izs
istituto zooprofilattico sperimentale
della puglia e della basilicata

IZS PB 07/21 RC

"Utilizzo dell'approccio di metabarcoding per una rapida identificazione di specie in prodotti ittici a sostegno della lotta alle frodi commerciali"

Responsabile Scientifico: Dott. A. Parisi

Relatore Convegno Ricerca e Territorio 2025 IZSPB: Dott. Castellana Stefano

L'autenticità degli alimenti e la veridicità delle etichette con cui essi sono commercializzati sono oggetto di grande interesse per ricercatori, consumatori, legislatori ed industrie alimentari. Il pesce è un alimento molto apprezzato e consumato in tutto il mondo, ma la complessità delle filiere produttive coinvolte e la facilità con cui si possono commettere frodi rendono necessario un controllo rigoroso e una corretta informazione al consumatore. L'unica metodica che ha valore a livello legale nell'identificazione di specie ittiche è l'analisi morfologica. Tale metodo non è sufficiente a garantire la tutela del consumatore, in quanto negli ultimi decenni si ha un netto aumento di consumo di prodotti trasformati (es., fishburger, surimi, insalate, filetti panati, ecc.)

Tra tutte le metodiche molecolari, gli approcci basati sul DNA barcoding e metabarcoding si prestano meglio a verificare l'autenticità delle etichette dei prodotti commercializzati, attraverso il sequenziamento (singola sequenza e massivo) di uno o più marcatori di specie.

Il presente progetto si è articolato in due fasi. Nella prima (2019-2020) sono stati collezionati 100 prodotti ittici dalla grande distribuzione pugliese (tranci, filetti, prodotti ultraprocessati) ed utilizzati primer specifici per l'amplificazione ed il sequenziamento Sanger dei geni MT-CO1 e MT-CYB. Per 52 su 100 è stato utilizzato un approccio di metabarcoding, su piattaforma NGS Illumina MiSeq, applicato sul gene MT-12S. Nella seconda fase (2024), sono stati collezionati altri 35 prodotti, per lo più ultra-processati, sui quali è stata effettuata l'identificazione di specie con approccio metabarcoding (MT-12S). Le sequenze ottenute ed analizzate mediante tool bioinformatici adhoc (RDADA2, R Phyloseq, NCBI Blastn) sono state attribuite, per score di similarità, a centinaia di generi e specie diverse. 8 campioni su 100 del primo campionamento risultavano non coerenti col risultato molecolare; l'approccio metabarcoding ha performato meglio di quello basato su Sanger. Nella seconda fase del campionamento, si è rilevata una non corretta etichettatura per 17 prodotti su 35 (49%), con particolare rilievo per uno dei 19 siti di distribuzione o produzione investigati. I prodotti a base di Theragra chalcogramma (merluzzo d'Alaska) sono risultati essere tra i più ad alto rischio di frode, contenendo, in alcuni casi, notevoli quantità di Pleuronectes platessa (dal 40 al 60% del totale delle sequenze di un certo campione) e di specie minori di merluzzo. Alcuni alimenti molto processati, come surimi, croccantini di pesce e farine di spesce sono caratterizzati da alti indici di diversità alfa (Shannon index, Chao1 index), che evidenzierebbero la presenza di decine di generi e specie diverse. Dall'analisi eco-geografica di tali gruppi tassonomici è emerso che questi prodotti ultraprocessati sarebbero costituiti da pesci di basso valore commerciale, pescati prevalentemente

nell'Oceano Indiano e nel Sud-est Pacifico. Non sono state identificate, almeno in grandi quantità (abbondanze relative) specie tossiche per l'uomo o a rischio di estinzione.

