

**AVVISI PUBBLICI REGIONALI DI ATTUAZIONE PER L'ANNO 2017 DEL
TIPO DI
OPERAZIONE 16.2.01 "SUPPORTO PER PROGETTI PILOTA E PER LO
SVILUPPO DI NUOVI
PRODOTTI, PRATICHE, PROCESSI E TECNOLOGIE NEL SETTORE
AGRICOLO E
AGROINDUSTRIALE"**

FOCUS AREA 3A DGR N. 227 DEL 27 FEBBRAIO 2017

RELAZIONE TECNICA ☐ INTERMEDIA ☒ FINALE

DOMANDA DI SOSTEGNO N. 5423752

DOMANDA DI PAGAMENTO 5757465

FOCUS AREA: 3A

Titolo Piano	Lotta biologica nella stagionatura del Prosciutto di Parma
Ragione sociale del proponente (soggetto mandatario)	SALUMIFICIO SAN PAOLO S.R.L.

Durata originariamente prevista del progetto (in mesi)	18
Data inizio attività	01/05/2023
Data termine attività (incluse eventuali proroghe già concesse)	19/01/2024

Relazione relativa al periodo di attività dal	01/10/2022	al 19/01/2024
Data rilascio relazione	22/04/2024	

Autore della relazione			
telefono		email	salumificiosanpaolo@pec.it

Sommario

1 -	DESCRIZIONE DELLO STATO DI AVANZAMENTO DEL PIANO	3
1.1	STATO DI AVANZAMENTO DELLE AZIONI PREVISTE NEL PIANO	3
2 -	DESCRIZIONE PER SINGOLA AZIONE	3
2.1	ATTIVITÀ E RISULTATI	3
2.2	PERSONALE	4
2.3	TRASFERTE	4
2.4	MATERIALE CONSUMABILE	4
2.5	SPESE PER MATERIALE DUREVOLE E ATTREZZATURE	5
	LAVORAZIONI DIRETTAMENTE IMPUTABILI ALLA REALIZZAZIONE DEI PROTOTIPI	5
2.6	MATERIALI E	5
2.7	ATTIVITÀ DI FORMAZIONE	5
2.8	COLLABORAZIONI, CONSULENZE, ALTRI SERVIZI	6
3 -	CRITICITÀ INCONTRATE DURANTE LA REALIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ	6
4 -	ALTRE INFORMAZIONI	6
5 -	CONSIDERAZIONI FINALI	7
6 -	RELAZIONE TECNICA	7

1 - Descrizione dello stato di avanzamento del Piano

Descrivere brevemente il quadro di insieme relativo alla realizzazione del piano.

Azione 1: Esercizio della cooperazione

Il personale interno ha svolto una funzione di coordinamento tra i vari consulenti (Bioecology srl, UNIMORE e Dama Servizi) verificando l'attuazione di tutte le fasi del progetto e mettendo in pratica le attività di controllo e gestione dei dispositivi predisposti dai consulenti (lampade luminose e aspiratori)

Azione 2: Specifiche azioni legate alla realizzazione del piano

Fase di monitoraggio: ogni settimana per tutta la durata del progetto si sono raccolti i dati relativi alle catture di *Piophilidae casei* in tutte le fasi del loro ciclo vitale attraverso l'utilizzo di pannello collanti, lampade luminose e robot AGV aspiranti.

Rilevamento delle infestazioni: allo scopo di poter rilevare la presenza di larve all'interno dei prosciutti in stagionatura si è sperimentato l'utilizzo di un ecografo ad elevata sensibilità con un esito negativo, e di un naso elettronico con esiti molto positivi. Al punto 6 – *Relazione tecnica* vengono presi in esame i risultati delle sperimentazioni.

Progettazione di nuovi processi in prosciuttificio: in questa fase si è resa necessaria la costruzione di strutture a parte per l'utilizzo dei parassitoidi. La sperimentazione ha dato esito positivo. Al punto 6 – *Relazione tecnica* vengono presi in esame i risultati delle sperimentazioni.

Progettazione di un Robot AGV: è stato modificato un Robot aspiratore rendendolo controllabile da remoto. Il Robot AGV svolge la funzione di raccolta delle pupae e delle larve oltre alla pulizia del pavimento.

Azione 3: Azione di divulgazione

Il 19 gennaio 2024 si è tenuto un seminario di divulgazione dei risultati del progetto e delle buone pratiche individuate.

1.1 Stato di avanzamento delle azioni previste nel Piano

Azione	Unità aziendale responsabile	Tipologia attività	Mese inizio attività previsto	Mese inizio attività effettivo	Mese termine attività previsto	Mese termine attività effettivo
1 - Cooperazione	Salumificio San Paolo srl (in collaborazione con Bioecology srl, UNIBO)	Esercizio della collaborazione	Aprile 2023	Maggio 2023	Ottobre 2023	Gennaio 2024
2 – Realizzazione del piano	Salumificio San Paolo srl (in collaborazione con Bioecology srl, UNIBO, Dama Servizi)	Monitoraggio, Rilevamento delle infestazioni (test), Progettazione nuovi processi, Progettazione Robot AGV	Maggio 2023	Giugno 2023	Ottobre 2023	Novembre 2023
3 – Divulgazione	Salumificio San Paolo srl	Organizzazione seminario di divulgazione	Novembre 2023	Dicembre 2023	Novembre 2023	Gennaio 2024

2 - Descrizione per singola azione

Compilare una scheda per ciascuna azione

2.1 Attività e risultati

Azione 1	Esercizio della cooperazione
Unità aziendale responsabile	Prosciuttificio San Paolo srl – Personale interno
Descrizione delle attività	Il personale interno di Prosciuttificio San Paolo ha svolto il ruolo di coordinatore e gestore delle azioni del Piano di innovazione, mettendo in atto tutte le iniziative necessarie alla realizzazione al conseguimento dei risultati previsti. Di seguito si riportano in sintesi le diverse attività svolte: <u>Attivazione e gestione del Piano di innovazione</u> In seguito all'approvazione del Piano (Delibera Reg. Emilia-Romagna n. 18275 del 28/09/2022) è stata gestita la fase di attivazione del Piano che ha riguardato sia gli aspetti amministrativi e formali sia il consolidamento degli obiettivi con l'intero gruppo di referenti coinvolti a vario titolo nel Piano stesso.

	In una riunione, alla presenza di tutte le figure coinvolte, sono stati riproposti i contenuti e gli obiettivi del Piano al fine di avere la più ampia condivisione possibile delle informazioni e impostare le modalità di realizzazione delle azioni d'innovazione. Il Responsabile del Piano ha stabilito che il personale interno si è occupato di: - coordinare e gestire il progetto con l'autorità di gestione del PSE e con Coldiretti - mantenere i rapporti con i consulenti tecnico-scientifici; nello specifico con UNIBO, Bioecology srl e Dama Servizi Snc - controllare, attuare e gestire le nuove pratiche proposte dai consulenti - attivare e controllare i nuovi dispositivi - analizzare la fattibilità di mercato degli apporti procedurali proposti dai consulenti.
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	Gli obiettivi previsti nell'ambito di questa azione sono stati completamente raggiunti. Nessuna criticità tecnico scientifica è stata evidenziata durante l'attività svolta.

Azione 2	Azioni specifiche legate alla realizzazione del Piano
Unità aziendale responsabile	Prosciuttificio San Paolo srl – Personale interno
Descrizione delle attività	Lo scopo specifico di questo studio è stato quello di quantificare i parametri di qualità: tasso di successo del parassitismo, grado di parassitismo, rapporto tra i sessi e durata della vita per ciascun parassitoide. Lo studio di questi parametri è il primo passo nella valutazione della loro potenziale efficacia contro <i>Piophilidae casei</i>. Inoltre, questi parametri aiutano nella progettazione delle procedure di allevamento di massa e forniscono dati di base per determinare i tassi di rilascio e i tempi dei rilasci. Il personale interno di Prosciuttificio San Paolo, in collaborazione con l'Università di Bologna – DISTAL, Bioecology srl e Dama Servizi Snc, si sono occupati di: ➤ individuare un'area idonea alla sperimentazione. Allo scopo è stata scelta una sala di dimensioni 5 m x 7 m identificata in planimetria come "CELLA PRODOTTI FINITI" posta nella sala di stagionatura. Tale area è stata appositamente isolata con una porta a chiusura ermetica al fine di prevenire qualsiasi possibile forma di contaminazione. All'interno della stanza sono stati ricavati due box sperimentali ciascuno delle dimensioni di 2,5 m x 2,5 m con struttura in legno e zanzariere dotate di mesh 160µm. L'obiettivo principale dei box è stato quello di creare un ambiente controllato per la sperimentazione, garantendo un'adeguata separazione dall'area in cui i prosciutti destinati alla vendita sono stoccati. La prima fase del progetto è stata dedicata alla ricerca di un antagonista autoctono alla <i>Piophilidae casei</i>. L'obiettivo è l'individuazione di un parassitoide pupale, ovvero un insetto in grado di deporre le uova all'interno dei pupari di <i>Piophilidae casei</i> e le cui larve si sviluppano a discapito dell'ospite portandolo alla morte. L'importanza del parassitoide pupale è data dalla caratteristica di <i>Piophilidae casei</i> di impuparsi in ambienti esterni all'alimento, mediante il caratteristico salto facendosi cadere a terra. Questo di fatto eviterebbe ogni tipo di contaminazione dell'alimento in conformità alla normativa cogente. Il responsabile scientifico propone di utilizzare per la sperimentazione due parassitoidi: - <i>Muscidifurax raptor</i>: una piccola vespa già utilizzata nella lotta ad altre specie di mosche (BOX1) - <i>Pachycrepoideus vindemiae</i>: imenottero parassitoide (BOX2). Piano di rilascio <i>Muscidifurax raptor</i> come Agente di Controllo Biologico della mosca dei prosciutti <i>Piophilidae casei</i>

Il presente verbale testimonia il corso degli eventi, le fasi della sperimentazione e le relative considerazioni emerse durante il processo.

Fasi della Sperimentazione

Il primo box, denominato BOX1, è stato reso operativo a partire dal 07/06 e vi è stato effettuato un inoculo con il parassitoide *Muscidifurax raptor*. Il secondo box, noto come BOX2, è stato preparato per l'uso il 26/07, con l'intenzione di testare l'efficacia di *Pachycrepoideus vindemiae*.

All'interno dei due box sono stati posti n° 25 prosciutti ciascuno, sottoposti ad un processo di stagionatura analogo a quello utilizzato sia per i prosciutti presenti in quella sala e usati come controllo sia nelle altre sale del prosciuttificio. Per prevedere la comparsa delle pupe di *P. casei* sono stati lanciati n° 100 esemplari adulti di questi, al fine di infestare i prosciutti presenti nei due BOX (06\06\23 BOX1; 26\07 BOX2).



Materiali e Metodi

Dopo 20 giorni dall'inoculo con *Piophilha casei* (26/06/23), è stato eseguito il primo campionamento pre-lancio (C_0) al fine di raccogliere pupe della generazione x+1. L'arco temporale scelto coincide con un intervallo approssimativo di 3-5 giorni in coincidenza con il periodo in cui si riscontra, secondo la letteratura, il più alto tasso di parassitizzazione nelle pupe). Durante il campionamento sono state raccolte 25 pupe. Il numero di 50 pupe indicato nel protocollo è stato dimezzato in quanto il numero di pupe presenti nel BOX1 era significativamente basso (<50). È da notare, infatti, che un malfunzionamento dei condizionatori ha ostacolato l'efficacia dell'inoculo, portando a una ridotta infestazione di *P. casei* nel BOX1. Lo stesso problema ha compromesso anche l'ovidiposizione delle *P. casei* lanciate il 06/06, causando una precoce mortalità di queste e una conseguente riduzione delle generazioni successive. Si è ritenuto necessario introdurre ulteriori 50 individui di *Piophilha casei* per mitigare l'effetto di questa anomalia ambientale.

Parallelamente, sono stati rilasciati 100 maschi e 100 femmine adulti di *Muscidifurax raptor* (L1), forniti da Bioecology SRL. Gli adulti sono stati selezionati entro 3 giorni dallo sfarfallamento per evitare devitalizzazione.

A causa delle limitate dimensioni del box di sperimentazione, è stato stabilito nel protocollo che, l'impiego di trappole adesive per la cattura degli adulti nella sala contenente i box potrebbe compromettere l'integrità dei risultati, poiché gli insetti bersaglio, trovandosi in uno spazio confinato, potrebbero essere intrappolati durante il volo. Tuttavia, va notato che all'interno della sala di stagionatura, in cui sono situati i BOX1 e BOX2, sono state individuate trappole adesive luminose.

Pertanto, si richiede cortesemente la rimozione di tali trappole, al fine di garantire la congruità delle condizioni sperimentali e dei risultati ottenuti.

La valutazione successiva al rilascio iniziale, denominata L1C_1, è stata condotta in data 04\07. Tale campionamento prevedeva il prelievo di 25 pupe dal pavimento del BOX1. Un numero analogo di pupe è stato campionato anche nell'area di controllo (L1C_A). Le pupe così raccolte sono state collocate in provette munite di aperture per la regolazione degli scambi gassosi, con il preciso scopo di impedire la fuga di adulti o potenziali parassitoidi.

All'interno del BOX1 e nella sala adiacente, non si sono riscontrate presenze di adulti in volo di *P. casei*, in contrasto con le aspettative.

In data 11\07, è stato eseguito il campionamento successivo, L1C_2, all'interno del BOX1, e L1C_B, nell'area di controllo. A causa dell'esiguo numero di pupe presenti, il numero di pupe campionate è stato ridotto a 15.

Il secondo campionamento, originariamente pianificato per il 26\07 (L1C_3 e L1C_C), non è stato eseguito a causa della scarsità di pupe rinvenute all'interno del BOX1 (inferiori a 20). In tale circostanza, si è optato per lasciare le pupe nel BOX1 al fine di non disturbare ulteriormente la successione generazionale dell'infestante e del parassitoide. Nella stessa data, è stato condotto l'inoculo di 100 individui di *P. casei* nel BOX2, in vista della successiva sperimentazione su *P. vindemiae*.

Nonostante le circostanze, si è scelto di procedere con il rilascio di 100 maschi e 100 femmine di *M. raptor* (L2), forniti dalla Bioecology Srl, facendo riferimento alle esigue quantità di pupe presenti sul terreno. Questa decisione è stata presa al fine di evitare ulteriori ritardi nei rilasci. In aggiunta, sono stati reinoculati 50 individui di *P. casei*.

In data 31\07, è stato effettuato il primo controllo successivo al secondo rilascio (L2C_1 e L2C_A), con la raccolta di 25 pupe in entrambi i casi. Gli adulti di *M. raptor* in volo non sono stati rilevati nemmeno in questa fase. Un controllo effettuato nel BOX2 ha rivelato la presenza di individui in volo di *P. casei*, tuttavia in numero inferiore a 10.

Il campionamento previsto per l'08\08 (L2C_2 e L2C_B) non è stato condotto a causa della scarsità di pupe nel BOX1 (meno di 10).

Sintetizzando le conclusioni tratte dal responsabile scientifico, i dati raccolti indicano che l'utilizzo della lotta biologica mediante parassitoidi, più rappresenta un metodo sostenibile per rispondere all'urgente necessità di gestire questo parassita. Vedi Relazione finale UNBO - DISTAL

- affiancare i tecnici di Bioecology nel testare e programmare i robot AGV che sono stati utilizzati sia per la raccolta di larve e pupe di *Platygaster casei* che per la pulizia del grasso che via via si accumula sui pavimenti della stagionatura. Una volta identificato il modello di robot che più adatto, Bioecology si è attivata per l'acquisto e la programmazione (la descrizione dei robot è documentata nella relazione di Mondo Novo Electronics srl che alleghiamo).



L'utilizzo dei robot nella pulizia si è rivelato molto efficace in quanto permette di raggiungere anche i punti impossibili da raggiungere dagli operatori. Ogni giorno un addetto di Salumificio San Paolo provvede alla pulizia del robot e alla raccolta delle pupe e delle larve

- monitorare e registrare settimanalmente gli esemplari di *Piophilha casei*; sia gli adulti catturati dalle piastre collanti posizionate nelle lampade luminose che le larve e le pupe raccolte dal robot AGV
- supporto ed assistenza al responsabile scientifico ed ai tecnici di Bioecology nella sperimentazione del naso elettronico sui prosciutti.



Il naso elettronico è un sistema rapido di rilevamento e riconoscimento degli odori. In ambito alimentare viene usato per riconoscere cibi di diversa provenienza, per monitorarne la freschezza e la durata al fine di ridurre gli sprechi e migliorare il livello di sicurezza. La sua spiccata sensibilità, è in grado di sentire odori impercettibili per l'olfatto umano. Il naso elettronico è un dispositivo complesso che simula il sistema olfattivo dell'uomo andando a replicare gli stadi del processo biologico di percezione dell'odore. Questi ultimi, attraverso i recettori olfattivi, inviano dei segnali al cervello che li riceve e li rielabora. Allo stesso modo il naso elettronico usa dei sensori elettrochimici che sono in grado di rilevare gli odori; quando un recettore riceve le molecole, trasmette il segnale a un programma per l'elaborazione, così come il naso lo veicola al cervello. La maggior parte dei nasi elettronici utilizza un raggruppamento di sensori che reagiscono ai composti volatili con i quali vengono a contatto. Questi strumenti sono costituiti da diversi elementi:

- un sistema di aspirazione del campione gassoso
- un insieme di tipologie differenti di sensori, corrispondenti a diverse caratteristiche di molecole odorose, che funzionano tramite il riconoscimento di pattern
- un software di gestione dei dati.

La sperimentazione sull'utilizzo del naso elettronico per l'individuazione si sono svolte presso i laboratori di UNIBO. Per i risultati della sperimentazione rimandiamo alla lettura della relazione finale di UNIBO che alleghiamo. Possiamo anticipare che l'esito è stato più che positivo in quanto l'elevata accuratezza ottenuta nella

	distinzione tra campioni sani e infettati lo propone come potenziale metodo per lo sviluppo di un sistema di controllo qualità non invasivo ed affidabile. ➤ supporto ed assistenza al responsabile scientifico ed ai tecnici di Bioecology nella sperimentazione dell'ecografo sui prosciutti. L'ecografica è una metodica diagnostica non invasiva che utilizzando ultrasuoni (onde sonore) emessi da particolari sonde, consente di visualizzare su un monitor tessuti e organi. L'utilizzo di un ecografo per rilevare la presenza di una infestazione nei prosciutti stagionati ha presentato alcune criticità che non lo rendono idoneo allo scopo come la presenza della cotenna che fa da barriera nella trasmissione delle onde sonore a la scarsa presenza di acqua che rende l'immagine molto confusa.
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	Gli obiettivi previsti nell'ambito di questa azione sono stati completamente raggiunti. Nessuna criticità tecnico scientifica è stata evidenziata durante l'attività svolta.

Azione 3	Divulgazione
Unità aziendale responsabile	Salumificio San Paolo
Descrizione delle attività	Il seminario è stato organizzato presso il nostro stabilimento e sono stati invitati: - Il Consorzio di Produzione del Prosciutto di Parma - Asl di Parma - Assessore Regionale all'agricoltura Dott. Alessio Mammi - I rappresentanti dei principali stabilimenti di trasformazione e produzione salumi.
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità	La partecipazione è stata buona. Si è notato un certo interesse al progetto ed ai risultati ottenuti.

2.2 Personale

Elencare il personale impegnato, il cui costo è portato a rendiconto, descrivendo sinteticamente l'attività svolta. Non includere le consulenze specialistiche, che devono essere descritte a parte.

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Ore	Costo
		Affiancamento dei tecnici durante i sopralluoghi. Studio nuove pratiche di gestione Assistenza nei test sul campo del prototipo di robot AGV Assistenza nei test dell'applicazione dei sistemi di diagnostica ad elevata sensibilità (ecografo+ naso elettronico) Tutoraggio visite guidate Collaborazione per predisposizione seminario di divulgazione	500	€15.870,00

		Controllo periodico e Studio delle catture ottenute Assistenza test e studio nuove pratiche di gestione Supervisione delle prove in campo Gestione sito web, newsletter e infografiche Collaborazione per predisposizione seminario di divulgazione	500	€14.505,00
		Programmazione e gestione del robot AGV Manutenzione e pulizia del robot AGV Manutenzione, pulizia delle lampade di cattura	300	€ 10.170
			Totale:	€ 40.545,00

2.3 Trasferte

Cognome e nome	Descrizione	Costo
		Totale:

2.4 Materiale consumabile

Fornitore	Descrizione materiale	Costo
		Totale:

2.5 Spese per materiale durevole e attrezzature

Fornitore	Descrizione dell'attrezzatura	Costo
		Totale:

2.6 Materiali e lavorazioni direttamente imputabili alla realizzazione dei prototipi

Descrivere i prototipi realizzati e i materiali direttamente imputabili nella loro realizzazione

Tutto il materiale è ricompreso nell'attività fornita da Bioecology

Fornitore	Descrizione	Costo
Totale:		

2.7 Attività di formazione

Descrivere brevemente le attività già concluse, indicando per ciascuna: ID proposta, numero di partecipanti, spesa e importo del contributo richiesto

2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi

CONSULENZE – PERSONE FISICHE

Non applicabile

CONSULENZE – SOCIETA'

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo Previsto	Attività realizzate/Ruolo nel Progetto	Costo
Bioecology Srl		€78.000	Progettazione impianto di cattura Gestione piano di cattura Fornitura e progettazione Robot AGV	€ 78.000

			Gestione Robot AGV da Remoto Prove in campo Monitoraggio delle prove in campo Test e analisi di cattura Progettazione nuovi prodotti Progettazione nuovi impianti di cattura Consulenza per catture Test e analisi di Laboratorio si infestanti e Parassitoidi	
--	--	--	---	--

3 - Criticità incontrate durante la realizzazione dell'attività

Lunghezza max 1 pagina

Criticità tecnicoscientifiche	La lotta a <i>Piophil casei</i> all'interno dei salumifici è estremamente complessa, in quanto a causa della natura stessa dell'ambiente non è possibile utilizzare i convenzionali metodi di lotta agli infestanti. La scelta dei metodi è quindi ricaduta su alternative che evitano l'utilizzo di prodotti chimici, quindi antagonisti naturali e rimozione meccanica. La lotta biologica classica consta nel rilascio dei nemici naturali del parassita da combattere ed essendo Bioecology e il gruppo dell'Università di Bologna molto esperti in queste tecniche, si è deciso di testare l'efficacia di due specie di parassitoidi (nello specifico, parassitoidi pupali di ditteri). Gli esperimenti sono stati condotti in ambiente protetto e separato dal resto della sala di stagionatura per rispettare i limiti imposti dalla legge in fatto di insetti nelle sale di stagionatura. Le prove hanno dato buoni risultati ed il metodo potrebbe potenzialmente essere applicato. Per la rimozione meccanica si è scelto di utilizzare dei robot aspirapolvere che aspirano le pupe presenti sul pavimento del magazzino, metodo che ha dato dei risultati significativi, ma che richiede una intensa manutenzione del robot stesso in quanto il grasso naturalmente presente nelle sale di stagionatura tende a saturare il robot aspirapolvere stesso. Ciononostante, il metodo ha dimostrato un buon grado di efficacia. Per il monitoraggio delle infestazioni già in atto all'interno dei prosciutti, invece, sono stati testati naso elettronico ed ecografo. Il secondo ha dato risultati negativi: lo strumento funziona meglio con i tessuti ricchi di liquidi, mentre il prosciutto stagionato ne contiene una quantità estremamente ridotta, di conseguenza non si è rilevato ideale. Diverso è il caso del naso elettronico, che invece si è rivelato uno strumento utile e funzionale, restituendo risultati validi.
Criticità gestionali (ad es. difficoltà con i fornitori, nel reperimento delle risorse umane, ecc.)	I parassitoidi hanno richiesto una stanza a parte in cui essere rilasciati, fortunatamente presente all'interno degli ambienti di stagionatura, in cui sono state costruite due diverse strutture separate, provviste di rete a maglie molto fini, per impedire agli insetti rilasciati di uscire. Il monitoraggio effettuato da Bioecology durante e dopo la fase sperimentale ha confermato l'efficacia delle misure di controllo prese. La manutenzione del robot aspirapolvere ha richiesto innanzitutto di imparare una corretta manutenzione e una non trascurabile quantità di tempo da parte dell'operatore incaricato.
Criticità finanziarie	

4 - Altre informazioni

Riportare in questa sezione eventuali altri contenuti tecnici non descritti nelle sezioni precedenti

5 - Considerazioni finali

Riportare qui ogni considerazione che si ritiene utile inviare all'Amministrazione, inclusi suggerimenti sulle modalità per migliorare l'efficienza del processo di presentazione, valutazione e gestione di proposte da cofinanziare

Il progetto ha avuto dei risultati positivi e incoraggianti nonostante tutti i problemi riscontrati. Ad eccezione dell'ecografo, tutte le strategie utilizzate hanno dimostrato efficacia sia nell'individuare prosciutti infestati, sia nel contrastare le infestazioni già in essere.

