul DNA Antico

BioDNA

Centro di ricerca sulla Biodiversità e sul DNA antico



Il Centro di Ricerca sulla Biodiversità e sul DNA antico - BioDNA, si occupa dello studio della diversità genetica delle specie vegetali, animali e dei microorganismi e si suddivide in tre Aree di interesse che offrono i seguenti servizi: Biodiversità: Caratterizzazione genetica, stima della biodiversità e ricostruzione della storia evoluzionistica di popolazioni naturali e domestiche di specie animali e vegetali; Analisi del DNA di campioni antichi; Analisi genetiche e bioinformatiche per l'identificazione e la caratterizzazione di geni specifici. Tracciabilità: Rilevamento della presenza di OGM; Analisi del genoma, del proteoma e del metaboloma di prodotti di origine vegetale e animale; Accertamenti molecolari per funghi, batteri, virus, viroidi, fitoplasmi e nematodi agenti causali di malattia su colture vegetali; Studio di protocolli per la quantificazione molecolare del livello di inoculo di specifici patogeni presente in diversi substrati e matrici vegetali ed alimentari; Identificazione morfologica e/o molecolare di organismi animali infestanti in derrate o altri materiali; Filth-test; Verifica della vulnerabilità delle confezioni di prodotti alimentari da parte di insetti. Sicurezza alimentare, qualità dei prodotti e benessere animale: Ricerca e conta dei microrganismi; Colture e conservazione dei microrganismi; Tassonomia microbica con tecniche molecolari; Indicatori fisiologici di benessere (sangue, latte, ecc.); Valutazione del benessere in allevamento (SDIB).

Sito web	http://centridiricerca.unicatt.it/biodna
Direttore	Matteo Busconi
Data pubblicazione	29/11/2022