Il presente Progetto di Ricerca ha evidenziato come NGS e DNA metabarcoding siano metodi molto potenti, utili alla tracciatura degli alimenti, specie se ultra-processati, ma necessitano di una maggiore standardizzazione (es. selezione del marcatore o più di uno, selezione del kit di estrazione, metodi analisi, eccl). Inoltre, il «mislabeling» dei prodotti ittici non è da sottovalutare, soprattutto per alcuni produttori e prodotti. Il «merluzzo d'alaska» è in generale, tra i prodotti più soggetti a frode, oltre a pesce spada, salmone, trota. Le etichette sono spesso generiche e non danno idea della potenziale complessità dell'origine delle materie prime utilizzate. I risultati iniziali di questo progetto sono stati presentati ai congressi SIDILV e SISVET 2023.

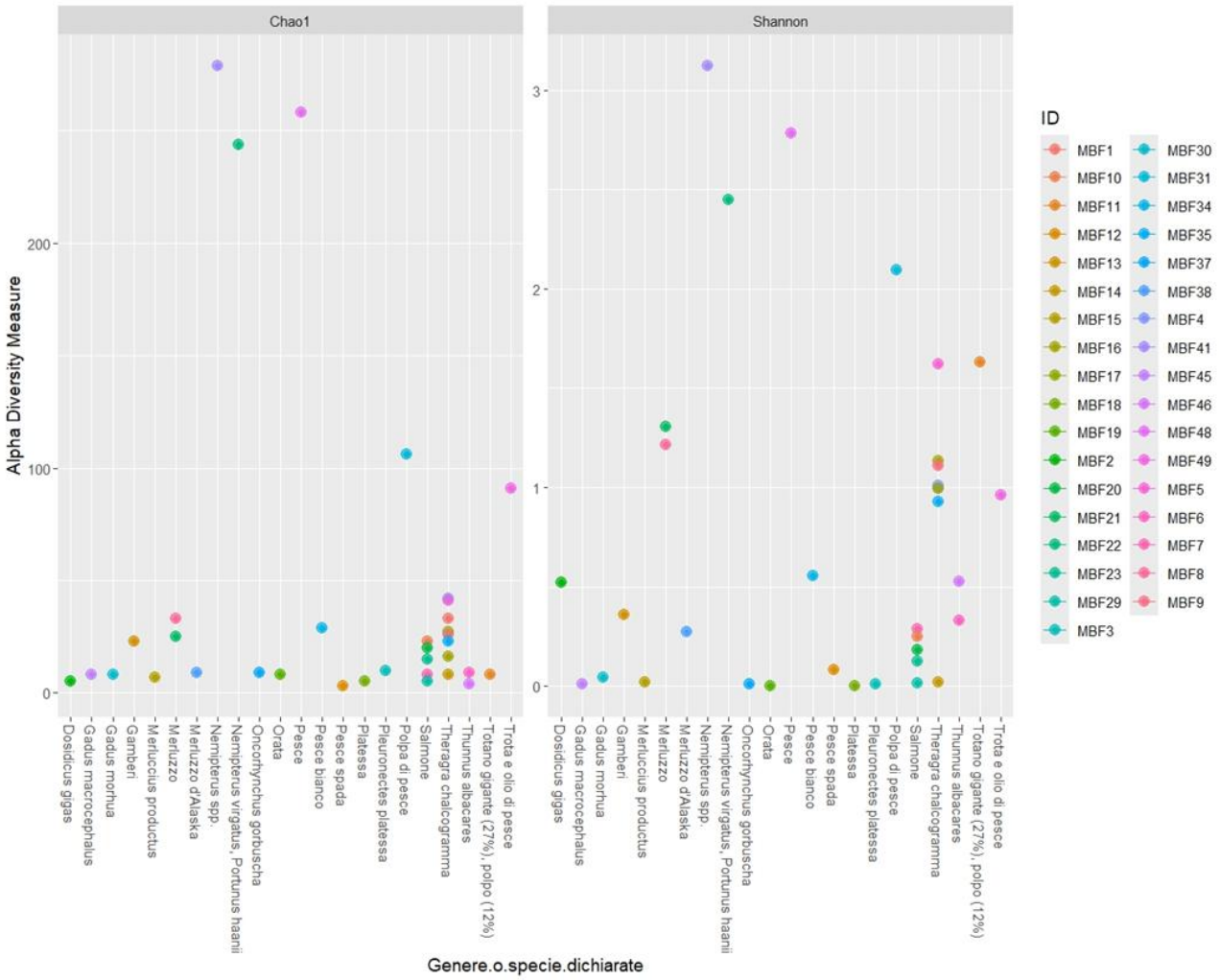


Figura 1. Indici di diversità alfa (Chao1 e Shannon Index) per i 35 campioni investigati (legenda), raggruppati per specie dichiarate in etichetta (asse X).