Una seconda fase del progetto potrebbe essere realizzata in modo da ampliare i test sul campo e trasformare queste strategie sperimentali in protocolli scalabili su più casi.

6 - Relazione tecnica

DA COMPILARE SOLO IN CASO DI RELAZIONE FINALE

Descrivere le attività complessivamente effettuate, nonché i risultati innovativi e i prodotti che caratterizzano il Piano e le potenziali ricadute in ambito produttivo e territoriale

Utilizzo di parassitoidi pupali e di metodi innovativi per l'individuazione dei campioni infestati

Piophilidae casei rappresenta un problema rilevante nell'industria dei salumifici, non tanto per la perdita di prosciutti infestati, che si mantiene contenuta, ma per i problemi sanitari e veterinari che da essa derivano, compresi dei costi di manutenzione aumentati e in molti casi anche una complessa gestione. A causa dell'impossibilità di utilizzare insetticidi, spesso i salumifici sono costretti a vuotare intere sale di stagionatura per poter effettuare dei trattamenti, sale che poi devono restare vuote per tutto il tempo di carenza che varia a seconda dell'insetticida utilizzato. Il progetto che ci ha coinvolto è un primo passo nella gestione sostenibile di *P. casei* per evitare tutti i problemi sopra descritti.

P. casei è una piccola mosca le cui larve si nutrono di materiale animale, nello specifico prodotti lattiero-caseari e prodotti dei salumifici. Le larve sono gregarie e le femmine depongono le uova attratte dai composti volatili emessi da altre larve; quindi, l'infestazione tende sempre ad aumentare. Le uova vengono deposte all'esterno dei prosciutti e le larve poi entrano in corrispondenza della "noce", cioè l'area che contorna il femore e nel "gambetto" in corrispondenza della parte terminale di tibia e perone (stinco). In questi punti le larve trovano facile via d'accesso in quanto i tessuti muscolari e quelli connettivi presentano lieve separazione dall'osso. Altre vie d'accesso si verificano in corrispondenza dei fori che vengono praticati dagli operatori per il controllo del grado di stagionatura. Una volta completato il ciclo larvale, per compiere la fase di impupamento, inizia a farsi strada nel substrato per raggiungerne la superficie esterna. Qui si lascia cadere al suolo e va in cerca di un luogo il più possibile asciutto e buio; a questo scopo le pavimentazioni dei prosciuttifici sono ideali. A questo punto si dirige ai bordi dei muri o in luoghi nascosti come alla base delle rastrelliere di stagionatura. Da qui emerge la possibilità di utilizzo del robot aspiratore per la raccolta delle larve, una volta eseguito il salto e impupatesi a terra.

La fase di diagnostica è estremamente importante e per questa è stato scelto l'ecografo, che non è utilizzabile a causa delle caratteristiche intrinseche del prosciutto in stagionatura, e il naso elettronico, che offre la possibilità di valutare la qualità dei prodotti in modo non distruttivo, in modo semplice, grazie al suo facile utilizzo e, soprattutto, fornendo valutazioni rapide rispetto ai metodi convenzionali, che richiedono molte ore di analisi di laboratorio. Il naso elettronico è un sistema olfattivo bionico artificiale (SOA), costituito da diverse unità che svolgono compiti specifici: trasmissione e campionamento del gas, rilevamento e preelaborazione del segnale, riconoscimento ed espressione degli odori. Un composto volatile target, una volta entrato in contatto con gli elementi sensibili dei chemosensori, presenti nello strumento, interagisce con questi producendo stimoli elettrici

che sono trasformati in un segnale elettrico. L'unità di preelaborazione esegue una serie di elaborazioni sul segnale elettrico ricevuto, come la riduzione del rumore, l'estrazione delle caratteristiche, l'amplificazione del segnale per infine scegliere un appropriato algoritmo per l'analisi dei dati processati.

Utilizzo di parassitoidi pupali

Per la fase di lotta biologica è stato prima catturato mediante l'esposizione di pupari esca e poi identificato *Pachycrepoideus vindemiae*. *P. vindemiae* appartiene alla famiglia Pteromalidae, sottofamiglia Sphegigasterinae, e alla tribù Pachyneurini. Un secondo parassitoide utilizzato è stato *Muscidifurax raptor*, già allevato da Bioecology. In entrambi i casi, da prove di laboratorio, i parassitoidi hanno attaccato con successo le pupe di *P. casei*.

Per lo studio del grado di infestazione e della dinamica di popolazione di *P. casei* sono state monitorate due sale di stagionatura negli ambienti del Salumificio San Paolo. Le operazioni di monitoraggio sono state eseguite utilizzando scopa e paletta, prelevando adulti, larve e pupari, presenti sulla pavimentazione al disotto delle rastrelliere a cui sono appesi i prosciutti in stagionatura. La prova sperimentale relativa al rilascio di *P. vindemiae* e *M. raptor*, è stata allestita nella sala di stagionatura interrata del salumificio San Paolo S.r.l. dove sono stati allestiti due box sperimentali ognuno di dimensione 2,5 x 2,5 m, realizzati con struttura in legno e pareti in rete da 160 µm mesh, allo scopo di isolare l'ambiente di sperimentazione dalla sala di lavorazione dei prosciutti pronti alla vendita.

All'interno di ognuno dei box sono stati inseriti n° 25 prosciutti esenti da infestazione di *P. casei*, appesi e sottoposti ai medesimi processi di stagionatura dei prosciutti destinati alla vendita presenti nella sala sotto controllo.

L'infestazione artificiale dei prosciutti è stata eseguita rilasciando in ognuno dei box n°100 esemplari di *P. casei*. Dopo tre settimane dal rilascio è stata verificata la presenza delle pupe del dittero al fine di poter effettuare il primo lancio dei relativi parassitoidi. Al fine di valutare l'impatto dei parassitoidi su *P. casei* sono stati effettuati 3 campionamenti per ogni lancio effettuato, su un totale di 3 lanci.

Diagnosi infestazione con naso elettronico

Il lavoro è stato condotto utilizzando il naso elettronico PEN3 (Airsense Analytics GmbH, Germania). PEN3 è costituito da un apparato di campionamento, un'unità di rilevamento composta da un insieme di sensori e un software applicativo di riconoscimento del campione e registrazione dei dati (Win Muster v.1.6). L'unità di rilevamento è composta da 10 sensori chimici di tipo semiconduttore a ossido di metallo (MOS) termoregolati individualmente lavorando a temperature elevate (150-500 °C). Questi sensori permettono di classificare e identificare le diverse specie volatili (VOC). Ciascun sensore risponde preferenzialmente ad una classe di composti organici.

Lo studio sui VOC emessi da prosciutto crudo infestato da *P. casei* è stato condotto nel laboratorio entomologico del Dipartimento di Scienze Agro-Alimentari (DISTAL) dell'Università di Bologna. Le analisi con il naso elettronico sono state eseguite in ambienti privi di odori molto forti: tale caratteristica è fondamentale, in quanto l'inquinamento olfattivo dell'ambiente di lavoro potrebbe interferire con il sistema di analisi dei sensori dello strumento, portando a risultati non discriminanti. La fase iniziale ha previsto l'ottimizzazione delle condizioni di analisi, in particolare: il tempo di saturazione dello spazio di testa (ossia, il tempo necessario affinché i VOC raggiungano l'equilibrio nel volume vuoto del contenitore), la temperatura di incubazione e il peso del campione. Una volta ottimizzati questi parametri, le analisi sono state condotte a 27 °C con un tempo di saturazione di 30 min. Le misurazioni sono state ottenute settando il naso elettronico impostando i seguenti valori: flusso di aspirazione dello spazio di testa 400 ml min⁻¹; tempo di esposizione dei volatili ai sensori 80 s; tempo per il lavaggio dei sensori 180 s. La seconda fase di allenamento del naso elettronico ha previsto l'utilizzo di campioni di prosciutto crudo da 1 kg. L'obiettivo di questa fase era di validare i risultati ottenuti nella prima fase di analisi su campioni da 1 grammo e di valutare l'applicabilità del metodo a prosciutti interi. I prosciutti, forniti dal Prosciuttificio San Paolo, presentavano le stesse caratteristiche di stagionatura e di composizione dei prosciutti utilizzati nella fase di analisi di campioni da 1 grammo. I prosciutti sono stati tagliati in porzioni da 1 kg e classificati come: sani, poco infestati, molto infestati. I prosciutti, da cui sono stati preparati i campioni, sono stati infestati artificialmente in laboratorio e conservati in camera climatica a 20 °C. Questo per ricreare le condizioni di temperatura delle sale di stagionatura. I campioni di prosciutto sono stati analizzati in sacchi sottovuoto chiusi ermeticamente mediante l'utilizzo di una macchina sigillatrice. Le ultime analisi sono state condotte su prosciutti interi del peso di 9 kg, forniti dal Prosciuttificio San Paolo. Questa fase è stata raggiunta grazie alle analisi precedenti e permette di validare lo strumento per la possibile discriminazione di prosciutti infestati da *Piophilha casei*.

Per i risultati delle prove si rimanda alla relazione fornita dal ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA, dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari.

Utilizzo di robot aspirapolvere

L'obiettivo dello studio effettuato da MondoNovoElectronics, in relazione allo studio indicato in premessa, è stato quello di studiare la fattibilità per l'automazione di un processo di pulizia mediante l'uso di aspirapolvere industriale smart nel settore alimentare.

Lo studio di fattibilità relativo alle attrezzature per aspirazione si è concentrato secondo le seguenti fasi:

- prima fase relativa alle ricerche di mercato finalizzate all'individuazione di tipologie di dispositivi aventi caratteristiche distintive tali da differenziarli per caratteristiche tecniche, segmenti applicativi e prezzo;
- seconda fase relativa allo studio delle caratteristiche tecniche e funzionali dei dispositivi selezionati nella fase uno
- terza fase relativa al test dei robot individuati presso le sale di stagionatura

Dalla ricerca condotta sono stati scelti per la fase due i seguenti dispositivi:

- Robot aspiratore da pavimento Ecovacs X1 Omni
- Robot aspiratore da pavimento Makita drc300z
- Spazzatrice autonoma da pavimento Kemaro k900

Nell'ambiente di test caratterizzato da umidità ed elevata presenza di grasso animale dovuto alla stagionatura, tutti i dispositivi hanno rilevato la necessità di essere sottoposti a manutenzione frequente. Il grasso, infatti, data la sua natura, agisce sul funzionamento del robot, bloccandolo e quindi il meccanismo e le spazzole del robot necessitano di pulizia frequente.

Due dei tre dispositivi, ovvero l'Ecovacs e il Makita hanno fornito risultati accettabili per compattezza e navigazione automatica (gestione mobile), stante anche la necessità di passare agilmente attraverso i supporti presenti nelle sale di stagionatura.

In tutte le principali sessioni di test effettuate, si è riscontrato un livello medio-alto di deposito di grassi sulla pavimentazione delle sale di stagionatura del Prosciuttificio San Paolo.

Entrambi i Robot aspiratori sono riusciti a migliorare lo standard di pulizia e a ridurre considerevolmente la presenza, sui pavimenti, delle larve di *Piophilidae casei*.

Per i risultati e la relazione completa, si rimanda alla relazione fornita dal partner Mondonovo Electronics.

Data 22/04/2024

IL LEGALE RAPPRESENTANTE

.....



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

**CONTROLLO DI *PIOPHILA CASEI* (DIPTERA PIOPHILIDAE) NEI LOCALI DI
STAGIONATURA DEI PROSCIUTTIFICI PRESSO SALUMIFICIO S. PAOLO S.R.L.
(TRAVERSETOLO PR): MONITORAGGIO, USO DI *PACHYCREPOIDEUS VINDEMIAE*
E *MUSCIDIFURAX RAPTOR* COME AGENTI DI CONTROLLO BIOLOGICO E METODI
DIAGNOSTICI**

RELAZIONE FINALE

Responsabile: prof. Antonio Martini

Hanno contribuito:

Dott.ssa Diletta Missere

Dott. Riccardo Girodo

Dott.ssa Sonia Blasioli

Prof.ssa Ilaria Braschi

Prof. Giovanni Burgio

Prof. Antonio Martini



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

1. *Piophilidae casei*

Ordine	Diptera
Sottordine	Brachycera
Famiglia	Piophilidae
Sottofamiglia	Piophilinae
Genere	<i>Piophilidae</i>



Figura 1. Adulto di *P. casei*. (foto F. Santi).

La famiglia Piophilidae comprende 35 generi ripartiti in 70 specie. Tra queste *P. casei* è una delle più importanti in termini economici (Scholl *et al.*, 2019). È una specie cosmopolita, endofila, associata all'uomo in tutto il mondo e oggetto di numerosi studi per il suo interesse economico e medico. *P. casei* può causare gravi danni nell'industria alimentare a causa della sua attrazione nei confronti di substrati proteici come carne e prodotti caseari (Domenichini, 1997). I piofilidi sono spesso saprofagi su sostanze di origine animale, ricche di proteine o sui funghi (Pagani *et al.*, 2010). L'associazione frequente con prodotti lattiero-caseari ha conferito a *P. casei* il nome comune di “mosca del formaggio”. Inoltre, questo dittero è di rilevante interesse medico in quanto la sua attrazione per la sostanza organica in decomposizione, lo rende un indicatore forense in medicina legale (Bucheli *et al.*, 2009).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

1.1 Descrizione morfologica di *P. casei*

Piophilila casei (fig. 2) è un dittero di piccole dimensioni, è solitamente grande la metà di *M. domestica*. Il maschio adulto misura 4,4–4,5 mm dalla sommità del capo alla punta delle ali, mentre la femmina è leggermente più grande, misurando 5,0–5,2 mm (Triplehorn e Johnson, 2005). Il capo è di colore nero con sfumature bronzee; la zona tra la base delle antenne e il triangolo ocellare è caratterizzata da colore giallo, come anche le gene, le antenne e gli elementi boccali. Per entrambi i sessi, gli occhi composti sono di colore bruno-rossastro. Le antenne sono di tipo aristato. I palpi e la proboscide sono ricoperti di setole. Anche il torace, di colore nero iridescente, è cosparso da lunghe setole disposte in file. Tipica dell'addome è una pubescenza nera che conferisce un aspetto oblungo all'intera sezione addominale (Mote, 1914). L'ovopositore ha una struttura telescopica costituita da tre sezioni di colore ialino; è percorso da delle strutture lineari sclerificate che ne conferiscono maggiore rinforzo; queste strutture terminano nell'ultimo segmento come peli sparsi che hanno funzione sensoriale (Perez, 1927). Le zampe sono per la maggior parte della superficie di colore nero, ad eccezione della base dei femori, delle coxe e dei tarsi che sono di colore giallo-marrone. Anch'esse presentano pubescenza e sono ricoperte di corte spine. Le ali sono iridescenti e ialine, hanno una lunghezza di 2,5-4,0 mm e, quando sono a riposo, si sovrappongono leggermente. I bilancieri (ali metatoraciche) sono tipicamente di colore giallo pallido (Mote, 1914).



Figura 2. Adulto di *P. casei*, vista dorsale (a) e vista laterale (b) (fonte: Lewis e Kaufman, (2018).

Le uova sono lunghe 0,63-0,74 mm e larghe 0,18-0,2 mm; il corion è di colore bianco perlaceo e liscio (Liu e Greenberg, 1989). *P. casei* è caratterizzata da tre stadi larvali (Sakharov, 1921; Wtllle, 1921). Le larve hanno forma allungata e conica, più larghe all'estremità posteriore rispetto all'estremità anteriore (fig 3). Sono costituite da 13 segmenti e nell'ultimo stadio (terza età) raggiungono tipicamente una lunghezza di 9-10 mm e circa 1 mm di larghezza. Tipicamente



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

presentano colore bianco-giallastro, ad eccezione dell'apparato boccale che risulta scuro tendente al nero. Questa è una struttura sclerificata di foggia particolare, in quanto, caratterizzata dalla presenza di elementi mandibolari ad uncino rivolti verso il basso. (Mote, 1914). Questa struttura (scheletro cefalo faringeo) è utilizzata nelle tecniche di identificazione dello stadio di età della larva.



Figura 3. Larve di *P. casei* su prosciutto (foto F. Santi).

I pupari di *P. casei* (fig. 4) hanno dimensioni molto variabili da 2,9 a 5 mm di lunghezza e 1,5-1,7 mm di larghezza, e hanno forma ovale (Liu e Greenberg, 1989). Il colore è in genere marrone-rosso scuro. Le estremità del pupario sono caratterizzate da strutture sporgenti che ne conferiscono una morfologia irregolare. Sono chiaramente osservabili le linee che delineano superficialmente le restrizioni tra i segmenti, che in precedenza costituivano la cuticola della larva al terzo stadio (Bachmann, 1918).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI



Figura 4. Pupario di *P. casei* (foto: R. Girodo).

1.2 Ciclo biologico e comportamento

Il ciclo di vita completo di *P. casei*, come riportato da Mote, (1914), è il seguente: da 23 a 54 ore per la schiusa dell'uovo, circa 14 giorni per completare gli stadi larvali, circa 12 giorni per lo stadio pupale e una durata di 3-7 giorni per lo stadio adulto. Gli adulti quando sono intenti a ricercare cibo o durante l'atto di accoppiamento, eseguono movimenti e voli molto nervosi e rapidi, quando invece sono in un momento di riposo, è facile trovarli adagiati sulle superfici verticali e quando riprendono il volo o corrono hanno un portamento abbastanza lento e rilassato, che ne consente quindi facile manipolazione durante le pratiche di laboratorio. Una volta emersa dal pupario (fig. 5), la femmina, è immediatamente pronta per l'accoppiamento (Perez, 1927).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI



Figura 5. Fase di sfarfallamento di *P. casei* (foto: R. Girodo).

Sebbene l'alimentazione a base proteica aumenti la fecondità dell'insetto, in condizioni di laboratorio è stato riscontrato che le femmine di *P. casei* hanno la capacità di deporre uova anche senza essersi alimentate (Zuzka, 1978). Le femmine, pronte a ovideporre, sono attratte dai substrati alimentari già infestati, percependo gli odori emessi dall'azione trofica delle larve che su di essi operano degradazione; questo comporta un sempre crescente aumento del grado di infestazione del prodotto. Per ricercare la parte di substrato più adatto alla deposizione delle uova, le femmine inarcano l'addome, facendo strusciare sulla superficie del prodotto i peli tattili presenti sull'estremità dell'ovopositore. Il processo di ovideposizione viene eseguito ad intervalli regolari ogni 3-4 s e le uova possono essere depositate singolarmente o a gruppi. La vita riproduttiva va da 4 a 10 giorni e un esemplare può deporre in media 250 uova (Perez, 1927). Le larve di *P. casei* sono attive immediatamente dopo la schiusa delle uova e cercano subito di penetrare all'interno del substrato. Infatti, sono caratterizzate da forte fototropismo negativo. In queste si osserva comportamento gregario, è facile trovare punti del prodotto infestato con un'elevata concentrazione di individui (fig. 6). Infatti, le larve, sfruttano il meccanismo di alimentazione di gruppo per modificare la consistenza del substrato e quindi permettendo una più facile penetrazione all'interno della matrice del prodotto. Questo avviene sia meccanicamente, grazie all'azione all'apparato



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

boccale, che grazie all'emissione di enzimi litici (proteolitici e lipolitici). L'azione enzimatica rende la pasta dei formaggi più molle e lassa e la matrice della carne più morbida (Mazzette *et al.*, 2010). Il progresso dell'infestazione risulta più rapido se i substrati sono freschi e quindi morbidi. Di contro le parti di carne e formaggio più stagionate e secche, quindi più compatte, sembrano essere immuni all'azione trofica dell'insetto.



Figura 6. Alimentazione in massa di larve di *P. casei* (foto R. Girodo).

In particolare, in prosciutto crudo, i punti di penetrazione delle larve del dittero si riscontrano in corrispondenza delle zone dove l'osso fuoriesce dalla coscia (fig. 7). In fattispecie in corrispondenza della “noce”, cioè l'area che contorna il femore e nel “gambetto” in corrispondenza della parte terminale di tibia e perone (stinco). In questi punti le larve trovano facile via d'accesso inquanto i tessuti muscolari e quelli connettivi presentano lieve separazione dall'osso. Altre vie d'accesso si verificano in corrispondenza dei fori che vengono praticati dagli operatori per il controllo del grado di stagionatura.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

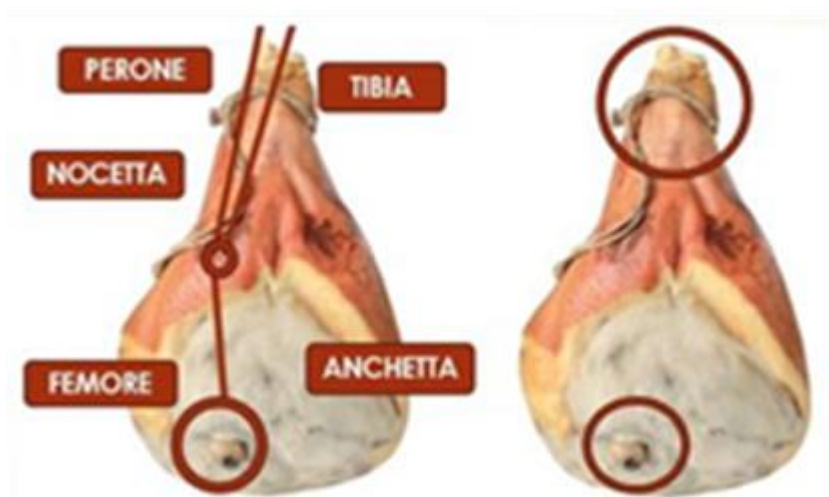


Figura 7. Punti di penetrazione delle larve di *P. casei*.

In caso di infestazioni particolarmente severe, le larve possono raggiungere e insediare la parte centrale della coscia. Questo comportamento è molto diverso da altri tipici parassiti del prosciutto come *Necrobia rufipes* (Coleoptera Cleridae) e *Dermestes lardarius* (Coleoptera Dermestidae); insetti che attaccano il salume solo superficialmente. Le parti del prosciutto più attaccate dalle larve risultano essere quelle magre (fig. 8), a differenza dei tessuti grassi che non risultano essere attraenti, tant'è che in corrispondenza della superficie di queste parti non si riscontra ovideposizione. Talvolta, ad un esame visivo esterno della coscia, potrebbe non risultare evidente nessun segno di infestazione. I prosciutti poco infestati o nei primi stadi dell'infestazione non emettono odori anomali, ma nel caso di infestazioni severe è possibile percepire un forte odore ammuffito e acido, quindi lo stato di degradazione del prodotto non è solitamente percepibile fino a che l'infestazione non è piuttosto avanzata (Perez, 1927).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

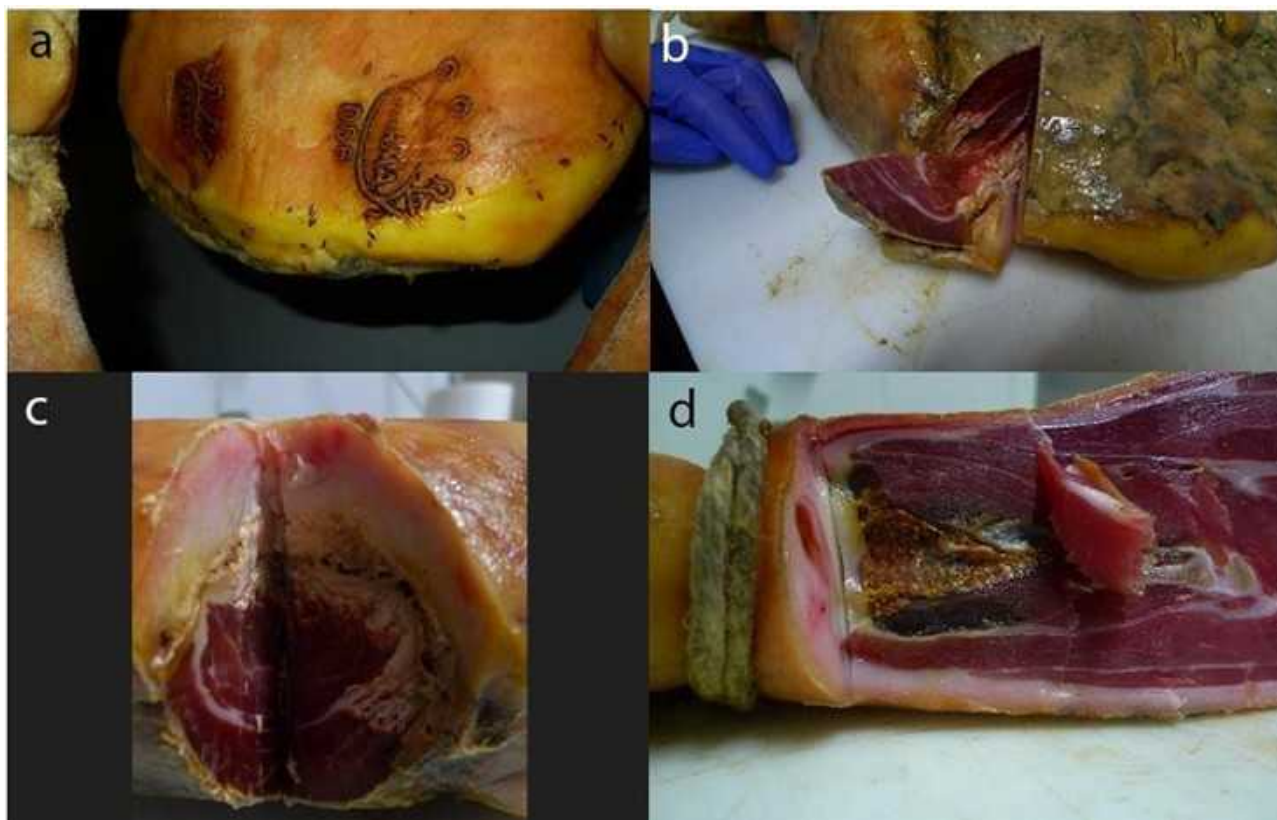


Figura 8. Pupari su superficie esterna di prosciutto (a), sezione di prosciutto con grave livello di infestazione (b,c) e punto di accesso delle larve (stinco) (d) (foto: R. Girodo).

Nella terminologia anglofona, *P. casei* è conosciuta con il nome comune di “cheese skipper” o “ham skipper”. Questi appellativi derivano dalla peculiare capacità delle larve di compiere notevoli balzi; ripiegandosi ad anello, afferrano con gli uncini boccali l’estremità caudale; si trattengono in questa posizione tendendo i muscoli e, rilasciando all’improvviso la presa, generano uno scatto come una molla che provoca il balzo. Questi salti possono raggiungere anche i 25 cm di lunghezza e 15 cm di altezza (Perez, 1927). La larva, al completamento dell’ultimo stadio e una volta che è ben nutrita, per compiere la fase di impupamento, inizia a farsi strada nel substrato per raggiungerne la superficie esterna. Qui si lascia cadere al suolo e va in cerca di un luogo il più possibile asciutto e buio; a questo scopo le pavimentazioni dei prosciuttifici sono ideali. A questo punto si dirige ai bordi dei muri o in luoghi nascosti come alla base delle rastrelliere di stagionatura (fig. 9) (Liu e Greenberg, 1989).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI



Figura 9. Pupari di *P. casei* sulla pavimentazione di una stanza di stagionatura (foto: R. Girodo).

Gli alimenti inclusi nella lista di quelli infestati da *P. casei* sono: prodotti caseari; prodotti carnei, come pancetta, prosciutto, carne putrescente, carne affumicata e salata; prodotti ittici; prodotti industriali alimentari di scarto come zoccoli, corna, ossa e pelli; ma anche funghi, feci e cadaveri. (Perez, 1927). *P. casei* viene utilizzata per produrre il tipico formaggio sardo *casu marzu*, letteralmente “formaggio marcio”. Prodotti simili appartengono anche ad altre realtà tradizionali in Italia, come il cacio marcatto (Abruzzo), il salterello (Friuli), il furmais nis (Emilia-Romagna). Questi prodotti caseari sono il risultato dell’azione delle larve del dittero che, nel corso della colonizzazione del formaggio, ne modificano il gusto e la consistenza rendendolo “piccante” e morbido. Questo fenomeno è dato dalla fermentazione del formaggio operata dall’azione digestiva e degli enzimi prodotti dalle larve che modificano la struttura dei lipidi e delle proteine. Secondo quanto previsto dalle disposizioni dalla legge 283/1962 articolo 5, in base al pacchetto igiene e ai regolamenti dell’Unione Europea CE 852, 853, 882 del 2004 e 2073 del 2005, per questi prodotti è considerata illegale sia la produzione che la vendita. Questo sia per via della funzione di *P. casei* come vettore di spore del batterio *Clostridium botulinum*, sia in quanto i fenomeni proteolitici innescati dalle larve con il formaggio, possono produrre metaboliti dannosi come le ammine biogene. Ma soprattutto la pericolosità di questi prodotti deriva dall’ingestione delle larve vive.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

Queste, se ingerite accidentalmente, possono causare pseudomiasi e miasi, in particolare rinomiasi, miasi gastro-intestinali e uro-genitali (Mazzette *et al.*, 2010). Le larve mostrano resistenza all'azione dei succhi gastrici e, di conseguenza, agli enzimi digestivi. Possono così attraversare indenni lo stomaco e insediarsi nell'intestino, irritando le pareti intestinali e rimanendo nel tubo digerente del soggetto colpito per un periodo considerevole. Possono inoltre, perforare i tessuti in questione provocando sintomi come: nausea, vomito, dolori addominali, diarrea, talvolta anche sanguinamenti (Nocera e Crotti, 2009).

2 Metodi di monitoraggio, diagnostica e lotta biologica

È essenziale, nell'ambito di una strategia di lotta integrata, effettuare un sistema di monitoraggio efficiente, in grado di fornire informazioni dettagliate sulle specie presenti, sui focolai di infestazione e sulle possibili vie di contaminazione dei reparti produttivi. Questa fase rappresenta il punto di partenza per sviluppare una razionale strategia di prevenzione, lotta e valutazione nel tempo dei risultati ottenuti. Inoltre, il monitoraggio è una pratica prevista nei programmi di autocontrollo dei rischi definiti dal sistema HACCP. Il monitoraggio può essere condotto attraverso due modalità principali: l'ispezione visiva e l'analisi delle tracce nonché con l'utilizzo di trappole. La prima consente di rilevare la presenza sia diretta che indiretta degli insetti (Pagani *et al.*, 2010). L'esame visivo, innanzi tutto, deve tenere conto del fatto che i punti di annidamento sono generalmente aree ben protette e buie, risultando difficilmente individuabili. È cruciale concentrare l'attenzione sulla presenza di diversi stadi di sviluppo degli insetti (uovo, larva, pupa, adulto). Inoltre, è importante osservare i segni dei prodotti dell'attività trofica, come bave sericee, agglomerati di detriti, escrementi; nonché di esuvie. Altresì, è fondamentale identificare le tracce del passaggio su superfici impolverate, nonché la presenza su superfici piastrellate, quadri elettrici e lavelli. Tutte queste valutazioni consentono di verificare lo "stato sanitario" di un reparto, sia prima che dopo interventi preventivi o di lotta (Süss *et al.* 1999). Il monitoraggio tramite l'utilizzo di trappole rappresenta il metodo più comunemente impiegato per avere un'istantanea della situazione e monitorare in tempo reale la presenza degli infestanti in un'industria. Questo approccio si basa sull'applicazione di trappole in zone specifiche dei reparti di lavorazione e di stoccaggio, scegliendo la tipologia più adatta alle diverse situazioni. Per i ditteri risultano efficaci: trappole luminose, utili per specie a fototropismo positivo; trappole cromoattrattive, utili per insetti a tassi positiva e trappole ad attrattivi alimentari (Pagani *et al.*, 2010). Per una corretta scelta e impiego di una



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

trappola, occorre considerare molte variabili, innanzi tutto tenendo conto della derrata conservata e delle relative specie infestanti potenzialmente presenti, ma anche delle caratteristiche degli ambienti (ad es. un ambiente polveroso in cui una trappola collata può risultare inefficace) (Süss, 2003). Per una corretta applicazione, è essenziale condurre il monitoraggio per diversi anni, poiché l'andamento delle catture nel tempo deve consentire di stabilire valori "soglia" o "limiti di tolleranza" per un determinato ambiente o zona del reparto. Tali valori rappresentano il punto al di sotto del quale non si verifica un danno rilevabile o economicamente sensibile. Occorre definire la soglia di catture massima accettabile per ciascuna fase del ciclo produttivo, tenendo conto della possibilità che questo valore possa variare durante l'anno. Inoltre, l'obiettivo finale è raggiungere l'assenza di infestanti nei reparti con prodotti pronti destinati al consumo (Süss, 2001). Di fondamentale importanza risultano le operazioni di prevenzione, atte a evitare che l'adulto possa entrare all'interno degli ambienti. A tal proposito possono essere installate barriere fisiche quali reti metalliche costituite da almeno dieci maglie per cm² nei punti di apertura verso l'esterno. La corretta valutazione della qualità igienico-sanitaria degli alimenti e la rilevazione di possibili inquinanti, che comprendono entità biologiche e impurità solide, rappresentano aspetti fondamentali per le aziende agro-alimentari e per la commercializzazione dei loro prodotti (Wojnowski *et al.*, 2017). Diversi metodi di diagnostica possono essere impiegati utilizzando tecniche diverse in base alla tipologia di campione sottoposto ad analisi. Pertanto, le applicazioni di tali metodi possono risultare più o meno utili a seconda dell'informazione che si vuole ottenere. Si parte dalle diagnosi macroscopiche, basate sull'esame visivo diretto e la valutazione di specifici caratteri biologici e morfologici dell'inquinante, fino ai metodi di microanalisi come i filth-test, e alle moderne analisi di identificazione molecolare come il DNA barcoding e il metabarcoding tramite la tecnologia di "next generation sequencing" ("NGS") (Mazzoni e Aldini, 2020). Oltre ai metodi tradizionali, un importante mezzo di diagnosi è sicuramente il naso elettronico (fig. 10). Questo è in uso in molti settori, quali: applicazioni industriali, il controllo ambientale e della qualità dell'aria, della produzione industriale, in medicina ma soprattutto nell'industria alimentare (Loutfi *et al.*, 2015). Tale strumento offre la possibilità di valutare la qualità dei prodotti in modo non distruttivo, in modo semplice, grazie al suo facile utilizzo e, soprattutto, fornendo valutazioni rapide rispetto ai metodi convenzionali, che richiedono molte ore di analisi di laboratorio (Peris e Escuder-Gilabert, 2016). Può essere utilizzato in qualsiasi fase della filiera, dalle lavorazioni fino alla distribuzione (Mohd Ali *et al.*, 2020). Questa tecnica si è sviluppata rapidamente nell'ultima decade, in



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

particolare grazie allo sviluppo delle tecnologie dei sensori e degli elementi microelettromeccanici (Gliszczyńska-Świgło e Chmielewski, 2017). Ad oggi, i nasi elettronici, nell'ambito agroalimentare, sono stati utilizzati in molti modi, tra cui: valutazione della qualità degli alimenti, identificazione dell'origine geografica, monitoraggio degli inquinanti, valutazione della freschezza, indagini sulla durata di conservazione, controlli sull'autenticità dei prodotti alimentari e applicazioni per la sicurezza alimentare (Jia *et al.*, 2018).



Figura 10. Componenti del naso elettronico (foto: R. Girodo).

Il naso elettronico è un sistema olfattivo bionico artificiale (SOA), costituito da diverse unità che svolgono compiti specifici: trasmissione e campionamento del gas, rilevamento e preelaborazione del segnale, riconoscimento ed espressione degli odori. Un composto volatile target, una volta entrato in contatto con gli elementi sensibili dei chemosensori, presenti nello strumento, interagisce con questi producendo stimoli elettrici che sono trasformati in un segnale elettrico (Deshmukh *et al.*, 2015). L'unità di preelaborazione esegue una serie di elaborazioni sul segnale elettrico ricevuto, come la riduzione del rumore, l'estrazione delle caratteristiche, l'amplificazione del segnale per infine scegliere un appropriato algoritmo per l'analisi dei dati processati (fig. 11).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

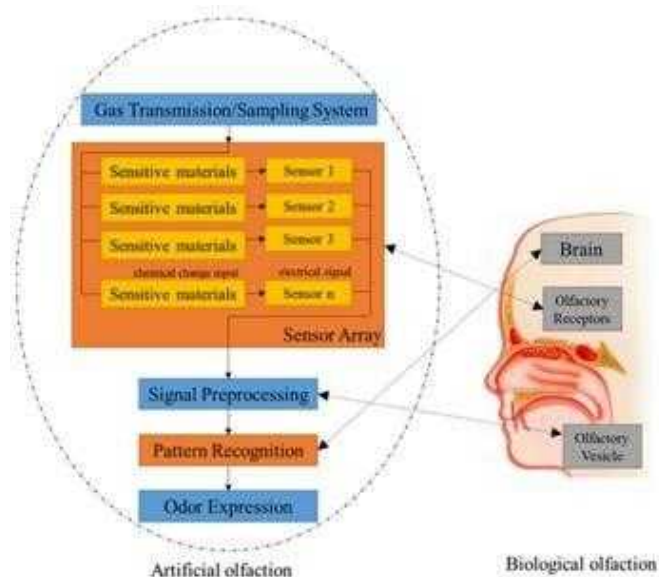


Figura 11. Illustrazione schematica del sistema olfattivo umano e dell'olfatto artificiale di un naso elettronico. Fonte: Jia et al. (2018).

Teoricamente, gas diversi possono presentare spettri di risposta caratteristici durante la reazione con i materiali costituenti i sensori e tali spettri permettono di distinguere i composti volatili. Sulla base di questo processo è possibile ottenere un'analisi qualitativa del gas target. Inoltre grazie alla serie di sensori che possiedono risposte specifiche per famiglie di molecole, è possibile ottenere il rilevamento simultaneo di una varietà di gas diversi (Loutfi *et al.*, 2015). La seconda fase è l'elaborazione del riconoscimento degli odori per effettuare l'elaborazione grafica dei risultati. Attualmente, gli algoritmi comunemente utilizzati sono classificati come algoritmi di riconoscimento di modelli lineari e non lineari, e sono: analisi delle componenti principali (PCA), analisi discriminante lineare (LDA), la regressione parziale dei minimi quadrati (PLS), rete neurale artificiale di backpropagation (BP-ANN) e la macchina vettoriale di supporto (Jia et al., 2018). Attraverso un processo di addestramento, il sistema del SOA apprende le caratteristiche dell'odore da misurare e prevede le proprietà dei campioni applicando un modello di relazione caratteristica stabilito (Jia et al., 2019).

La quantità di composti volatili organici (VOC) presenti negli alimenti è estremamente bassa (10-15 mg/kg), ma il numero totale di tali composti può essere molto elevato (>500), soprattutto in alimenti che hanno subito un trattamento termico (es. tostatura del caffè) o un processo fermentativo (es. birra, vino). Per quanto riguarda le valutazioni dell'intensità degli odori, per gli esseri viventi, esiste un valore soglia di concentrazione al di sotto del quale l'odore non è rilevato e



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

un valore di saturazione oltre al quale la curva di percezione raggiunge un plateau (Gardner e Bartlett, 1999).

La differenza nelle caratteristiche degli aromi può essere correlata alle differenti concentrazioni degli stessi composti costitutivi. La soglia minima limite di concentrazione percepibile delle sostanze in fase gas dipende dalla pressione di vapore, a sua volta correlata sia alla temperatura che al mezzo in cui essa si trova. Un ulteriore fattore che influisce sul profilo di rilevamento dell'odore è la competizione tra le varie sostanze aromatiche che interagiscono sui siti recettoriali. Può accadere che una sostanza presente solo in tracce caratterizzi nettamente l'odore e l'aroma di un prodotto, perché possiede maggiori affinità con il sito recettore stesso. Un esempio è il tipico odore di uova marce, percepito anche a bassissime concentrazioni per via dei derivati solforati che lo caratterizzano (Suman *et al.*, 2002). La ricerca si è occupata della possibilità di sviluppare un metodo di diagnostica efficace per la discriminazione di prosciutti sani da quelli infestati da *P. casei*, in base al riconoscimento dei VOC che possono svilupparsi dall'interazione dell'azione trofica del dittero con il prosciutto.

Negli ultimi decenni, si è registrato un crescente interesse verso l'applicazione di metodi di lotta biologica e, più in generale, verso approcci alternativi al controllo chimico per gestire il contenimento degli animali infestanti nelle industrie alimentari. Tale interesse è correlato a diversi aspetti, tra cui la limitazione delle molecole attive consentite, l'aumento dei fenomeni di resistenza, la necessità di introdurre sul mercato prodotti destinati al consumo privi di residui tossici, la protezione e tutela degli operatori oltre che la salvaguardia dell'ambiente. Gli ambienti delle industrie alimentari hanno caratteristiche diverse dal pieno campo, caratterizzate spesso da condizioni termo-igrometriche costanti, disponibilità pressoché illimitata di pabulum e soprattutto caratteristiche strutturali che creano microambienti in grado di proteggere gli stessi infestanti dall'azione di molti insetticidi. I metodi di lotta biologica si basano sull'impiego di diversi agenti biotici di controllo quali: batteri, funghi, nematodi, acari, e insetti (Mazzoni e Aldini, 2020).

3 SCOPO DEL PROGETTO

Lo scopo di questo progetto è il controllo dell'infestazione provocata da *P. casei* all'interno dei locali di conservazione e stagionatura di prosciutto crudo. Gli obiettivi hanno riguardato lo studio delle dinamiche di popolazione del dittero grazie all'applicazione delle pratiche di monitoraggio; la valutazione dell'efficacia di *P. vindemiae* e *M. raptor* come parassitoidi della mosca per la loro



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

applicazione come metodo di lotta biologica all'interno degli ambienti dei salumifici; stimando per entrambi gli insetti: grado di parassitizzazione (DP), indice di successo di parassitizzazione (SP), tasso di emergenza (ER), durata di vita come adulto (LO) e sex ratio (SR). Inoltre, è stato condotto uno studio sulla possibilità di impiego nei salumifici del naso elettronico come strumento diagnostico, andando a valutare i composti volatili organici emessi da *P. casei* nei prosciutti, per la discriminazione dei salumi sani da quelli infestati.

4 PROVE SVOLTE

4.1 Ricerca e allevamento del parassitoide pupale.

L'allevamento del parassitoide pupale, inizialmente non identificato, è stato avviato a partire da individui prelevati dall'Orto "Filippo Re" della facoltà di Agraria, Università degli Studi di Bologna. Per la ricerca di tali individui sono state poste delle piastre Petri contenenti pupari esca di *Drosophila* sp. e di *Megaselia scalaris*.

Si è proceduto ad un giornaliero controllo dei pupari parassitizzati, sia di *Megaselia scalaris*, che di *Drosophila* sp., al fine di individuare i parassitoidi sfarfallati. Una volta ottenuti i parassitoidi questi sono stati mantenuti in allevamento mediante il giornaliero fornimento di pupari di *Megaselia scalaris* e di *Piophil casei* da parassitizzare, ottenendo così numerose generazioni. All'interno delle teche di allevamento sono stati posti dispenser d'acqua e di miele.

4.1.2 Identificazione del parassitoide

L'identificazione morfologica del parassitoide è stata effettuata utilizzando le chiavi dicotomiche proposte da Boucek e Rasplus (1991), relativa ai principali caratteri dei generi della famiglia Pteromalidae.