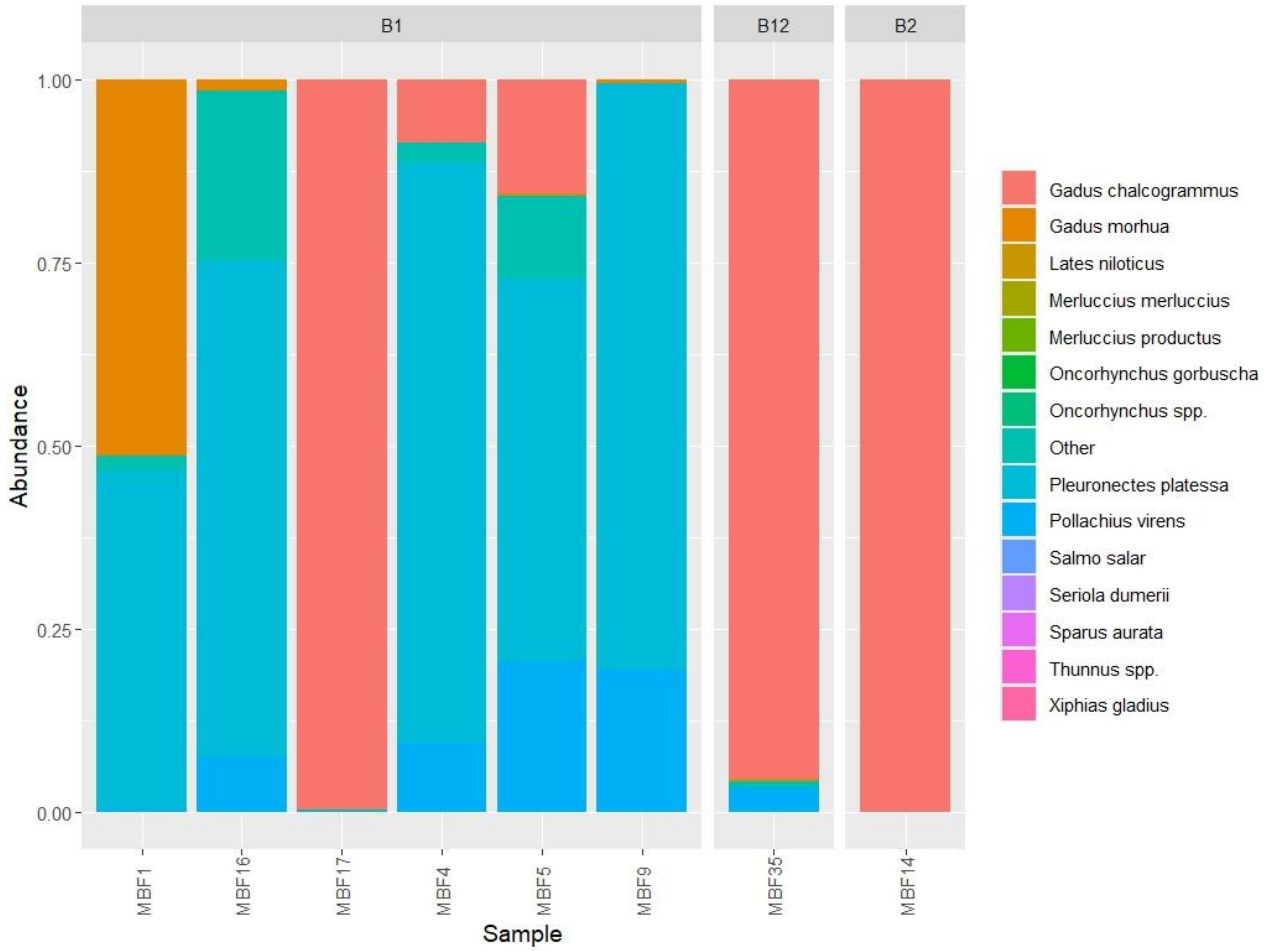


Figura 2. Abbondanza relativa dei principali taxa (legenda) nei campioni con etichettatura riportante "Theragra chalcogramma", relativi a 3 siti di produzione/distribuzione (B1, B12, B2).

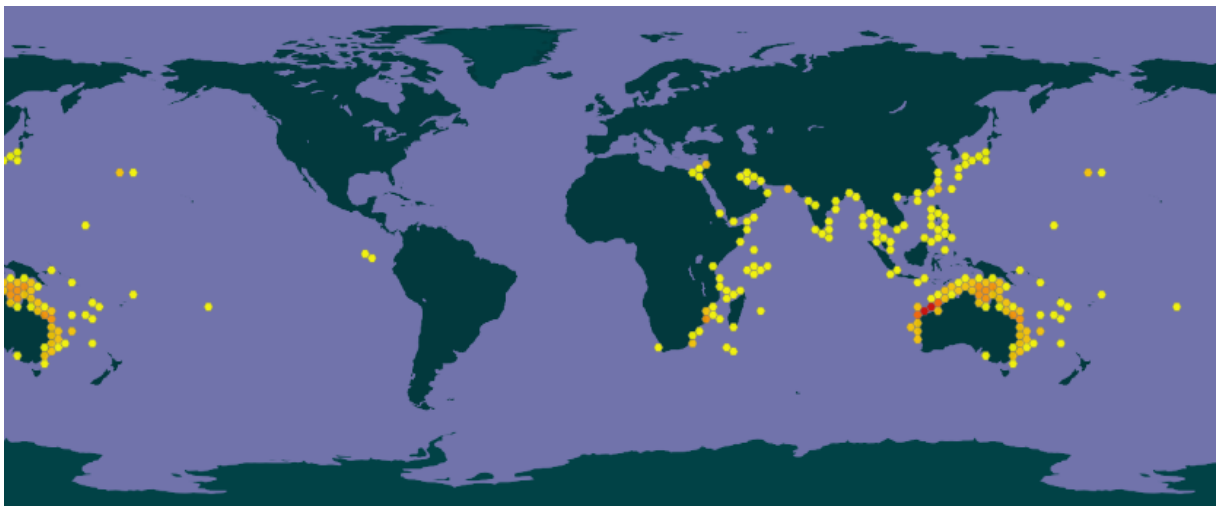


Figura 3. Areali di distribuzione di alcuni taxa identificati (abbondanza relativa > 2%) in campione di farina di pesce, con etichettatura riportante "pesce".

Bibliografia essenziale:

Avise, J.C. (2000). Phylogeography, the history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge (Massachusetts), London (England).

Chiesa LM, Pavlovic R, Nobile M, Di Cesare F, Malandra R, Pessina D, Panseri S. Discrimination between Fresh and Frozen-Thawed Fish Involved in Food Safety and Fraud Protection. Foods. 2020 Dec 18;9(12):1896**.**

Dawan J, Ahn J. Application of DNA barcoding for ensuring food safety and quality. Food Sci Biotechnol. 2022 Jul 27;31(11):1355-1364.

Mottola A, Piredda R, Lorusso L, Ranieri L, Intermite C, Barresi C, Galli C, Di Pinto A. Decoding Seafood: Multi-Marker Metabarcoding for Authenticating Processed Seafood. Foods 2024, 13, 2382.

Hung-Tai L, Cheng-Hsin L, Te-Hua H, DNA metabarcoding unveils the hidden species composition in fish surimi: Implications for the management of unlabeled and mixed seafood products. Heliyon,Volume 10, Issue 16,2024,e36287.