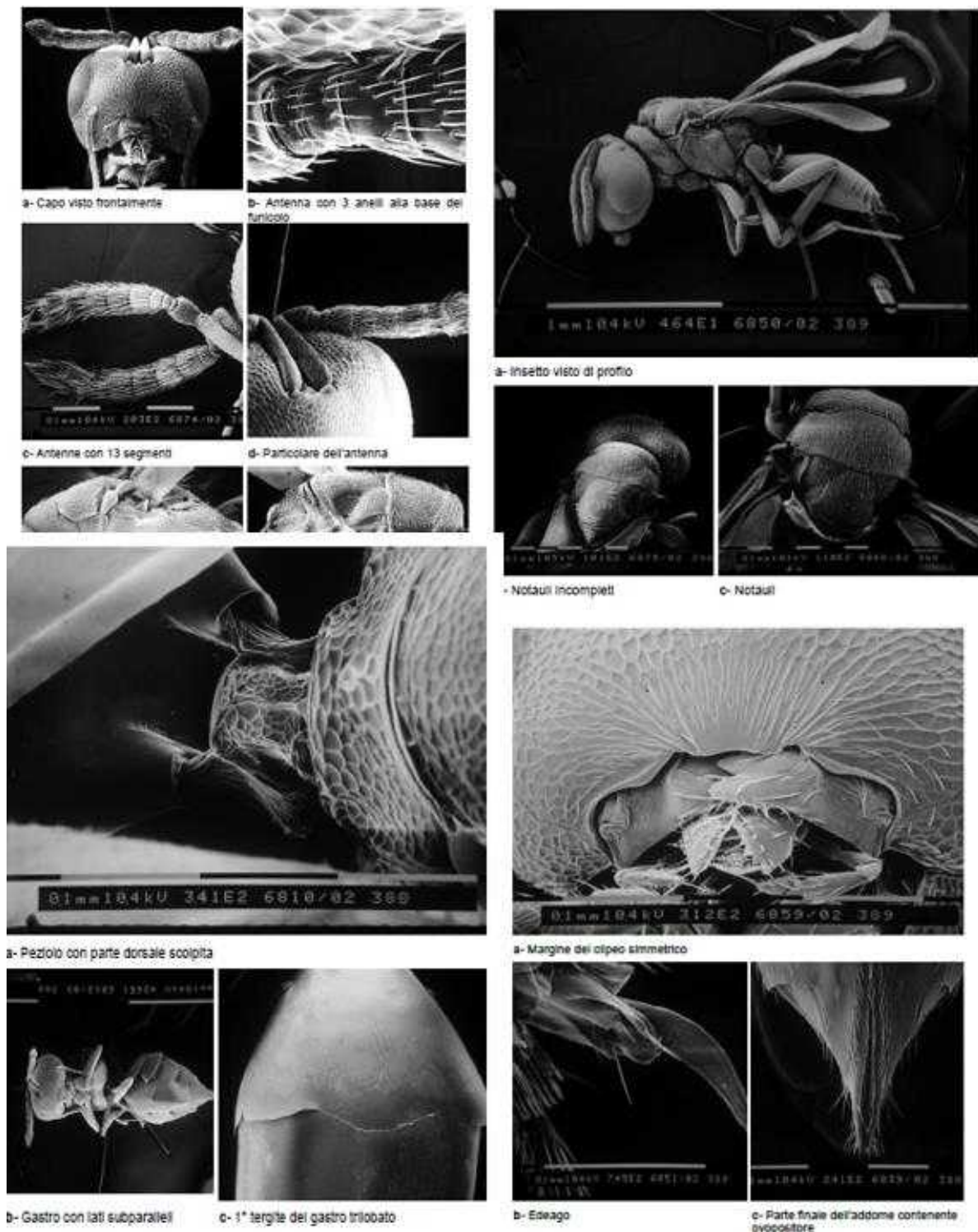
Per meglio visualizzare le caratteristiche necessarie al riconoscimento sono state fatte, inoltre, delle foto ad alta risoluzione di particolari morfologici di alcuni esemplari del parassitoide, avvalendosi di un microscopio elettronico a scansione (Philips 515). Per questo tipo di analisi i campioni sono stati conservati in etanolo 95°, poi trasferiti in etanolo assoluto (100°) per 24 ore, in cloroformio per 30 minuti ed infine montati su supporto per essere metallizzati con oro e osservati a 15 kW.

Grazie all'utilizzo delle chiavi dicotomiche, mediante l'ausilio di immagini degli elementi oggetto d'analisi ottenute al microscopio ottico così come al microscopio elettronico a scansione, il



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

parassitoide in esame è risultato essere *Pachycrepoideus vindemiae*. *P. vindemiae* appartiene alla famiglia Pteromalidae, sottofamiglia Sphegigasterinae, e alla tribù Pachyneurini.





DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

Allevamento di *Piophilha casei*

Per l'allevamento di *P. casei* sono state utilizzate teche di dimensioni 32,5 x 32,5 x 32,5 cm, composte di rete fine 650 μ m mesh, materiale che permette gli scambi gassosi ma non la fuoriuscita degli insetti, e presentano un'apertura a manicotto che permette le operazioni al loro interno evitando la completa apertura. In ogni teca sono state poste circa quattro capsule Petri di plastica (5 cm x 3,5 cm Ø), contenenti ognuna la dieta artificiale specifica per *P. casei* (fig. 12). La dieta è stata posta solo in una metà della capsula, al fine di poter ricreare un ambiente asciutto e facilitare le operazioni di prelievo dei pupari.

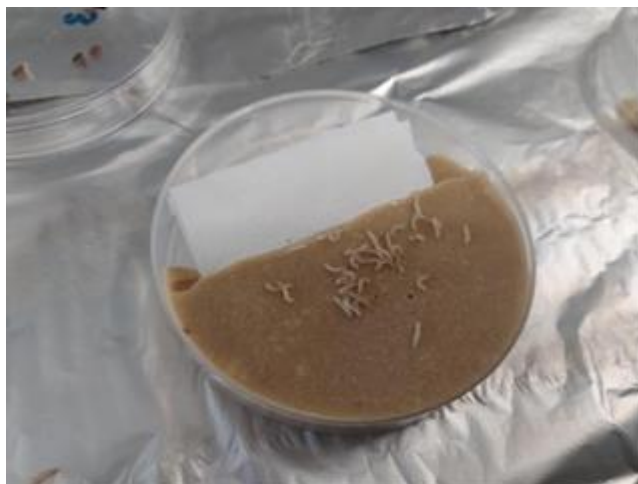


Figura 12. Capsula Petri contenente dieta e larve di *P. casei* (foto: R. Girodo).

Per la realizzazione della dieta artificiale è stato preso come riferimento il lavoro di Sacchi *et al.*, (1971), che propone un'alimentazione con la seguente composizione:

Acqua	1000 ml
Latte in polvere	80 g
Lievito	50 g
Agar	20 g
Nipagina\alcol	1/10 g\ml



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

Sono stati miscelati il latte in polvere, il lievito e l'agar, ai quali è stata aggiunta lentamente l'acqua. In seguito al raggiungimento del punto di ebollizione, la miscela è stata lasciata sobbollire per 30 minuti. Successivamente è stata aggiunta la nipagina, agente antifungino e antimicrobico, sciolta in alcol etilico 95°. Il composto ottenuto è stato dunque versato nelle piastre Petri. Per poter essere conservati per lungo tempo parte dei contenitori è stata congelata, per poi essere utilizzata nel momento opportuno durante l'allevamento. Queste sono state inserite a gruppi di 4-5 all'interno della teca di allevamento (fig. 13) e sostituite ogni 2 giorni. Tale operazione ha lo scopo di permettere l'alimentazione degli adulti e l'ovideposizione delle femmine. Le piastre contenenti le uova di *P. casei*, una volta rimosse sono state mantenute in termostato a $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$, 50-65% UR e fotoperiodo di 16L:8B. dopo circa 15 giorni. Facendo riferimento ai tempi di sviluppo di *P. casei* osservati nel lavoro condotto da (Missere *et al.*, 2023) , si è provveduto alla rimozione dei pupari del dittero ottenuti nelle sopracitate piastre. I pupari raccolti sono stati poi inseriti in parte nelle teche di allevamento dei parassitoidi e in parte nelle teche di allevamento del dittero.



Figura 13. Teche di allevamento di *P. casei* e *P. vindemiae* (foto: R. Girodo).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

4.2 Allevamento di *Pachycrepoideus vindemiae*

Ordine Hymenoptera
Sottordine Apocrita
Superfamiglia Chalcidoidea
Famiglia Pteromalidae
Sottofamiglia Pteromalinae
Genere *Pachycrepoideus*

Pachycrepoideus vindemiae (fig. 14) è un ectoparassitoide idiobionte solitario e generalista dei ditteri. Data quest'ultima caratteristica lo si ritrova associato ai suoi ospiti, distribuito in più di 60 paesi nel mondo. Diverse specie appartenenti a questa famiglia sono importanti agenti di controllo biologico di insetti nocivi. (Meyer *et al.*, 1990). Può parassitizzare un gran numero di ditteri appartenenti alle famiglie: Anthomyiidae, Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae, Tachinidae e Tephritidae (Marchiori e Barbaresco, 2007).



Figura 14. Adulto di *P. vindemiae* (foto: R. Girodo).

In letteratura sono segnalati casi di iperparassitismo su altri parassitoidi di ditteri e imenotteri, superparassitismo e multiparassitoidismo. *P. vindemiae* è uno dei parassitoidi più utilizzati per il controllo biologico di *Musca domestica* e *Stomoxys calcitrans*, specie nocive presenti soprattutto in allevamenti di bestiame e avicoli (Tormos *et al.*, 2009). Al momento dell'ovoposizione *P. vindemiae* inietta veleno tossico con azione paralizzante nell'ospite, la sostanza ha effetto anche sui



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

concorrenti di altre specie di parassitoidi presenti nel pupario (Vinson, 1990). La durata della vita da adulto di *P. vindemiae* ottenuto da *P. casei* è di 21-23 giorni (Missere *et al.*, 2023). Il tempo di sviluppo e le dimensioni della prole variano in base alle dimensioni delle specie ospiti, in ospiti più piccoli generalmente si sviluppano adulti di *P. vindemiae* più piccoli (Wang e Messing, 2004).



Figura 15. Sfarfallamento di *P. vindemiae* da pupario di *P. casei* (foto: R. Girodo).

Per l'allevamento di *P. vindemiae* sono state utilizzate teche di rete fine 650 μ m mesh di dimensione 40 x 40 x 40 cm. L'alimentazione degli adulti è stata eseguita inserendo dispenser di acqua e zucchero (zucchero al 20%) e gocce di miele poste su pezzi di carta oleata. Ai parassitoidi sono state fornite ogni 2 giorni piastre contenenti pupe di *P. casei* in numero variabile in base alla disponibilità di allevamento. L'età delle pupe era compresa tra i 3 e i 5 giorni. L'età dell'ospite influisce sulla sopravvivenza del parassitoide, se la pupa ospite parassitizzata è troppo giovane può andare incontro più facilmente a degradazione intrappolando nei tessuti morti l'uovo o la larva di *P. vindemiae* (Wang e Messing, 2004). Ogni due giorni le pupe sono state rimosse e poste in termostato a condizioni standard. Questa operazione è stata eseguita per evitare il fenomeno di superparassitismo, che può verificarsi in condizioni di laboratorio, come segnalato da Shaw *et al.* (2021).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

4.3 Allevamento di *Muscidifurax raptor*

Ordine	Hymenoptera
Sottordine	Apocrita
Superfamiglia	Chalcidoidea
Famiglia	Pteromalidae
Sottofamiglia	Pteromalinae
Genere	<i>Muscidifurax</i>

L'allevamento di *Muscidifurax raptor* (fig. 16) è stato eseguito da Bioecology S.r.l.. Per evitare l'assuefazione del parassitoide a *P. casei*, è stato utilizzato come ospite secondario *M. domestica*. *M. raptor* è un ectoparassitoide idiobionte solitario e generalista di ditteri. Ha una distribuzione globale, ad eccezione dei poli, e la sua presenza è rilevabile vicino ad allevamenti e stabilimenti alimentari, zone in cui vi è la presenza degli ospiti tipici, come *Musca domestica* (Tucker, 2022). Rispetto ad altri parassitoidi predilige ambienti asciutti. Infatti, negli allevamenti si trova comunemente nella paglia e nel mangime per il bestiame (Smith e Rutz, 1991)



Figura 16. Adulto di *M. raptor*. (fonte: Tucker, 2022).

La durata media di vita dell'adulto è di 26 giorni ed è influenzata dalla temperatura. In particolare, da 15, 5°C a 32 °C la longevità diminuisce. La temperatura influenza anche il tasso riproduttivo che è massimo a 25°C (Lysyk, 2000).

L'adulto ha dimensioni che vanno da 1,7 a 2,5 mm e caratterizzati da una livrea completamente nera. (Tucker, 2022). Al momento dello sfarfallamento gli adulti sono immediatamente pronti all'accoppiamento e alla deposizione delle uova. La ricerca e selezione delle pupae avviene in quattro fasi distinte: ricerca dell'area dell'ospite, localizzazione della pupa ospite, percussione e perforazione. Questa sequenza ha una durata da 10 a 15 min (Morgan, 1981). Per verificare l'idoneità della pupa ospite, la femmina adulta di *M. raptor* colpisce il pupario con le antenne o



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

rilevando la presenza di feromoni marcatori di una precedente ovodeposizione. Se la pupa ospite è già stata parassitizzata o è morta, non avverrà l'ovodeposizione (Vinson, 1976). Una volta trovato un ospite adatto, la femmina, perfora con l'intera lunghezza dell'ovopositore il pupario pungendo la pupa dell'ospite. A questo punto il parassitoide si nutre di parte dell'emolinfa fluída dalla ferita e successivamente all'atto di nutrizione depone un singolo uovo all'interno del pupario (host feeding) (Ridgeway e Vinson, 1977).

4.4 Prove di laboratorio: controllo qualitativo di *Pachycrepoideus vindemiae* e *Muscidifurax raptor* su *Piophilidae casei*

4.5.1 Protocollo standard

Per entrambi i parassitoidi in esame, sono stati condotti test sulla prima e seconda generazione per valutare l'andamento delle loro prestazioni nelle generazioni successive. Lo scopo di tale analisi è la creazione di un protocollo per l'utilizzo dei parassitoidi in un piano di lotta biologica.

L'obiettivo è di comprendere l'andamento delle caratteristiche dei parassitoidi durante le generazioni successive, stabilire se sia opportuno effettuare lanci inondativi (basati unicamente sull'effetto dei parassitoidi rilasciati) o lanci inoculativi (che si affidano principalmente all'effetto delle generazioni successive all'interno della sala di stagionatura, con rilasci occasionali di nuovi parassitoidi) e determinare la frequenza ottimale dei lanci (in giorni) sulla base delle caratteristiche studiate.

Tutti i test sono stati condotti a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 50–60% UR e fotoperiodo 16 L:8 D. I test sono stati eseguiti utilizzando pupari di *P. casei* di 2-3 giorni per evitare la fase prepupa, che quando viene attaccata può portare alla morte della progenie del parassita (Wang e Messing 2004). Per tutti i test, sono state utilizzate femmine di *P. vindemiae* e *M. raptor* di età inferiore a 3 giorni. Le femmine di parassitoidi sono state tenute con i maschi per 24 ore dall'emersione dell'adulto. Infatti, le femmine di *M. raptor* e *P. vindemiae* sono immediatamente recettive all'accoppiamento all'emersione dal pupario dell'ospite (Crandell 1939, Tucker e Kaufman 2017). Ai parassitoidi sono stati forniti miele e acqua, poiché la deprivazione d'acqua potrebbe aumentare l'alimentazione dell'ospite (Bezerra Da Silva *et al.* 2019a).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

4.5.2 Grado di successo di parassitismo (SP), grado di parassitismo (DP), tasso di emergenza (ER): no-choice test

Per valutare la capacità di parassitismo di *P. vindemiae* e *M. raptor* su *P. casei*, sono stati condotti test "no-choice" (Mazzetto *et al.* 2016). In questi test, 10 pupari di *P. casei* sono stati inseriti in una capsula di plastica (altezza 2 cm, diametro 5,5 cm) con una femmina di ciascuno dei parassitoidi. Dopo 24 ore, la femmina è stata rimossa e ogni capsula è stata controllata quotidianamente per rilevare l'emersione di adulti parassitoidi o mosche. Per ciascuna specie di parassitoide, sono state effettuate almeno 10 repliche (a seconda della generazione), ciascuna composta da 10 pupari; lo stesso numero di repliche con 10 pupari di *P. casei*, senza parassitoide, è stato utilizzato come controllo, per verificare l'emersione della mosca. Sono stati valutati il numero di pupari parassitizzati con successo (ovvero i pupari da cui è emerso un adulto parassitoide) e il numero di pupari morti (ovvero i pupari da cui non è emerso né un parassitoide né un adulto di *P. casei*).

4.5.3 Sex-Ratio (SR)

Le vespe utilizzate nel test senza scelta non sono state esposte ad altre femmine perché l'odore di un'altra femmina potrebbe aumentare il rapporto tra i sessi della prole prodotta (Koul e Dhaliwal 2003). Le pupe utilizzate nel test erano di dimensioni simili, poiché le femmine tendono a depositare le uova che daranno origine a maschi in ospiti più piccoli e quelle che daranno origine a femmine in ospiti più grandi (Prevost 2009). Gli adulti parassitoidi appena emersi dal test senza scelta sono stati raccolti giornalmente, contati e identificati per sesso.

4.5.4 Tempo di vita (LS)

Il tempo di vita dei parassitoidi è stato diviso in 2 fasi: il tempo di sviluppo (DT) tra la schiusa dell'uovo e lo sfarfallamento dell'adulto e il periodo di vita adulta, chiamato longevità (LO) (Blackburn 1991). Pertanto, gli adulti di *P. vindemiae* e *M. raptor* appena emersi dal test senza scelta sono stati posti singolarmente in una fiala di plastica (altezza 10 cm, diametro 2 cm) chiusa con un tappo a rete. Le vespe sono state nutrite quotidianamente con gocce di miele mescolate con acqua applicate sulla rete del tappo. Sono stati registrati la data della "finestra parassitaria", il periodo di tempo in cui la pupa ospite è disponibile per i parassitoidi (Blackburn 1991), e la data di



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

sfarfallamento di ciascun parassitoide per calcolare il DT. Le fiale con le vespe sono state controllate ogni giorno per registrare la data di morte, necessaria per determinare la longevità.

4.5.5 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il software IBM SPSS Statistics (IBM Corp. 2019) (ver. 26). Sono stati utilizzati 2 indici che riassumono le interazioni ospite-parassitoide (descritti da Biondi *et al.* 2021). Per stimare l'impatto della specie ospite sullo sviluppo della prole del parassitoide, è stato utilizzato l'SP (Successo di Parassitismo). Questo indice fornisce la probabilità che un ospite parassitato dia origine a una vespa adulta ed è stimato come: $ep/(ef - efp)$, dove ep = numero di parassitoidi emersi, ef = numero medio di mosche emerse in assenza di parassitoidi (controllo), e efp = numero di mosche emerse in presenza di parassitoidi. Nei casi in cui $ep > (ef - efp)$, abbiamo impostato $SP = 1$. Il DP (Grado di Parassitismo) calcola la proporzione di ospiti parassitati con successo. È simile alla formula di Abbott o Schneider-Orelli, utilizzata per correggere la mortalità correlata al trattamento, tenendo conto dell'influenza del controllo. Si calcola come: $(ef - efp)/ef$, quando $ef < efp$, impostiamo $ef - efp = 0$. Abbiamo calcolato il tasso di emergenza (ER) come il rapporto tra il numero di parassitoidi emersi e il numero totale di pupe, senza tenere conto della mortalità dei parassitoidi. Le differenze di DP, SP, ER, DT (tempo di sviluppo), LO (longevità) registrate tra la prima e la seconda generazione di *P. vindemiae* e *M. raptor* sono state analizzate mediante il test U di Mann-Whitney non parametrico ($P < 0.05$). È stato utilizzato un test del chi-quadrato per verificare eventuali cambiamenti nel rapporto tra i sessi tra la prole della prima e della seconda generazione.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

4.6 Monitoraggio pre-rilascio di *P. casei* presso il salumificio S. Paolo S.r.l.

Per lo studio del grado di infestazione e della dinamica di popolazione di *P. casei* sono state monitorate due sale di stagionatura, una posta al piano interrato (fig. 17) e una al terzo piano (fig. 18). La superficie del piano interrato è di 287,8 m² e consta di una capacità di 8.500 prosciutti, posti su rastrelliere in legno, a cui sono aggiunti supporti in acciaio inox raggiungendo le 12.000 unità di cosce. La sala al terzo piano ha una superficie di 288,7 m² e può contenere un massimo di 15.000 prosciutti. Per quanto riguarda i valori di temperatura media e umidità delle sale si attestano relativamente intorno a 18-25 °C e 75% UR. Il monitoraggio è stato eseguito con cadenza bimestrale a partire da maggio 2021 per una durata di due anni (per terminare a maggio 2023).

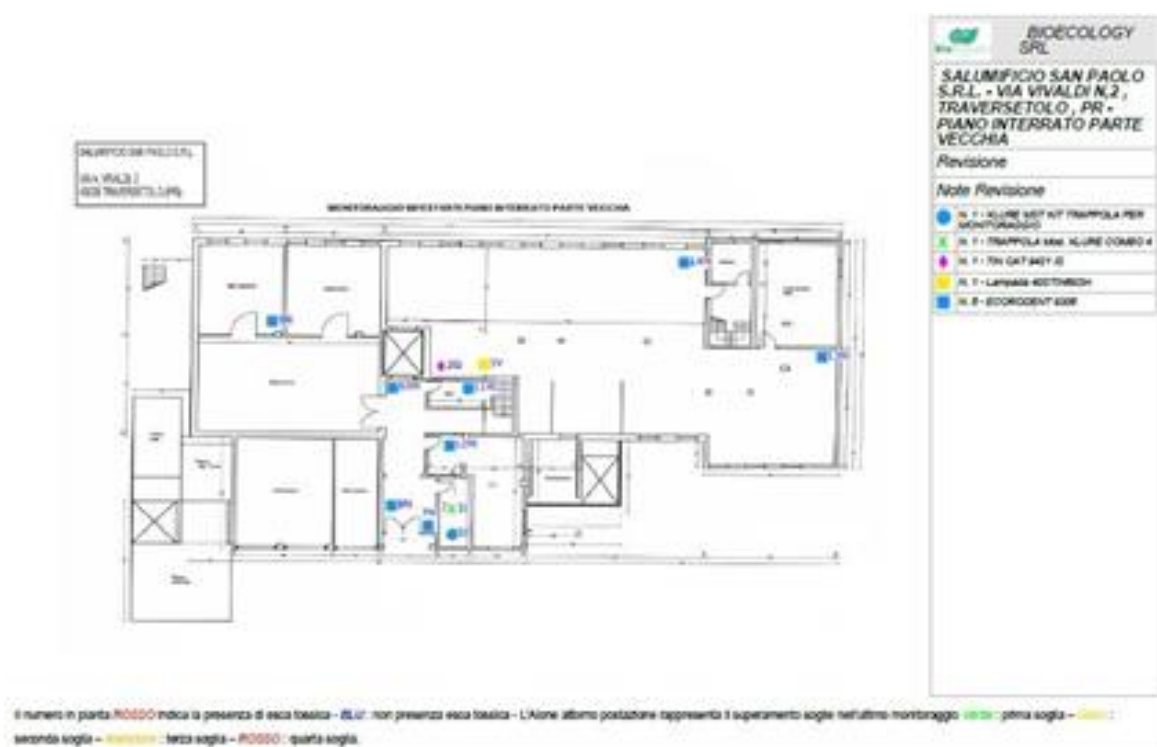


Figura 17. Planimetria del piano interrato del salumificio.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI



Figura 18. Planimetria del terzo piano del salumificio.

Le operazioni di monitoraggio sono state eseguite utilizzando scopa e paletta, prelevando adulti, larve e pupari, presenti sulla pavimentazione al disotto delle rastrelliere a cui sono appesi i prosciutti in stagionatura. Al fine di non influenzare la normale gestione delle derrate da parte degli operatori, è stata richiesta l'interruzione degli interventi di pulizia durante la settimana della data del monitoraggio, per valutare adeguatamente la presenza di *P. casei* nelle sale. Il campione prelevato è stato posto all'interno di provette di tipo Falcon dotate di tappo traspirante, per permettere gli scambi gassosi e impedire la dispersione degli adulti ed eventuali parassitoidi. In Dipartimento poi sono stati eseguiti i conteggi del materiale prelevato, discriminando i campioni in: larve, adulti vivi, adulti morti, pupari schiusi e pupe. Queste ultime sono state raccolte a parte e poste in incubazione, in provette di tipo Falcon, per circa 30 giorni ad una temperatura di 25°C, umidità relativa del 50-65% e a un ciclo di luce 16:8 (L:D) per valutare la possibile presenza di parassitoidi all'interno delle sale di stagionatura. Al numero di adulti ottenuti con il campionamento è stato sommato il valore di quelli ottenuti con il monitoraggio mediante trappole luminose associate a collate, eseguito da Bioecology per i conteggi, raccolto con le trappole luminose e con trappole a piastre collate. Le trappole sono sostituite mensilmente, durante l'ultima settimana del mese, sono appese in punti facilmente raggiungibili dagli operatori alle colonne portanti,



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

mantenendo la stessa localizzazione di posizionamento per tutto il periodo di monitoraggio. Queste sono visionabili in planimetria rappresentate dal simbolo quadrato di colore giallo (1v e 3v).

4.7 Lancio di *P. casei*, *M. raptor* e *P. vindemiae* in box sperimentali in sala di stagionatura

La prova sperimentale relativa al rilascio di *P. vindemiae* e *M. raptor*, è stata allestita nella sala di stagionatura interrata del salumificio San Paolo S.r.l. con superficie di 37,7 m², con capienza di n. 1600 prosciutti, indicata in planimetria con il nome di “cella dei prodotti finiti”. Questa è adiacente e isolata dalla sala principale -1 con una porta ermetica che permette di evitare possibili contaminazioni dei prosciutti usati come campione. All’interno della sala sono stati allestiti due box sperimentali (fig. 19) ognuno di dimensione 2,5 x 2,5 m, realizzati con struttura in legno e pareti in rete da 160 µm mesh, allo scopo di isolare l’ambiente di sperimentazione dalla sala di lavorazione dei prosciutti pronti alla vendita.

L’ambiente esterno ai box della cella dei prodotti finiti è stato utilizzato per il controllo, in quanto delle stesse dimensioni dei due box e con lo stesso numero di prosciutti. Nella cella è stata rimossa la trappola luminosa. All’interno di ognuno dei box sono stati inseriti n° 25 prosciutti esenti da infestazione di *P. casei*, appesi e sottoposti ai medesimi processi di stagionatura dei prosciutti destinati alla vendita presenti nella sala sotto controllo. L’infestazione artificiale dei prosciutti è statata eseguita rilasciando in ognuno dei box n°100 esemplari di *P. casei*. Dopo tre settimane dal rilascio è stata verificata la presenza delle pupe del dittero al fine di poter effettuare il primo lancio dei relativi parassitoidi.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI



Figura 19. Esterno (a) ed interno (b) del box sperimentale (foto: R. Girodo).

La tecnica di lancio dei parassitoidi nei box è stata la medesima per entrambe le specie e ha previsto l'utilizzo di adulti sfarfallati entro 3 giorni, al fine di ridurre i rischi di devitalizzazione degli stessi. Sono stati eseguiti 3 lanci con distanza temporale di circa 21 giorni uno dall'altro, rilasciando per ognuno 100 esemplari e prendendo in ognuno dati relativi a temperatura e umidità degli ambienti.

Al fine di valutare l'impatto dei parassitoidi su *P. casei* sono stati effettuati 3 campionamenti per ogni lancio effettuato, su un totale di 3 lanci. Il primo è stato eseguito prima del lancio del parassitoide (campionamento 0), seguito da un secondo a distanza di 7 giorni dal primo lancio (campionamento 1) e da un terzo dopo 14 giorni (campionamento 2). Trascorsi 21 giorni dal primo lancio viene eseguito un secondo lancio, con relativo campionamento 0, che corrisponde anche al campionamento 3 del primo lancio, e così è stato fatto anche per il terzo lancio. Questi campionamenti sono stati effettuati mediante il prelievo di pupari presenti sulla pavimentazione al di sotto della rastrelliera in cui sono disposti i prosciutti.

L'operazione di campionamento è consistita inizialmente con il conteggio dei pupari di *P. casei* presenti sulla pavimentazione, da queste ne sono state raccolte 20 e poste in una capsula Petri e lasciate nel box per la continuità di sviluppo del parassitoide. Per calcolare il numero di pupari da prelevare, per costituire il campione, è stata utilizzata la formula di calcolo "dimensione di campione di indagine" utilizzando come numero totale dei pupari sottraendo i 20 che sono stati



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

lasciati all'interno di ogni box per mantenere una fonte di riproduzione dei parassitoidi lanciati. Tali operazioni sono state attuate sia all'interno dei due box (prove), sia nell'intera sala dei prodotti finiti (controllo), scegliendo un numero uguale di pupe. Una volta campionate le pupe, sono state portate in laboratorio. Queste sono state isolate singolarmente in provette Eppendorf (0.5 ml), etichettate con numero box e data di campionamento e mantenute ad una temperatura di 25 °C, un'umidità relativa del 50-65% ed un ciclo di luce 16:8 (L:D).

4.8 Diagnosi infestazione con naso elettronico

Il lavoro è stato condotto utilizzando il naso elettronico PEN3 (Airsense Analytics GmbH, Germania). PEN3 è costituito da un apparato di campionamento, un'unità di rilevamento composta da un insieme di sensori e un software applicativo di riconoscimento del campione e registrazione dei dati (Win Muster v.1.6). L'unità di rilevamento è composta da 10 sensori chimici di tipo semiconduttore a ossido di metallo (MOS) termoregolati individualmente lavorando a temperature elevate (150-500 °C). Questi sensori permettono di classificare e identificare le diverse specie volatili (VOC). Ciascun sensore risponde preferenzialmente ad una classe di composti organici: MOS1 e MOS3 sono specifici per la rilevazione dei composti aromatici, MOS4 per l'idrogeno, MOS5 per composti alifatici e aromatici, MOS7 per solforati, MOS9 per composti clorurati e MOS10 per metano e altri composti alifatici. MOS2, MOS6 e MOS8 rispondono a una vasta gamma di sostanze organiche. La risposta di ogni sensore è espressa come resistività (Ω) (Blasioli *et al.*, 2010). L'elaborazione dei dati comporta la distinzione di un singolo punto o di un intervallo di punti per ogni campione in cui il riscontro dei sensori è regolare. In seguito, su tali punti, vengono condotte analisi multivariate dei dati. A questo scopo il processo di analisi multivariata più utilizzata è la Principal Component Analysis (PCA), che consente la visualizzazione grafica bidimensionale dell'insieme di variabili. Inoltre, permette una riduzione della complessità dei dati schematizzando le informazioni in componenti principali, le quali indicano le direzioni di massima variazione dei dati. Proiettando i dati su queste direzioni principali, si ottiene una nuova rappresentazione dei dati in cui la varianza predominante è spiegata dalle prime componenti principali; la PCA mira a individuare le direzioni lungo le quali i dati sono più "dispersi" e quindi più significativi, spiegando quindi la maggior parte della varianza complessiva dei dati.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

4.8.1 Allevamento *P. casei* su Prosciutto di Parma

Lo studio sui VOC emessi da prosciutto crudo infestato da *P. casei* è stato condotto nel laboratorio entomologico del Dipartimento di Scienze Agro-Alimentari (DISTAL) dell'Università di Bologna. Per la preparazione dei campioni è stato allestito un allevamento di *P. casei* utilizzando come substrato alimentare solo Prosciutto di Parma; questo per mantenere un'uniformità delle caratteristiche organolettiche dei campioni. Le parti di prosciutto sono state infestate utilizzando contenitori della stessa tipologia di quelli in uso per l'allevamento del dittero su substrato artificiale, ma in questi è stata inserita una rete metallica sospesa su cui è stata appoggiata la sezione di prosciutto: questo permette la caduta delle larve sul fondo del contenitore e la loro separazione dalla carne. Questo processo è stato eseguito in una camera climatica di tipo "walk-in", mantenuta a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 50-65% UR e fotoperiodo di 16L:8B.

4.8.2 Analisi sensoriali

Le analisi con il naso elettronico sono state eseguite in ambienti privi di odori molto forti: tale caratteristica è fondamentale, in quanto l'inquinamento olfattivo dell'ambiente di lavoro potrebbe interferire con il sistema di analisi dei sensori dello strumento, portando a risultati non discriminanti. La fase iniziale ha previsto l'ottimizzazione delle condizioni di analisi, in particolare: il tempo di saturazione dello spazio di testa (ossia, il tempo necessario affinché i VOC raggiungano l'equilibrio nel volume vuoto del contenitore), la temperatura di incubazione e il peso del campione. Una volta ottimizzati questi parametri, le analisi sono state condotte a 27°C con un tempo di saturazione di 30 min. Le misurazioni sono state ottenute settando il naso elettronico impostando i seguenti valori: flusso di aspirazione dello spazio di testa 400 ml min^{-1} ; tempo di esposizione dei volatili ai sensori 80 s; tempo per il lavaggio dei sensori 180 s.

L'utilizzo di un naso elettronico per l'analisi di prosciutti integri richiede una fase preliminare di addestramento dello strumento. A tal fine, è stata condotta una serie di analisi su campioni di prosciutto di diversa grammatura, con l'obiettivo di ottimizzare le prestazioni del naso elettronico e ottenere risultati affidabili.

4.8.2.1 Analisi sensoriale su campioni da 1g

In una prima fase sono stati analizzati campioni di prosciutto crudo di 1g di peso forniti dal salumificio San Paolo (fig. 20). Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando contenitori cilindrici



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

in vetro borosilicato di volume 150 ml ermeticamente chiusi da un tappo con una membrana di teflon facilmente forabile.

In una prima fase le fette di prosciutto sono state divise, in campioni di 1,5 g di peso e poste singolarmente in capsule Petri. La preparazione di campioni di peso di 1,5 g è stata decisa per evitare che, durante il periodo necessario per l'infestazione con *P. casei*, essi potessero andare incontro a disseccamento. Al momento delle analisi, infatti, i campioni non devono risultare inferiori a 1 g di peso. Per questo gruppo sono stati analizzati campioni di prosciutto sano e infestato artificialmente in laboratorio, valutando tra le diverse analisi, tempi diversi di conservazione a 4, 7 e 11 giorni dalla data di infestazione. L'infestazione dei campioni è stata eseguita singolarmente in capsule Petri.

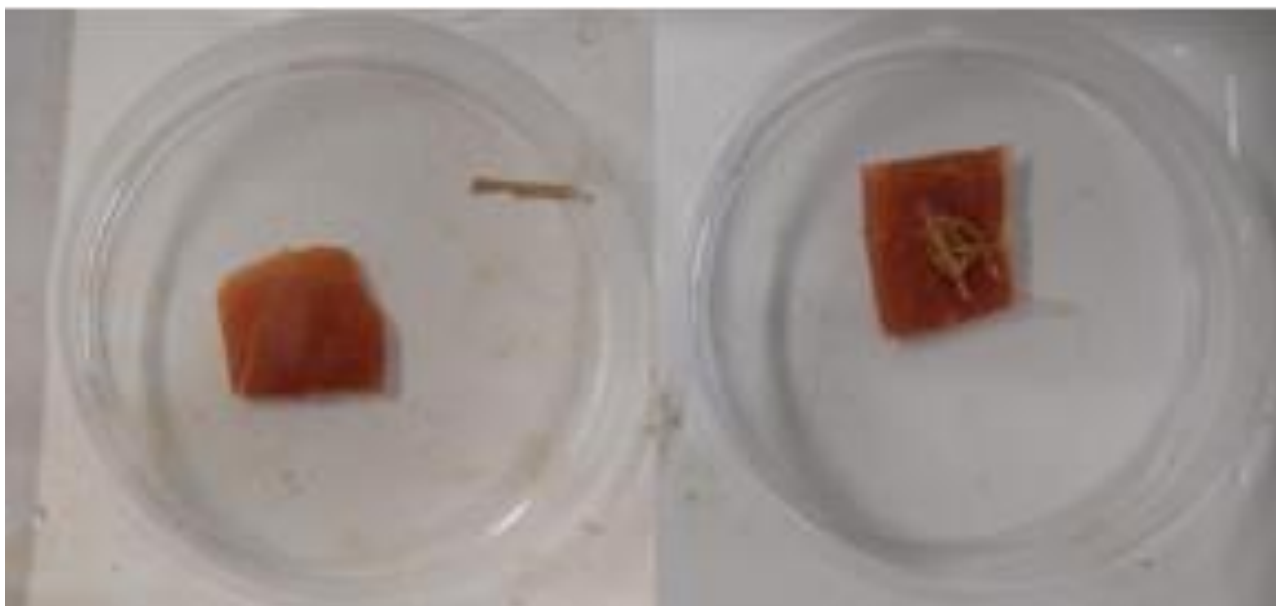


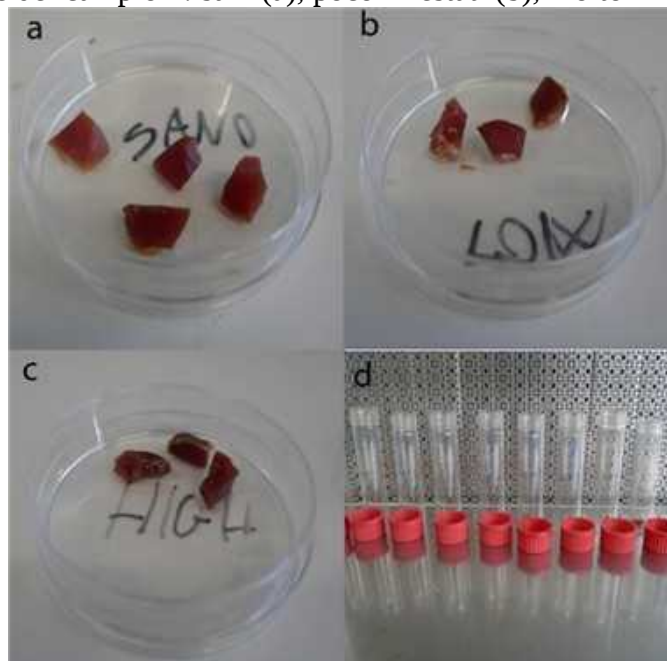
Figura 20. Campioni di fette di prosciutto (foto: R. Girodo).

Nella seconda serie di esperimenti sono stati analizzati campioni di prosciutto sano e prosciutto con un diverso grado di infestazione in tocchetti: campioni sani, poco infestati e molto infestati (fig. 21). Con “poco infestato” e “molto infestato” ci si riferisce a parti di prosciutto in cui rispettivamente vi è una bassa ed un’alta concentrazione di larve del dittero. I prosciutti, da cui sono stati preparati i campioni, sono stati infestati artificialmente in laboratorio e conservati in camera climatica a 20 °C. Questo per ricreare le condizioni di temperatura delle sale di stagionatura.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

Figura 21. Preparazione dei campioni: sani (a), poco infestati (b), molto infestati (c) e campioni nei



cilindri di analisi (d) (foto: R. Girodo).

Nell'ultima serie di analisi sono stati analizzati solo campioni di larve di *P. casei* (Fig. 22). queste sono state prelevate dalle sezioni di prosciutto infestati in laboratorio.



Figura 22. Campione di larve (foto: R. Girodo).

4.8.2.2 Analisi sensoriale su campioni da 1 kg



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

La seconda fase di allenamento del naso elettronico ha previsto l'utilizzo di campioni di prosciutto crudo da 1 kg. L'obiettivo di questa fase era di validare i risultati ottenuti nella prima fase di analisi su campioni da 1 grammo e di valutare l'applicabilità del metodo a prosciutti interi.

I prosciutti, forniti dal Prosciuttificio San Paolo, presentavano le stesse caratteristiche di stagionatura e di composizione dei prosciutti utilizzati nella fase di analisi di campioni da 1 grammo. I prosciutti sono stati tagliati in porzioni da 1 kg e classificati come: sani, poco infestati, molto infestati. I prosciutti, da cui sono stati preparati i campioni, sono stati infestati artificialmente in laboratorio e conservati in camera climatica a 20 °C. Questo per ricreare le condizioni di temperatura delle sale di stagionatura. I campioni di prosciutto sono stati analizzati in sacchi sottovuoto chiusi ermeticamente mediante l'utilizzo di una macchina sigillatrice (fig. 23).



Figura 23. Campioni da 1kg (foto R. Girodo).

4.8.2.3 Analisi sensoriale su campioni di prosciutto intero



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

Le ultime analisi sono state condotte su prosciutti interi del peso di 9 kg, forniti dal Prosciuttificio San Paolo. Questa fase è stata raggiunta grazie alle analisi precedenti e permette di validare lo strumento per la possibile discriminazione di prosciutti infestati da *Piophilidae*.

Per svolgere l'analisi mediante naso elettronico i campioni sono stati inseriti all'interno di sacchi alimentari sterili privi di odore e chiusi ermeticamente mediante macchina sigillatrice (Fig. 24). Quest'analisi è stata condotta in campo, ovvero nella sala di stagionatura dei prosciutti all'interno del salumificio San Paolo (T 16 °C; U 60 %). È importante sottolineare che la divisione dei campioni in "sani" o "infestati" nella fase di analisi non era certa. La discriminazione, infatti, non era possibile ad occhio nudo o con metodi di analisi non invasivi.



Figura 24. Campioni di prosciutto intero (foto R. Girodo).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

4.9 Diagnosi infestazione con ecografia

In questa prova è stato testato l'uso del l'ecografo per valutare la possibile presenza di un'infestazione di larve di *Piophil casei* in prosciutti stagionati 24 mesi. L'ecografo utilizzato è del marchio IMAV con sonda settoriale SS-3S GABIEJ066 da 3,5MHZ con profondità di 90-160-200-280 mm.

L'ecografia diagnostica è una tecnica di imaging che utilizza onde sonore ad alta frequenza per creare immagini di organi, tessuti e flussi ematici.

Il principio di funzionamento dell'ecografia è basato sulla riflessione delle onde sonore dai tessuti. Le onde sonore che incontrano una superficie con un'impedenza acustica diversa dalla loro vengono riflesse verso la sonda, che le converte in segnali elettrici. Un computer analizza questi segnali e li visualizza sullo schermo sotto forma di immagini.

Sono stati analizzati mediante ecografo a ultrasuoni campioni di prosciutto stagionato infestato da *P. casei*. L'infestazione è stata poi accertata mediante esame distruttivo. Le analisi sono state condotte su sezioni trasversali e longitudinali del prosciutto, con particolare attenzione alla presenza di eventuali difetti o anomalie e alle zone solitamente interessate dall'infestazione.

5 RISULTATI

5.1 PROVE PRELIMINARI DI LABORATORIO

5.1.1 Grado di successo di parassitismo (SP), grado di parassitismo (DP), tasso di emergenza (ER), tempo di sviluppo (LS+DP), Sex-ratio (SR): *P. vindemiae*

Abbiamo osservato un alto DP per *P. vindemiae*, raggiungendo un valore di $75,41 \pm 10,74$ nella prima generazione e di $74,10 \pm 6,06$ nella seconda (tab 1). I DP stimati non hanno mostrato differenze statisticamente significative tra le 2 generazioni mediante il test di Mann-Whitney ($U = 94,00$; $P = 0,812$). Sommando i dati dei test senza scelta, SP (%) è stato del $41,44 \pm 10,30$ nella prima generazione; la seconda generazione ha mostrato uno SP (%) significativamente inferiore, $22,01 \pm 5,54$ (Tabella 1). In questo caso, SP è risultato significativamente diverso tra le 2 generazioni ($U = 51,50$; $P = 0,031$). Gli ER (%) di *P. vindemiae* sono stati rispettivamente del $26,00 \pm 4,73$ e del $12,00 \pm 3,44$ nella prima e nella seconda generazione, con una differenza significativa ($U = 50,00$; $P = 0,031$; Tabella 1). LS di *P. vindemiae* nella prima generazione è stata di $46,73 \pm$



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

2,09 giorni, con un tempo di sviluppo di $25,42 \pm 0,77$ giorni e una longevità di $21,30 \pm 1,97$ giorni. LS del parassitoide nella seconda generazione è stata di $50,71 \pm 1,34$ giorni. *Pachycrepoideus vindemiae* ha mostrato un DT significativamente più breve ($U = 99,00$; $P < 0,001$) in *P. casei* ($21,12 \pm 0,35$ giorni) nella seconda generazione rispetto alla prima (Tabella 1). Inoltre, nella prima generazione, LO è stata significativamente più alta rispetto alla seconda ($U = 473,0$; $P = 0,002$), raggiungendo un valore di $29,58 \pm 1,45$ giorni (tabella 1). La SR è stata del 76,92% (femmine:maschi) (20 femmine e 6 maschi) nella prima generazione e dell'87,5% nella seconda (21 femmine e 3 maschi). L'analisi statistica non ha rilevato differenze significative di SR tra la prole delle 2 generazioni (test del chi-quadro = 0,95; $df = 1$; $P = 0,331$; Tabella 1).

Tabella 1: parametri relativi al controllo qualità effettuato in laboratorio di *P. vindemiae*

<i>Pachycrepoideus vindemiae</i>	First generation	Second generation	Mann-Whitney U		Sig.
DP (%)	75.41 ± 10.74	74.10 ± 6.06	94,00		0.812
SP (%)	41.44 ± 10.30	22.01 ± 5.54	51,50		0.031
ER (%)	26.00 ± 4.73	12.00 ± 3.44	50,00		0.031
DT (days)	25.42 ± 0.77	21.12 ± 0.35	99,00		$P < 0,001$
LO (days)	21.30 ± 1.97	29.58 ± 1.45	473,0		0.002
	First generation	Second generation	Chi-square test	Degrees of freedom	Sig.
Sex-ratio (%)	76.92	87.5	0.95	1	0.331

5.1.2 Grado di successo di parassitismo (SP), grado di parassitismo (DP), tasso di emergenza (ER), tempo di sviluppo (LS+DP), Sex-ratio (SR): *M. raptor*

Nei test senza scelta, le femmine di *M. raptor* hanno accettato le pupe di *P. casei* e la loro progenie è stata in grado di completare lo sviluppo. La percentuale di DP è stata del $50,44 \pm 8,68$ nella prima generazione; nella seconda generazione è stato rilevato un DP più alto ($75,78 \pm 5,85$) (tab. 2), con una differenza molto vicina al livello di significatività ($U = 76,00$; $P = 0,052$). La percentuale di SP è stata rispettivamente del $30,00 \pm 9,00$ e del $23,54 \pm 4,91$ nella prima e nella seconda generazione ($U = 46,50$; $P = 0,796$; (tab. 2). La percentuale di ER di *M. raptor* è stata rispettivamente del $13,00 \pm 2,47$ e del $19,00 \pm 4,11$ nella prima e nella seconda generazione ($U = 64,00$; $P = 0,315$; (tab. 2). La LS di *M. raptor* nella prima generazione è stata di $40,00 \pm 1,14$ giorni, con un DT di $19,00 \pm 0,35$ giorni e una longevità di $21,96 \pm 0,24$ giorni. Nella seconda generazione di *M. raptor*, la LS è stata di $50,73 \pm 1,39$ giorni, con un tempo di sviluppo di $22,00 \pm 1,74$ giorni e una longevità di $29,05 \pm 1,36$ giorni. Il DT ha mostrato una differenza significativa tra le 2 generazioni ($U = 1061$; $P < 0,001$; tab. 2). Anche la longevità è stata significativamente più lunga nella seconda generazione rispetto alla prima ($U = 879,5$; $P = 0,001$; Tabella 2). L'SR è stato del



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

43,47% e del 61,53% (femmine:maschi) (10:13 e 32:20) rispettivamente nella prima e nella seconda generazione (test $\chi^2 = 2,11$, $df = 1$, $P = 0,146$; tab. 2).

Tabella 2 parametri relativi al controllo qualità effettuato in laboratorio di *M. raptor*.

<i>Muscidifurax raptor</i>	First generation	Second generation	Mann-Whitney U	Sig.
DP (%)	50.44 ± 8.68	75.78 ± 5.85	76.00	0.052
SP (%)	30.00 ± 9.00	23.54 ± 4.91	46.50	0.796
ER (%)	13.00 ± 2.47	19.00 ± 4.11	64.00	0.315
DT (days)	19.00 ± 0.35	21.96 ± 0.24	1,061	$P < 0.001$
LO (days)	22.00 ± 1.74	29.05 ± 1.36	879.50	0.001
SR (%)	43.47	61.53	Chi-square test 2.11	Degrees of freedom 1 Sig. 0.146

5.1.3 Discussione dei dati di laboratorio

L'analisi preliminare dei parametri DP, SP, ER, DT, LO e SR in questo studio suggerisce che entrambe le specie parassitoidi possano parassitare con successo le pupe di *P. casei*. Inoltre, lo studio è il primo a riportare che *P. casei* può essere utilizzata come ospite per *M. raptor*. I parametri stimati di SP e DP suggeriscono anche che entrambi i parassitoidi potrebbero ridurre la densità di *P. casei*. Tuttavia, il basso tasso di emersione (ER) dai pupari suggerisce che SP e DP potrebbero essere sovrastimati. Ciò potrebbe essere dovuto ad *host-feeding* (uccisione dell'ospite da parte del parassitoide senza ovideposizione di esso) da parte del parassitoide adulto o a un'incompatibilità fisiologica tra parassitoide e ospite (Chabert *et al.* 2012, Tucker e Kaufman 2017, Bezerra Da Silva *et al.* 2019b). I nostri risultati hanno dimostrato una sex-ratio (SR) fortemente sbilanciata verso le femmine per il parassitoide *P. vindemiae*, corroborando studi precedenti (Nøstvik, 1954; Nadel e Luck 1985, Morales-Ramos *et al.* 2022). Questo parametro deve essere considerato quando si determina quale metodo di rilascio (inoculativo vs inondativo) utilizzare in un programma di gestione (Koul e Dhaliwal, 2003).

Le forti differenze nei parametri di qualità tra la progenie dei parassitoidi della prima e della seconda generazione trovate in questo studio devono essere prese in considerazione quando si progettano sia i protocolli di allevamento che le tattiche di rilascio in campo. Il tasso di emersione (ER) per entrambi i parassitoidi è stato basso in entrambe le generazioni, probabilmente a causa del *host-feeding* o dell'incompatibilità fisiologica. Il DP e la LS trovati in questo studio suggeriscono la possibilità per entrambi i parassitoidi di ridurre la densità di *P. casei* se rilasciati utilizzando come strategia appropriata quella dei lanci inondativi. La stima dei parametri di qualità per i parassitoidi in laboratorio prima del loro utilizzo in un programma di controllo biologico è un primo passo



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

fondamentale per prevedere il potenziale impatto su una popolazione di parassiti bersaglio e per pianificare l'allevamento di massa del parassitoide.

5.2 Monitoraggio pre-rilascio di *P. casei* presso il salumificio S. Paolo S.r.l.

Il monitoraggio è stato eseguito bimestralmente da maggio 2022 a maggio 2023. I dati relativi agli adulti catturati con le lampade sono stati forniti dall'azienda Bioecology S.r.l.. Le tabelle e i grafici mostrano un andamento non lineare del livello di infestazione delle sale di stagionatura. In queste, si riscontrano dei picchi di concentrazione di adulti e pupe campionati manualmente, nel periodo estivo, in particolare nel mese di luglio e nel periodo invernale tra gennaio e febbraio. Per quanto riguarda i campionamenti eseguiti con le trappole luminose (in tabella e nei grafici segnati come lampade), si evidenziano delle differenze di concentrazione di adulti tra la sala interrata e la sala al terzo piano durante l'anno. In particolare, nella sala interrata (tab. 3 e fig. 24) si sono verificati dei picchi di concentrazione nel periodo estivo e nel periodo invernale, invece nella sala al terzo piano (tab.4 e fig. 25), questi si sono verificati nel periodo primaverile e autunnale, con maggiori concentrazioni del dittero nel mese di ottobre e nel mese di marzo. Questo andamento può essere spiegato in quanto all'interno delle sale di stagionatura vengono effettuare pratiche di pulizia e trattamenti sui prosciutti. Questo dato non è in nostro possesso, è sicuro che queste pratiche vengono eseguite prima che vengano effettuati delle verifiche dall'ente di controllo preposto.

Tabella 3. Numero di larve, pupe, adulti e adulti monitorati con le trappole (lampade) nella sala di stagionatura del piano interrato.

MESE	larve	pupe	adulti	lampade
Mag-22	5	216	371	433
Lug-22	1	72	174	808
Set-22	3	92	73	445
Nov-22	1	144	183	1464
Gen-23	19	600	517	957
Mar-23	18	178	140	775
Mag-23	3	191	77	208
Media	7	213	219	727



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

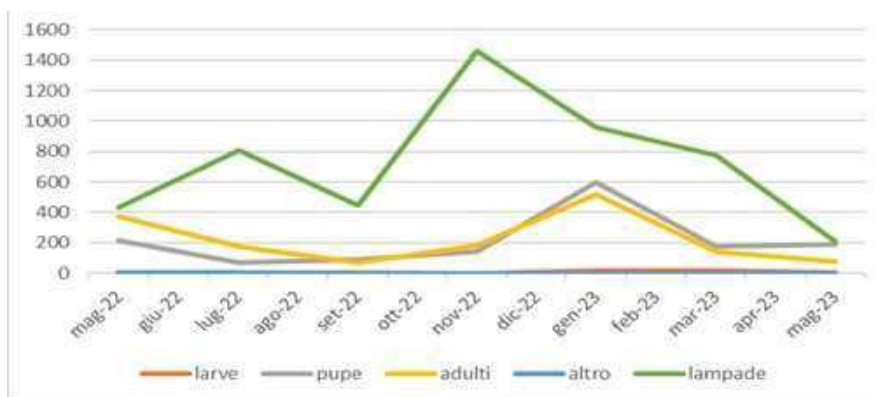


Figura 24. Andamento del numero di larve, pupe, adulti e adulti monitorati con le trappole (lampade) nella sala di stagionatura del piano interrato.

Tabella 4. Numero di larve, pupe, adulti e adulti monitorati con le trappole (lampade) nella sala di stagionatura del terzo piano.

MESE	larve	pupe	adulti	lampade
Mag-22	2	169	542	146
Lug-22	3	54	1049	766
Set-22	9	133	150	997
Nov-22	1	50	132	906
Gen-23	3	415	431	599
Mar-23	18	178	140	755
Mag-23	25	170	356	520
Media	8	190	309	699



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

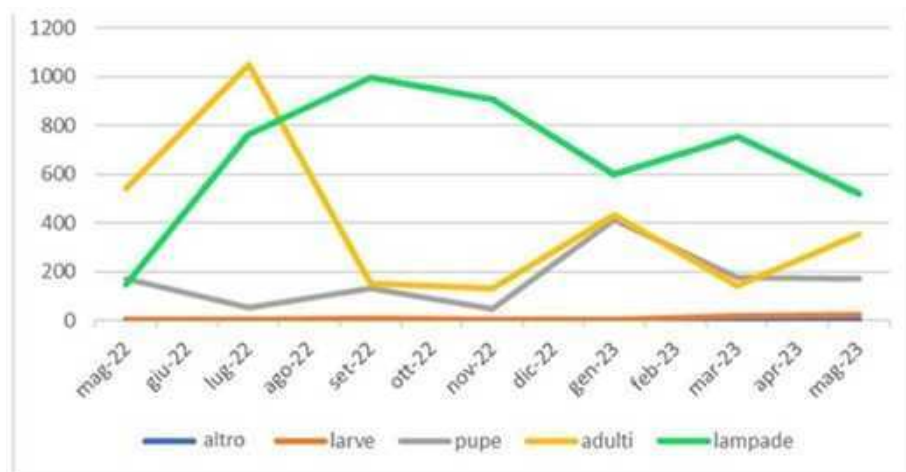


Figura 25. Andamento del numero di larve, pupe, adulti e adulti monitorati con le trappole (lampade) nella sala di stagionatura del terzo piano.

5.3 Lancio di *P. casei*, *M. raptor* e *P. vindemiae* in box sperimentali in sala di stagionatura

Per calcolare il confronto del valore di DP totale, dunque senza tenere conto della divisione del campionamento, tra *P. vindemiae* e *M. raptor* è stato utilizzato il test della mediana a campioni indipendenti (tab. 5), che è risultato $p=0,057$ quindi al limite della significatività.

Tabella 5. Rappresentazione riassuntiva dei valori del grado di parassitizzazione (DP), successo di parassitizzazione (SP), tasso di emergenza (ER) e durata di vita da adulto (LO) per *M. raptor* (parassitoide 1) e *P. vindemiae* (parassitoide 2).

	DP		SP		ER		LO	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Media	0,32	0,64	0,07	0,14	0,04	0,10	5,27	4,21
Mediana	0,25	0,67	0,00	0,10	0,00	0,06	5,00	4,00
Deviazione std.	0,29	0,29	0,13	0,15	0,07	0,12	2,96	1,20

Questo indice fornisce informazioni sull'impatto che ha il parassitoide sulla popolazione dell'ospite. Il valore effettivo risulta 64% per *P. vindemiae* e 32% per *M. raptor*; dai risultati tra i due parassitoidi *P. vindemiae* risulta il più efficace (fig. 26). Questo conferma i risultati ottenuti dalle prove di laboratorio, in cui viene sottolineato come il valore di DP di *P. vindemiae* nella prima generazione prevalga rispetto a quello di *M. raptor*. Inoltre, questi valori sottolineano come vi sia una differenza nelle percentuali di DP tra le prove di laboratorio e in campo. Nelle prove di



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

laboratorio eseguite da il DP% della prima generazione di *P. vindemiae* risultava di 75,41% e per *M.raptor* di 50,44%, in questa prova sono risultati di 64% per *P. vindemie* e 32% per *M. raptor*. Questa differenza è imputabile alle differenti condizioni ambientali in cui sono state eseguite le due prove.

Tabella 6. Test della mediana a campioni indipendenti del grado di parassitizzazione (DP) per *M. raptor* (parassitoide 1) e *P. vindemiae* (parassitoide 2).

Numero totale di casi	18
Mediana	0,504
Statistica del test	5,556 a,b
Grado di libertà	1
Sign. Asintotica (test a 2 vie)	0,018
Sign. Esatta di Fisher (testa a 2 vie)	0,057

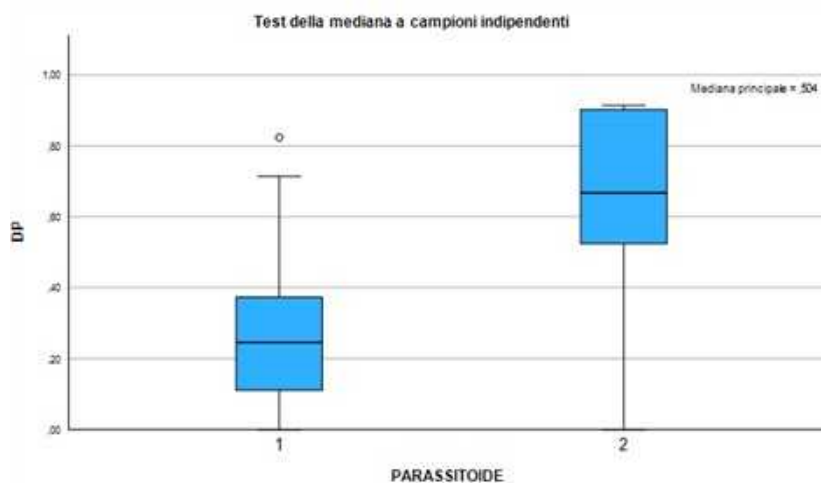


Figura 26. Bar plots del grado di parassitizzazione (DP) per *M. raptor* (parassitoide 1) e *P. vindemiae* (parassitoide 2).

Per stimare l'effetto della specie ospite sullo sviluppo della prole dei due parassitoidi è stato utilizzato l'indice di successo di parassitizzazione (SP). Questo indice è di particolare importanza, in quanto, ci permette di valutare la percentuale di sviluppo di nuovi parassitoidi generati dalle pupe parassitizzate, quindi il rinnovamento di nuove generazioni per la continuità di parassitizzazione nel lungo periodo. Per calcolare il confronto del valore di SP totale è stato utilizzato il test della mediana a campioni indipendenti (tab. 7), che è risultato $p=0,347$, quindi non significativo tra i due



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

parassitoidi. Il valore effettivo è risultato del 7% per *M. raptor* e del 14% per *P. vindemiae* (Fig. 27). Anche in questo caso i valori percentuali dell'indice SP è in linea con la sperimentazione di Missere *et al.* (2023) che, si erano attestati per *M. raptor* del 30% e per *P. vindemiae* del 41,4%. Anche in questo caso le differenti percentuali sono imputabili alle condizioni operative della sperimentazione, che emergono diverse tra il laboratorio e il campo. L'indice conferma come *P. vindemiae* risulti un parassitoide più efficace su *P. casei* rispetto a *M. raptor*.

Tabella 7. Test della mediana a campioni indipendenti del successo di parassitizzazione (SP) per *M. raptor* (parassitoide 1) e *P. vindemiae* (parassitoide 2).

Numero totale di casi	18
Mediana	0,011
Statistica del test	2,000 a,b
Grado di libertà	1
Sign. Asintotica (test a 2 vie)	0,157
Sign. Esatta di Fisher (test a 2 vie)	0,347

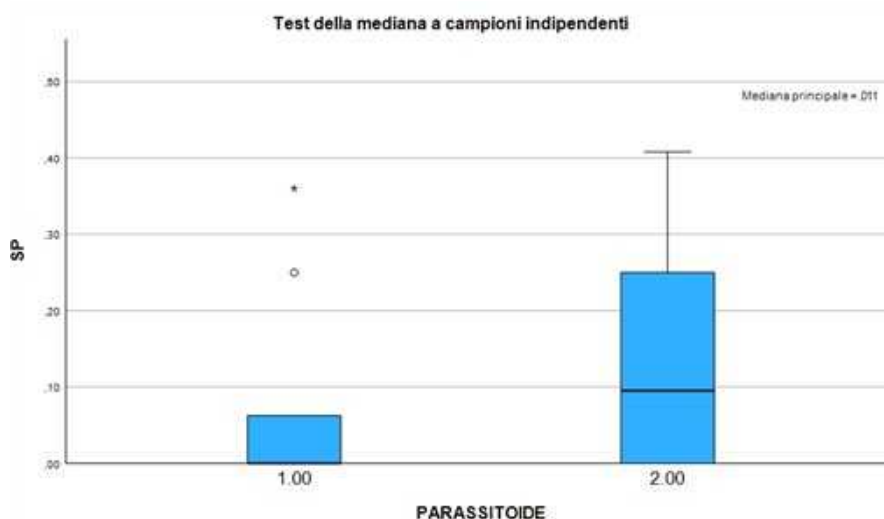


Figura 27. Bar plots del successo di parassitizzazione (SP) per *M. raptor* (parassitoide 1) e *P. vindemiae* (parassitoide 2).

Per calcolare il valore di ER è stato utilizzato il test della mediana a valori indipendenti (Tab. 8), che è risultato $p=0,05$ quindi significativo. Questo indice è importante, in relazione a SP, per la valutazione della tipologia di lancio dei parassitoidi. La valutazione di entrambi permette di capire i



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

tassi di sviluppo nelle generazioni successive dei parassitoidi. In particolare, il valore effettivo di ER è risultato del 4% per *M. raptor* e del 10% per *P. vindemiae* (Fig. 28). Confrontando tali valori con quelli riportati dalle sperimentazioni in laboratorio che si attestavano a 13% per *M. raptor* e 26% per *P. vindemiae* risultano in linea. Le diverse percentuali tra i due studi si differenziano per le diverse condizioni operative a cui sono state eseguite. I dati evidenziano come il tasso di emergenza dai pupari di *P. casei* per *P. vindemiae* rispetto a *M. raptor* risulti più elevato.

Tabella 8. Test della mediana a campioni indipendenti del tasso di emergenza (ER) per *M. raptor* (parassitoide 1) e *P. vindemiae* (parassitoide 2).

Numero totale di casi	18
Mediana	0,000
Statistica del test	5,844 a,b
Grado di libertà	1
Sign. Asintotica (test a 2 vie)	0,016
Sign. Esatta di Fisher (test a 2 vie)	0,050

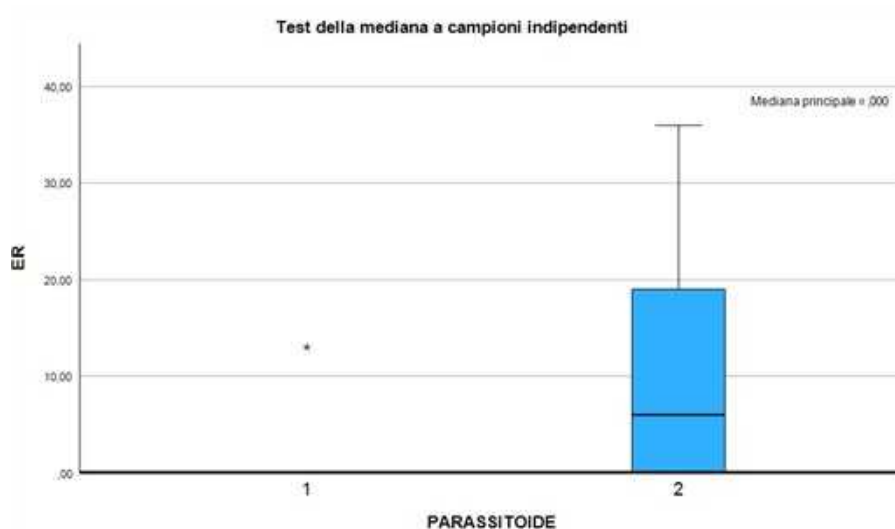


Figura 28. Bar plots del tasso di emergenza (ER) per *M. raptor* (parassitoide 1) e *P. vindemiae* (parassitoide 2).



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

La durata di vita dell'adulto (LO) è stata valutata tenendo i pupari parassitizzati all'interno di capsule Petri singolarmente, quindi senza la possibilità per gli adulti dei parassitoidi di eseguire host feeding sugli ospiti e senza introdurre fonti alimentari, come acqua e zucchero. Il tempo di sviluppo dei parassitoidi è stato calcolato solo con questo indice perché in campo non è possibile conoscere il momento esatto di parassitizzazione. Dopo il campionamento però è stato possibile calcolare il tempo di vita da adulto, monitorandolo dal momento di sfarfallamento dal pupario dell'ospite fino al momento della morte. Il valore di LO, calcolato con il test della mediana a campioni indipendenti (Tab. 9) è risultato $p=0,130$, quindi non significativo tra i due parassitoidi. Questo valore è atteso in quanto i due parassitoidi hanno biologia simile. I valori medi effettivi di LO risultati si sono attestati a 5,27 giorni di vita per *M. raptor* e 4,21 per *P. vindemiae* (Fig. 29). Lo studio di questo dato permette di conoscere quanto tempo il parassitoide ha a disposizione per nutrirsi, riprodursi e parassitizzare gli ospiti.

Tabella 9. Test della mediana a campioni indipendenti della durata di vita dell'adulto (LO) per *M. raptor* (parassitoide 1) e *P. vindemiae* (parassitoide 2).

Numero totale di casi		62
Mediana		4,000
Statistica del test		3,346 a,b
Grado di libertà		1
Sign. Asintotica (test a 2 vie)		0,067
Correzione di continuità di Yates	Chi-quadrato	2,298
	Grado di libertà	1
	Sign. Asintotica (test a 2 vie)	0,130



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

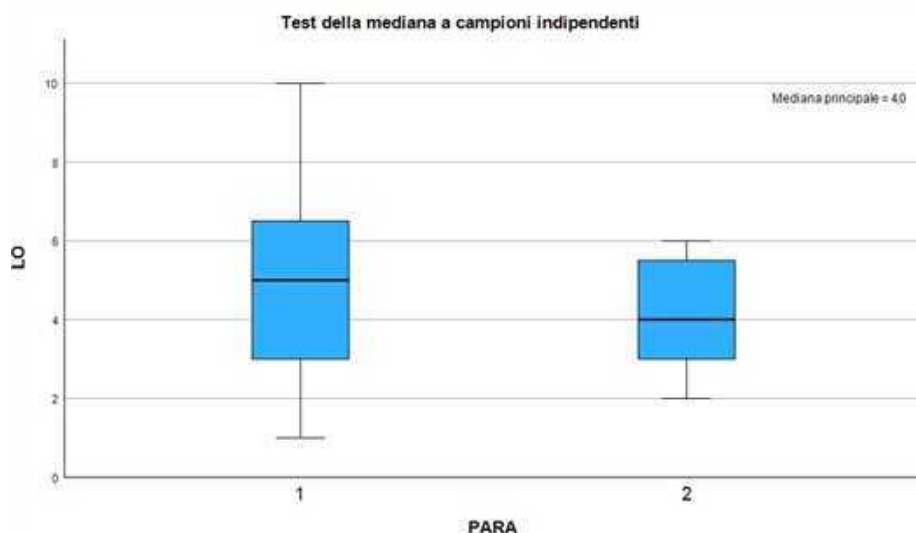


Figura 29. Bar plots della durata di vita dell'adulto (LO) per *M. raptor* (parassitoide 1) e *P. vindemiae* (parassitoide 2).

L'analisi statistica di SR è stata calcolata con il test del chi-quadrato (Tab. 10) ed è risultato non significativo, con un valore $p=0,143$. I singoli valori si sono attestati a 93,3% di progenie femminile per *M. raptor* e 95,7% di progenie femminile per *P. vindemiae*. Questi risultati, con percentuali spostate fortemente verso la componente femminile, erano attesi confermando i dati ottenuti da (Nøstvik, 1954) e (Nadel e Luck, 1985).

Tabella 10. Test del chi-quadrato della sex-ratio (SR) per *M. raptor* (parassitoide 1) e *P. vindemiae* (parassitoide 2).

	Male	Female	Marginal Totals	Row
<i>Muscidifurax raptor</i>	1 (0,73) [0,1]	14 (14,27) [0,01]	15	
<i>Pachycrepoideus vindemiae</i>	2 (2,27) [0,030]	45 (44,73) [0]	47	
Marginal Column Totals	3	59	62	
Il test del chi-quadrato con correzione di Yates =0,0974. $p=0,755$. Non significativo				



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

5.4 Diagnosi infestazione con naso elettronico su campioni da 1 gr, 1 kg e prosciutti interi 9 kg

Per le analisi eseguite utilizzando le fette di prosciutto di Parma infestate singolarmente è stata valutata la risposta dei sensori tra i campioni sani (Healthy) e i campioni infestati (Infected) esposti all'aria a diversi giorni (4 d 7 d e 11 d, di seguito rinominati nel testo). Nel grafico n vi è riportato lo score plot dei composti volatili emessi, ottenuto tramite analisi PCA. Questo grafico è costruito sulle due componenti principali che hanno spiegato rispettivamente il 75,44% della varianza (prima componente) e il 14,74% (seconda componente), che insieme spiegano il 90,2% della varianza totale. Lo score plot (Fig. 30) non permette una visualizzazione chiara dei campioni nello spazio. Tuttavia, si può osservare una distribuzione lineare dei campioni, a partire dai campioni sani esposti per meno tempo all'aria (in alto a sinistra dello score plot) fino ai campioni infetti esposti per più giorni all'aria (in basso a destra dello score plot). La tabella n riporta le percentuali di discriminazione tra i diversi gruppi di campioni analizzati. Tutti i gruppi si discriminano dai bianchi (controllo) con percentuali superiori al 73% ad eccezione dei campioni infestati esposti all'aria per 11 d, che si discriminano per un 57%.

I campioni sani 4 d si discriminano dagli altri gruppi per un 63% ad eccezione dei campioni sani 7 d. Il gruppo di campioni infestati 4 d si discriminano dagli altri gruppi con percentuali superiori all'80% ad eccezione dei campioni sani 11 d che si discriminano per un 6% e ai campioni infetti 7 d che si discriminano per un 9%. Il gruppo dei campioni sani 7 d si discrimina da tutti gli altri gruppi per un 76% ad eccezione del gruppo degli infetti 11 d per un 61% e dal gruppo dei sani 4 d per un 49%. Il gruppo dei campioni infetti 7 d si discrimina dagli altri gruppi per almeno un 78% ad eccezione del gruppo degli infetti 11 d che si discriminano per un 64%, dagli infetti 4 d per un 9% e dal gruppo degli infetti 7 d per un 0,6%. Il gruppo dei campioni sani 11 d si discriminano dagli altri gruppi per almeno un 75% ad eccezione del gruppo infestati 4 d di per il 6% e dagli infetti 7 d per lo 0,3%. La distribuzione dei volatili emessi dai campioni sani esposti all'aria da più giorni è comparabile con quella dei campioni infetti esposti all'aria da meno giorni. Probabilmente i fenomeni di invecchiamento del prosciutto producono molecole volatili assimilabili a quelle prodotte dalla presenza delle larve sul substrato alimentare per azione degli enzimi proteolitici e lipolitici. Confrontando la distribuzione dei composti volatili emessi dalle larve e i campioni di prosciutto sano non risulta esserci elevata discriminazione, poiché la larva cibandosi del substrato emette odori comparabili a quelli del prosciutto.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

Il loading plot (fig. 31) fornisce informazioni riguardo al contributo di ciascun sensore nella descrizione dei dati. Il peso di ciascun sensore nel processo di discriminazione dei campioni si ottiene proiettando i punti corrispondenti ai sensori sulle componenti principali. Quindi è possibile determinare quali sensori e quali molecole contribuiscono a discriminare maggiormente tra di loro i campioni. Da questo è possibile quindi notare come, per la prima componente principale (asse delle x), il sensore corrispondente all'idrogeno (W6S) e il sensore specifico per il metano (W3S) abbiano un elevato peso nel processo di discriminazione; entrambe queste componenti sono riferibili ai processi metabolici delle larve. Si può osservare come i sensori, che compongono il gruppo in basso a destra del loading plot, abbiano lo stesso peso nel processo discriminatorio. Per la seconda componente principale (asse delle y) la distribuzione dei sensori copre tutto lo spazio, contribuendo nella loro totalità a discriminare fra di loro tutte le classi di campioni.

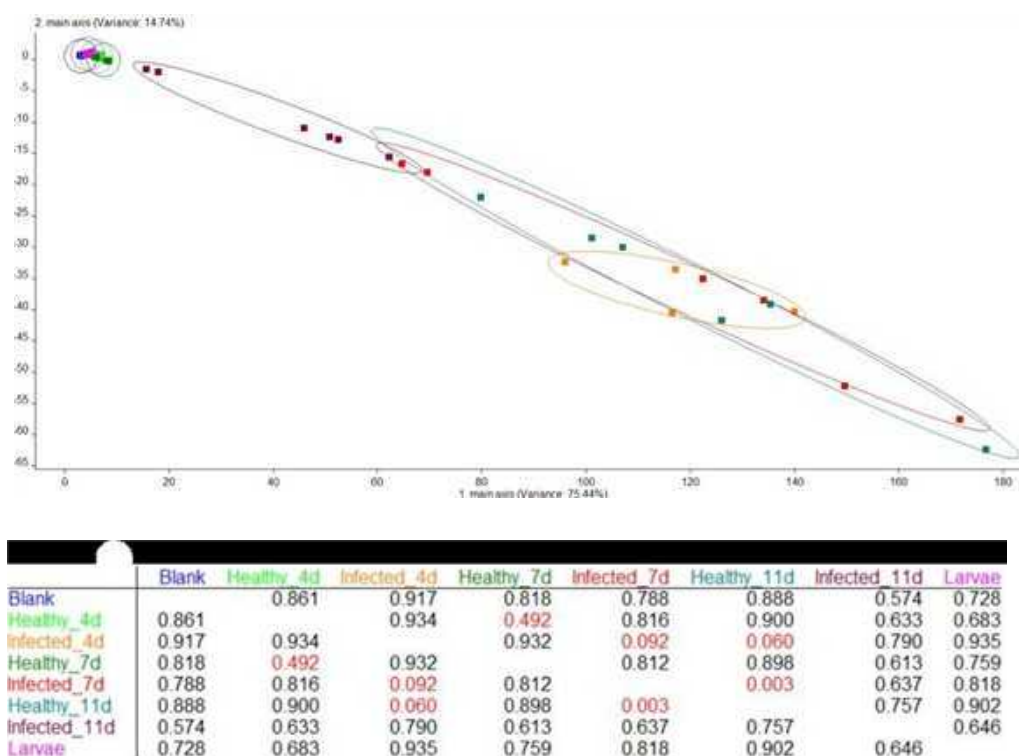


Figura 30. Score plot dei campioni del primo gruppo di analisi con relativa tabella dei valori della discriminazione dei campioni.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

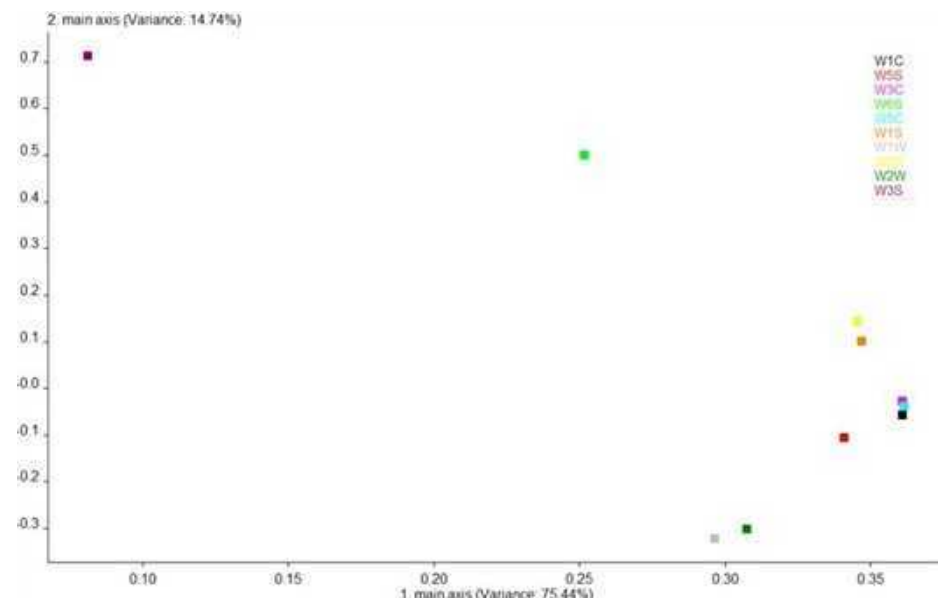


Figura 31. Loading plot dei campioni del primo gruppo di analisi.

Il secondo gruppo di analisi (fig. 32), è stato effettuato su parti di prosciutto intere infestate. Questo ha preso in considerazione campioni definiti “sani”, “poco infestati” e “molto infestati”, in base alla concentrazione delle larve presenti nel substrato che è andato a comporre il campione. Lo score plot di questo gruppo di analisi è stato ottenuto tramite analisi PCA. In questo si evidenzia un buon livello di discriminazione tra le diverse tipologie di campione. Le due componenti principali spiegano rispettivamente l’80,67% della varianza (prima componente principale) e il 15,80% della varianza (seconda componente principale), per una varianza totale del 96,47%. Tutti i gruppi si discriminano dai bianchi per almeno un 73%, il gruppo dei sani si discrimina da tutti gli altri per almeno un 73% ad eccezione del gruppo dei molto infetti per un 43%. Dai dati si riscontra una minore discriminazione dei campioni sani e dei molto infestati rispetto ai poco infestati. Tali risultati sono ricollegabili alla matrice dei substrati, in quanto, le parti di prosciutto prese come campione e considerate poco infestate risultavano più asciutte e secche rispetto alle matrici dei campioni sani e molto infestati, più morbide e umide (inferiore livello di stagionatura). Questo fenomeno potrebbe essere spiegato in quanto le infestazioni più gravi ed avanzate risultano verificarsi nella parte centrale del prosciutto, zona che rispetto alle parti più esterne risulta meno stagionata, quindi con matrice comparabile a quella dei campioni sani. Rispetto al loading plot precedente, i sensori sono distribuiti in tutto lo spazio, contribuendo nella loro totalità a



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

discriminare fra di loro tutte le classi di campioni (fig. 33). Questo sia per la prima componente principale che per la seconda componente principale. Va sottolineato che le matrici dei due gruppi di analisi non sono confrontabili sia per la durata dell'infestazione sia per forma. Nel primo gruppo i campioni erano sotto forma di fette, nel secondo i campioni erano a "tocchetti".

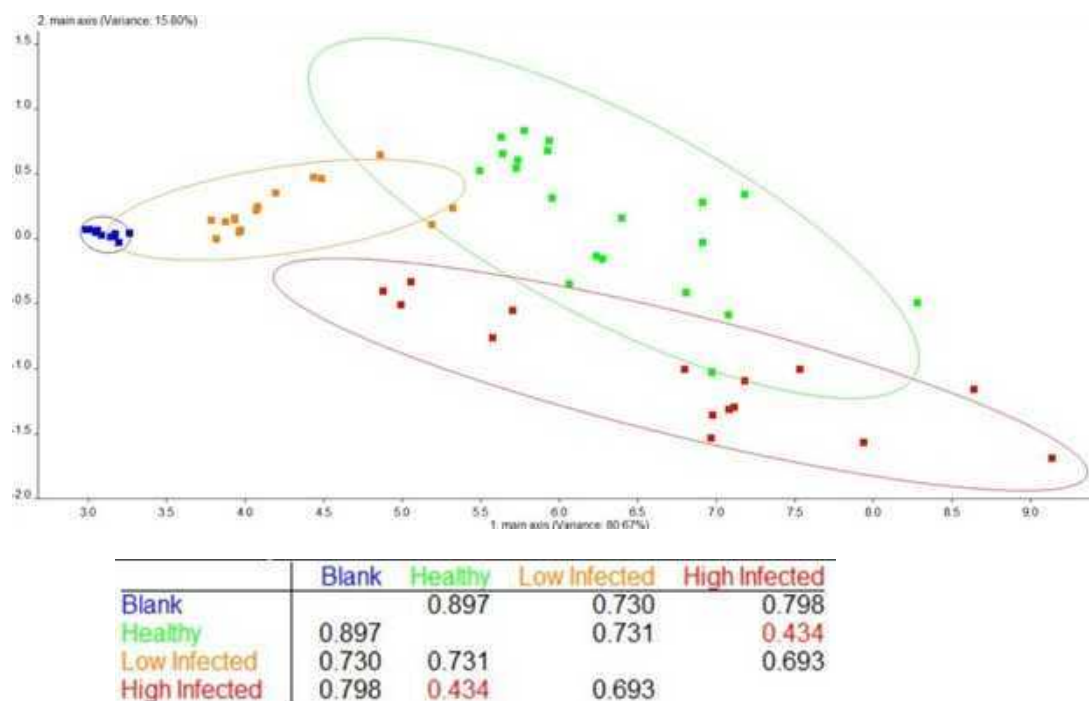


Figura 32 Score plot dei campioni del secondo gruppo di analisi con relativa tabella dei valori della discriminazione dei campioni.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

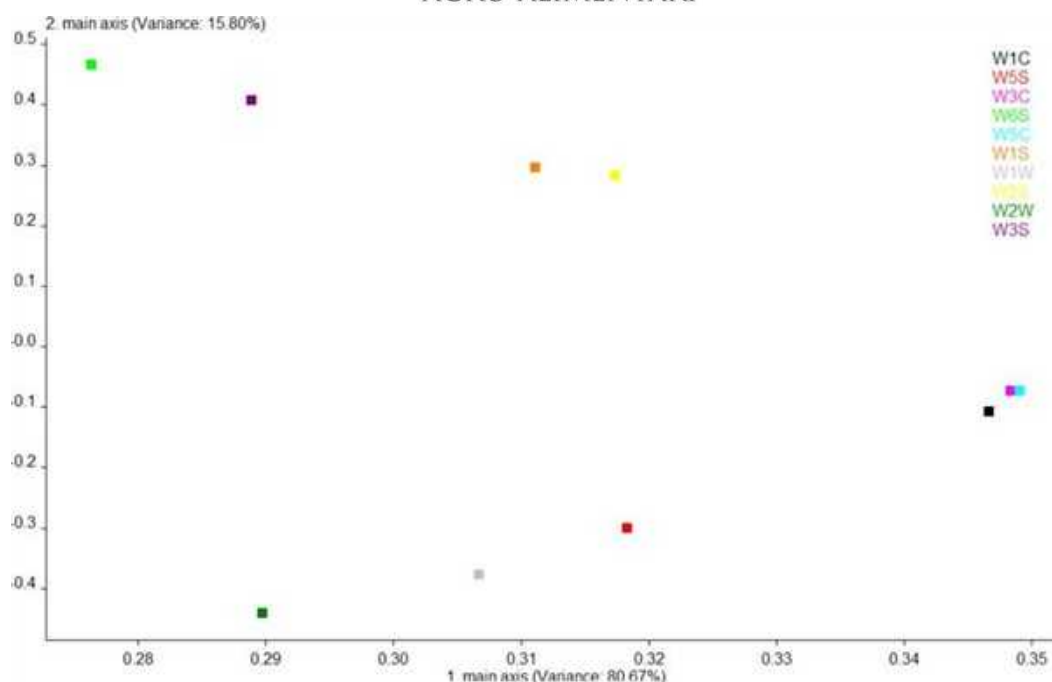


Figura 33. Loading plot dei campioni del secondo gruppo di analisi.

Per quanto riguarda i dati ottenuti mediante l'analisi di campioni da 1 kg anche in questo caso si evidenzia un buon livello di discriminazione tra le diverse tipologie di campione, infestato e non infestato. Le due componenti principali spiegano rispettivamente 93,84% della varianza (prima componente principale) e il 5,77% della varianza (seconda componente principale), per una varianza totale del 99,61% (fig. 34). Il gruppo dei sani si discrimina dai bianchi per un 89%, i campioni infetti per un 99%. Dai dati si riscontra una discriminazione dei campioni sani dai campioni infestati per un 85%.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

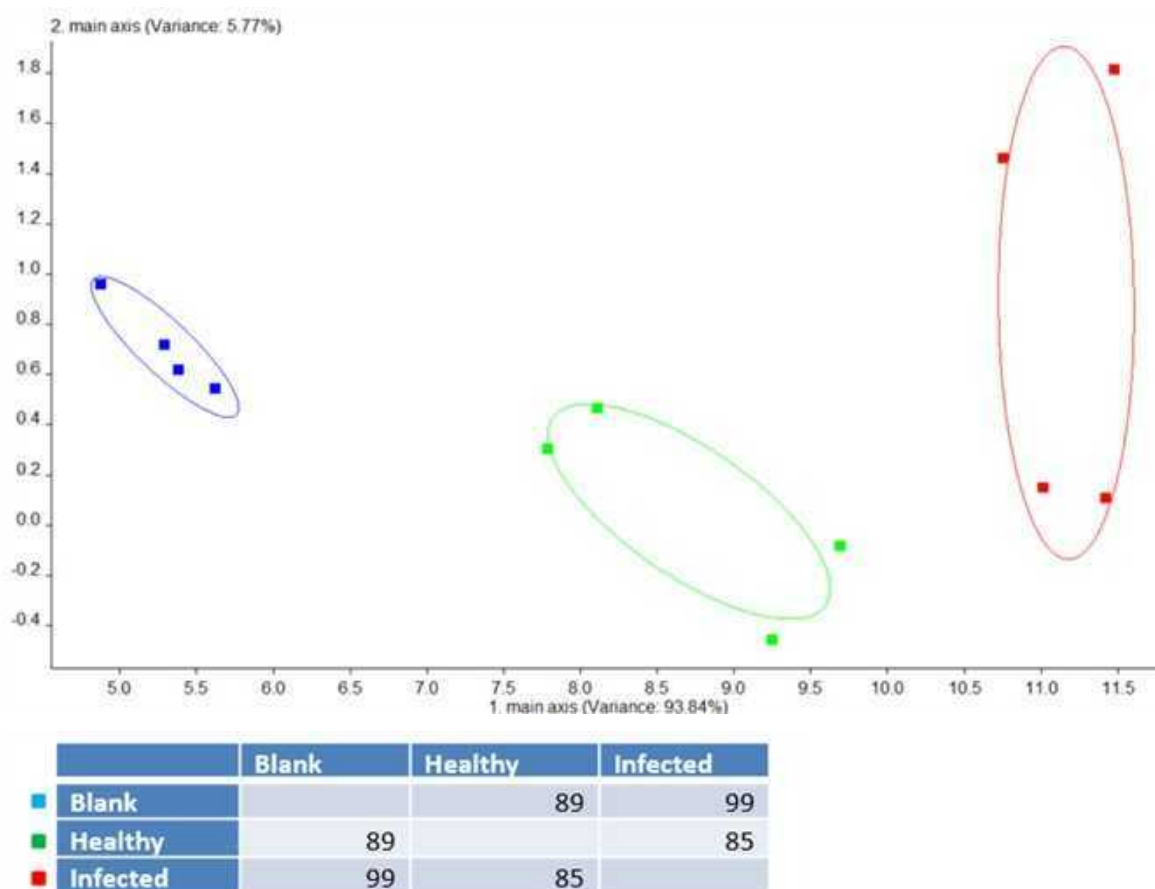


Figura 34. Loading plot delle analisi dei campioni da 1 kg.

I dati ottenuti mediante l'analisi dei prosciutti interi evidenzia un elevato livello di discriminazione tra le diverse tipologie di campione, inizialmente ipotizzate come "infestate" e "non infestate".

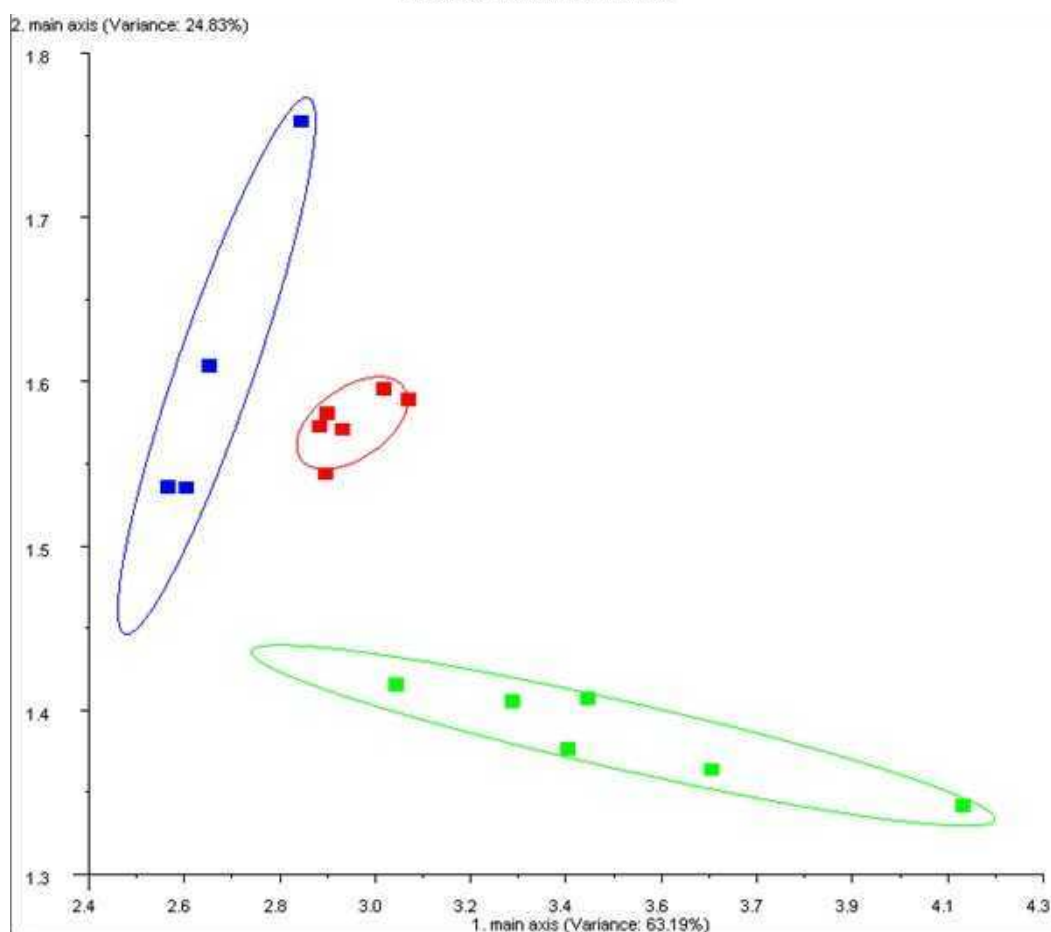
Le due componenti principali (PC) dell'analisi statistica spiegano il 63,19% (PC1) e il 24,83% (PC2) della varianza totale, per un totale del 99,61% (fig. 35).

I campioni sani si discriminano dai "bianchi" (sacchi vuoti) con un'accuratezza del 76%, i campioni infestati dai "bianchi" con un'accuratezza del 90% e i campioni sani dai campioni infestati con un'accuratezza del 59%.

Al fine di convalidare l'infestazione, i campioni di prosciutti sono stati sottoposti ad un'ispezione attenta, che ha incluso un'analisi distruttiva.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI



	Blank	Healthy	Infected
Blank		76	90
Healthy	76		59
Infected	90	59	

Figura 35. Loading plot delle analisi dei campioni di prosciutti interi 9 kg.

5.5 Diagnosi infestazione con ecografia

L'analisi ecografica del prosciutto stagionato ha evidenziato alcune criticità. La presenza della cotenna ha ostacolato la penetrazione degli ultrasuoni, limitando la visibilità delle strutture interne del prodotto. Inoltre, la scarsa componente acquosa del prosciutto stagionato ha reso difficoltosa la propagazione delle onde ultrasoniche, determinando una bassa risoluzione delle immagini.

Tuttavia, l'ecografia potrebbe essere utilizzata come strumento complementare ad altre tecniche analitiche per la valutazione di prosciutti in una fase di prestagionatura. L'analisi di prosciutti non



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

stagionati e dunque con un grado di idratazione maggiore, potrebbe essere usata come metodo di prevenzione evitando l'immissione di tagli infestati all'interno dei prosciuttifici.

6 Discussione dei dati di campo

In questo studio sono stati valutati i principali indici utilizzati per la progettazione di protocolli di allevamento di massa e per lo sviluppo di adeguati programmi di rilascio per la lotta biologica attraverso insetti parassitoidi. Risulta fondamentale la valutazione del grado di parassitizzazione (DP); indice che permette di conoscere la percentuale dei pupari da cui non è sfarfallato il dittero. I valori di DP risultati per i due parassitoidi in analisi sono stati del 64% per *P. vindemiae* e del 32% per *M. raptor*. Tali valori sono risultati adeguatamente elevati per candidare entrambi i parassitoidi come metodi di lotta, specialmente il primo. Il solo valore del grado di parassitizzazione non è sufficiente, è importante associarvi anche l'indice di successo di parassitizzazione (SP), in quanto fornisce anche la probabilità dell'emergenza del parassitoide dal pupario dell'ospite. I valori SP sono risultati del 14% per *P. vindemiae* e del 7% per *M. raptor*. Per quanto riguarda il valore del tasso di emergenza (ER) per entrambi i parassitoidi risulta in linea con l'indice SP, attestandosi al 10% per *P. vindemiae* e del 4% per *M. raptor*. Questi dati sono fondamentali per calcolare il continuo rinnovamento di nuove generazioni di parassitoidi negli ambienti in cui vengono eseguiti i lanci e quindi per l'ottimizzazione della tipologia di lotta biologica, se con lanci di tipo inondativo o di tipo inoculativo. I valori di SP ed ER, dalle prove di campo, non risultano particolarmente elevati. Questo ci indica che l'autorinnovamento di nuove generazioni di parassitoidi, negli ambienti dove vengono eseguiti i lanci, potrebbero risultare non adeguatamente consistenti in numero per continuare la lotta del dittero. Da queste considerazioni, la tecnica di lancio più adeguata per entrambi i parassitoidi risulta con lanci di tipo inondativo. È stato valutato anche l'indice riguardante la durata di vita dell'adulto (LO) attestandosi di 5,27 giorni per *M. raptor* e di 4,21 per *P. vindemiae*. Questi valori permettono di valutare quanto tempo hanno i parassitoidi per compiere le proprie funzioni biologiche, tra cui l'accoppiamento e la parassitizzazione dei pupari. Questo nel caso in cui non abbiano a disposizione fonti alimentari. Va valutato comunque che grazie alla pratica di host feeding, effettuata normalmente dai parassitoidi al momento dell'ovideposizione, tali durate di vita possono essere anche più lunghe. Per ultima è stata valutata la sex ratio (SR) della progenie, che, come ci si aspettava, è molto spostata verso la componente femminile, fattore fondamentale per la lotta con parassitoidi; che si è attestata a 93,3% per *M.*



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

raptor e 95,7% per *P. vindemiae*. Data l'impossibilità di applicazione di lotta chimica direttamente sui prodotti alimentari, l'utilizzo di lotta biologica tramite parassitoidi risulta essere una valida alternativa. Questa operazione permetterebbe di abbattere le infestazioni di *P. casei* nei salumifici senza interrompere il ciclo produttivo. Il trattamento con prodotti chimici degli ambienti, per eliminare le infestazioni, implicherebbe la temporanea interruzione della produzione, per svuotare tutti gli ambienti dai prosciutti in stagionatura. Per evitare lo sviluppo di infestazioni nei salumifici rimane fondamentale l'applicazione di pratiche di prevenzione. Nel caso dei salumifici, bisogna attuare una quarantena momentanea delle cosce di suino al momento di arrivo e in uscita dagli stabilimenti. Questo in associazione all'ispezione visiva dei prodotti oppure con l'utilizzo di pratiche di diagnostica che riconoscano i prosciutti infestati dal dittero. L'utilizzo dell'ecografo è stato considerato come un possibile strumento per compiere tale scopo. Tuttavia l'uso dell'ecografo come metodo di ricerca per la possibile infestazione da *P. casei* ha portato a risultati negativi. Le cause di questo esito sono principalmente due. Una è la presenza della cotenna che funge da schermo, impedendo la penetrazione delle onde ultrasonore e di conseguenza la visualizzazione dell'interno del prosciutto. Diventa quindi impossibile l'identificazione di eventuali larve. Inoltre, il prosciutto stagionato è un prodotto con un basso contenuto di acqua. Tale condizione lo rende una matrice non adeguata per l'utilizzo dell'ecografo, che necessita di un certo grado di umidità per funzionare correttamente. Tuttavia, si suggerisce l'utilizzo dell'ecografo in una fase precedente del processo produttivo, ovvero durante la pre-stagionatura. In questa fase, il prodotto presenta una maggiore idratazione e l'ecografia potrebbe risultare un metodo di ricerca più efficace. L'impossibilità di utilizzare l'ecografo nella fase di stagionatura rende ancora più fondamentale l'utilizzo un'alternativa.

In tal senso uno strumento di indagine potrebbe essere il naso elettronico. In questa sperimentazione è stata valutata la possibile applicazione di tale strumento nei salumifici. Dagli esperimenti condotti in laboratorio si sono raggiunti buoni livelli di discriminazione dei campioni di prosciutto sano da campioni di prosciutto infestato da *P. casei*; tali risultati fanno ben sperare nell'applicazione di questa tecnica in futuro. La sperimentazione, eseguita in condizioni di laboratorio ha permesso di creare un dataset per l'allenamento del naso elettronico al fine della sua applicazione in campo.

I risultati dell'analisi effettuate su prosciutti interi in sala di stagionatura dimostrano l'efficacia del naso elettronico per la discriminazione di prosciutti infestati da *Piophilidae casei*. L'elevata



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

accuratezza ottenuta nella distinzione tra campioni sani e infestati conferma il potenziale del metodo per lo sviluppo di un sistema di controllo qualità non invasivo e affidabile.

La ricerca continuerà per ottimizzare il sistema di analisi e per validarlo su un campione più ampio di prosciutti in differenti condizioni di stagionatura. L'obiettivo finale è l'implementazione del metodo in stabilimento per un controllo qualità non invasivo e automatizzato.

BIBLIOGRAFIA

- BACHMANN, M., 1918. *Biologische beobachtungen uber die kasefliege*. Ent. Zeitschr., Issue 31.
- BLASIOLI, S., BIONDI, E., BRASCHI, I., MAZZUCCHI, U., BAZZI, C., GESSA, C.E. , 2010. *Electronic nose as an innovative tool for the diagnosis of grapevine crown gall*. Ann. Chim Acta 672, 20–24.
- BUCHELI, S.R., BYTHEWAY, J.A., PUSTILNIK, S.M., FLORENCE, J. , 2009. Insect Successional Pattern of a Corpse in Cooler Months of Subtropical Southeastern Texas. *Journal of Forensic Sciences* 54, 452–455.
- DESHMUKH, S., BANDYOPADHYAY, R., BHATTACHARYYA, N., PANDEY, R.A., JANA, A., 2015. Application of electronic nose for industrial odors and gaseous emissions measurement and monitoring – An overview. *Talanta* 144, 329–340.
- DOMENICHINI, G., 1997. *Atlante delle impurità solide negli alimenti*. Chirioti Editori. Bologna.
- FEDERALIMENTARE CENSIS, 2023. *Il valore economico e sociale dell'industria alimentare italiana*, maggio 2023, 21 pp.
- GARDNER, J.W., BARTLETT, P.N., 1999. *Electronic Noses: Principles and Applications*. Oxford University Press.
- GLISZCZYŃSKA-ŚWIGŁO, A., CHMIELEWSKI, J., 2017. Electronic Nose as a Tool for Monitoring the Authenticity of Food. *A Review. Food Anal. Methods* 10, 1800–1816.
- JIA, W., LIANG, G., JIANG, Z., WANG, J., 2019. Advances in Electronic Nose Development for Application to Agricultural Products. *Food Anal. Methods* 12, 2226–2240.
- JIA, W., LIANG, G., WANG, Y., WANG, J., 2018. Electronic Noses as a Powerful Tool for Assessing Meat Quality: a Mini Review. *Food Anal. Methods* 11, 2916–2924.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

- LEWIS, C.A., KAUFMAN, P.E., 2018. Cheese (or Ham) Skipper, *Piophilidae* (Linnaeus) (Insecta: Diptera: Piophilidae), University of Florida's Institute of Food and Agricultural Sciences site.
- LIU, D., GREENBERG, B., 1989. Immature Stages of Some Flies of Forensic Importance. *Annals of The Entomological Society of America*.
- LOUTFI, A., CORADESCHI, S., MANI, G.K., SHANKAR, P., RAYAPPAN, J.B.B. , 2015. *Electronic noses for food quality: A review*. Journal of Food Engineering 144, 103–111.
- LYSYK, T.J., 2000. *Relationships Between Temperature and Life History Parameters of Muscidifurax raptor (Hymenoptera: Pteromalidae)*. Environ Entomol 29, 596–605.
- MARCHIORI, C., BARBARESCO, L., 2007. Occurrence of *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani, 1875) (Hymenoptera: Pteromalidae) as a parasitoid of *Megaselia scalaris* (Loew, 1866) (Diptera: Phoridae) in Brazil. Brazilian journal of biology
- MARTINI, A., 2022. *Lezioni del Corso di Parassitologia dei prodotti e delle derrate*, A.A. 2022/'23. Bologna: Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari.
- MAZZETTE, R., COLLEO, M.M., RIU, G., PIRAS, G., PIRAS, F., ADDIS, M., PES, M., PIRISI, A., MELONI, D., MUREDDU, A., SPADA, S., FIORI, M., COINU, M., LENTINI, A., 2010. Production under controlled conditions of “casu marzu” cheese: effect of the *Piophilidae* colonization on microbial and chemical composition of the cheeses. *Italian Journal of Food Safety* 45–54.
- MAZZONI, E., ALDINI, R.N., 2020. *Atti del 10° Simposio “La Difesa antiparassitaria nelle Industrie alimentari e la Protezione degli Alimenti.”* Chiriotti Editori.
- MEYER, J.A., MULLENS, B.A., CYR, T.L., STOKES, C. , 1990. Commercial and Naturally Occurring Fly Parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) as Biological Control Agents of Stable Flies and House Flies (Diptera: Muscidae) on California Dairies. *J. Econ Entomol.* 83, 799–806.
- MISSERE, D., MARTINI, A., BURGIO, G., 2023. Evaluation of *Pachycrepoideus vindemmiae* and *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) as biological control agents of *Piophilidae* (Diptera: Piophilidae) in ham production facilities. *J Insect Sci* 23.
- MOHD ALI, M., HASHIM, N., ABD AZIZ, S., LASEKAN, O. , 2020. *Principles and recent advances in electronic nose for quality inspection of agricultural and food products*. Trends in Food Science & Technology 99, 1–10.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

- MOTE, D.C., 1914. The Cheese Skipper (*Piophilha casci* Linne) : 1. An Account of the Bionomics and the Structure of Dipterous Larvae Occuring in Human Foods with Particular Reference to those which have been Recorded as Accidental Parasites of Man.
- NADEL, H., LUCK, R.F., 1985. Span of Female Emergence and Male Sperm Depletion in the Female-biased, Quasi-gregarious Parasitoid, *Pachycrepoideus vindemiae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 78, 410–414.
- NOCERA, E., CROTTI, D., 2009. Accidental miasis caused by *Piophilha casei*: a case report. *Microbiologia Medica* 24.
- NØSTVIK, E., 1954. Biological Studies of *Pachycrepoideus dubius* Ashmead (Chalcidoidea: Pteromalidae), a Pupal Parasite of Various Diptera. *Oikos* 5, 195–204.
- PAGANI, M., SAVOLDELLI, S., SCHIAPARELLI, A., 2010. *Manuale pratico per il monitoraggio e riconoscimento degli insetti infestanti le industrie alimentari : Diptera, Coleoptera, Hymenoptera : Cenni sugli acari delle derrate.*
- PEREZ, S., 1927. *The Cheese Skipper as a Pest in Cured Meats.*
- PERIS, M., ESCUDER-GILABERT, L., 2016. Electronic noses and tongues to assess food authenticity and adulteration. *Trends in Food Science & Technology* 58, 40–54.
- PHILIP B. MORGAN, 1981. *Status of Biological Control of Filth Flies: Proceedings of a Workshop*, University of Florida, Gainesville. Agricultural Research (Southern Region), Science and Education Administration, U.S. Department of Agriculture.
- RIDGEWAY R. L., VINSON S. B., 1977. *Biological Control by Augmentation of Natural Enemies.*
- SACCHI, L., GRIGOLO, A. CESTARI, G., 1971. Note e osservazioni. Un metodo di allevamento di *Piophilha casei* L. *Rivista di parassitologia*, 32(8): 299-301.
- SAKHAROV, N.L., 1921. *Die Schadlinger Der Fischprodukte Im Astrachan'schen Gouverment.* 6.
- SCHOLL, P.J., DOUGLAS, D.C., RAMÒN, C.P., 2019. *Myiasis (Muscoidea, Oestroidea)*, in: *Medical and Veterinary Entomology.* Academic Press, pp. 383–419.
- SMITH, L., RUTZ, D.A., 1991. Microhabitat Associations of Hymenopterous Parasitoids that Attack House Fly Pupae at Dairy Farms in Central New York. *Environ Entomol*
- SMITH EH, WHITMAN RC., 2003. *Ham/Cheese Skipper.* In National Pest Control Association Field Guide to Structural Pests: Stored Product Pests. Fairfax, VA.
- SUMAN, M., RICCI, C., DALCANALE, E., SENSI, L., BERSELLINI, U., 2002. *Sistemi*



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

olfattivi artificiali: da strumenti di ricerca ad apparecchi per il controllo di qualità degli imballi alimentari.

SÜSS, L., LOCATELLI, D. P., 2001. *I parassiti delle derrate*. 1 a cura di: Calderini Edagricole. Bologna.

SÜSS, L. AND LOCATELLI, D.P., 2003. *Efficacy of sulfuryl fluoride on stored product insects in a semolina mill trial in Italy*. In *Advances in stored product protection. Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection*, York, UK, 22 -26 July 2002 (pp. 884-887). CABI Publishing.

SÜSS, L., LOCATELLI, D.P. AND MARRONE, R., 1999. Mating suppression of the Mediterranean flour moth (*Ephestia kuehniella* Zeller)(*Lepidoptera Pyralidae*) in a food industry. *Boll. Zool. Agrar. Bachic. Ser II*, 31, pp.59-66.

TORMOS, J., BEITIA, F., BÖCKMANN, E.A., ASÍS, J.D., FERNÁNDEZ, S. , 2009. The Preimaginal Phases and Development of *Pachycrepoideus vindemmiae* (Hymenoptera, Pteromalidae) on Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). *Microsc Microanal* 15, 422–434.

TRIPLEHORN CA, JOHNSON NF., 2005. *Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects*, 7th edition. Thomson Brooks/Cole Publishers. 864 pp.

TUCKER, P.E.K., NICHOLAS S. G., 2022.: A Parasitoid *Muscidifurax raptor* Girault & Sanders (*Insecta: Hymenoptera: Pteromalidae*).

UFFICIO ECONOMICO DI ASSICA, 2023. Analisi del settore e dati economici. L'Industria Delle Carni E Dei Salumi, giugno 2023, 154 pp.

VINSON, S., 1990. How parasitoids deal with the immune system of their host: An overview. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*.

VINSON, S.B., 2003. *Host Selection by Insect Parasitoids*

WANG, X.G., MESSING, R.H., 2004. Two different life-history strategies determine the competitive outcome between *Dirhinus giffardii* (Chalcididae) and *Pachycrepoideus vindemmiae* (Pteromalidae), ectoparasitoids of cyclorrhaphous Diptera. *Bulletin of Entomological Research* 94, 473–480.

WOJNOWSKI, W., MAJCHRZAK, T., DYMERSKI, T., GĘBICKI, J., NAMIEŚNIK, J. , 2017. Portable Electronic Nose Based on Electrochemical Sensors for Food Quality Assessment. *Sensors* 17, 2-14.



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI

- WTLLE, J., 1921. Biologische Und Physiologische Beobachtungen Und Versuche An Der Kasefliegenlarve (*Piophila Casei* L.).
- ZUZKA, J., 1978. *Autogeny in Piophila casei* (Diptera, Piophilidae) *Folia Parasitologica*, , 25(2):173-177.

RELAZIONE TECNICA

INDICE:

PREMESSA 2

OBIETTIVO 2

INDIVIDUAZIONE PRODOTTI IDONEI PER CARATTERISTICHE TECNICHE 2

CONCLUSIONI 4

PREMESSA

La presente relazione viene redatta come documento a supporto delle altre relazioni per la conclusione del progetto “controllo di *Piophilina Casei* (Diptera *Piophilidae*) nei locali di stagionatura dei prosciuttifici presso Salumificio S. Paolo S.r.l. di Traversetolo (Pr): monitoraggio, uso di *Pachycrepoideus vindemiae* e *Muscidifurax raptor* come agenti di controllo biologico e metodi diagnostici”, finalizzato all’ottenimento di risultati relativi alla diminuzione del numero di insetti presenti all’interno delle sale di stagionatura al fine di preservare il prodotto finale ovvero il prosciutto.

OBIETTIVO

L’obiettivo dello studio effettuato da MondoNovoElectronics, in relazione allo studio indicato in premessa, è stato quello di studiare la fattibilità per l’automazione di un processo di pulizia mediante l’uso di aspirapolvere industriale smart nel settore alimentare

INDIVIDUAZIONE PRODOTTI IDONEI PER CARATTERISTICHE TECNICHE

Lo studio di fattibilità relativo alle attrezzature per aspirazione si è concentrato secondo le seguenti fasi:

1. prima fase relativa alle ricerche di mercato finalizzate all’individuazione di tipologie di dispositivi aventi caratteristiche distintive tali da differenziarli per caratteristiche tecniche, segmenti applicativi e prezzo;
2. seconda fase relativa allo studio delle caratteristiche tecniche e funzionali dei dispositivi selezionati nella fase uno
3. terza fase relativa al test dei robot individuati presso le sale di stagionatura

Dalla ricerca condotta sono stati scelti per la fase due i seguenti dispositivi:

- Robot aspiratore da pavimento Ecovacs X1 Omni
- Robot aspiratore da pavimento Makita drc300z
- Spazzatrice autonoma da pavimento Kemaro k900

Nella fase due sono quindi stati testati e messe a confronto le caratteristiche tecniche dei seguenti 3 dispositivi il cui esito viene riportato nella tabella seguente:

Modello	Settore	Fascia prezzo €	Lidar	Gestione Mobile	Gestione Cloud	Caratteristiche di pulizia
Ecovacs X1 Omni	Consumer	1.000	✓	✓ (buona)	✓ (buona)	Aspirazione, tamburo raccolta, lavaggio rotativo
Makita drc300z	Professionale	2.500	✓	✓		Aspirazione, tamburo raccolta,
Kemaro k900	Professionale	25.000	✓			Aspirazione, tamburo raccolta

Modello	Batteria	Costruzione/Telaio	Qualità aspirazione/pulizia
Ecovacs X1 Omni	5200 mAh	Robustezza circa sufficiente, dimensioni adeguate	Molto buona
Makita drc300z	5000 x 2 mAh	Adeguate, dimensioni al limite massimo	Molto buona
Kemaro k900	np	Troppo ingombrante	Molto buona

In tutti i casi analizzati sono stati quindi rilevati una serie di pro e di contro come da indicazioni riportate nella tabella.

Nell'ambiente di test caratterizzato da umidità ed elevata presenza di grasso animale dovuto alla stagionatura, tutti i dispositivi hanno rilevato la necessità di essere sottoposti a manutenzione frequente. Il grasso, infatti, data la sua natura, agisce sul funzionamento del robot, bloccandolo e quindi il meccanismo e le spazzole del robot necessitano di pulizia frequente.

Due dei tre dispositivi, ovvero l'Ecovacs e il Makita hanno fornito risultati accettabili per compattezza e navigazione automatica (gestione mobile), stante anche la necessità di passare agilmente attraverso i supporti presenti nelle sale di stagionatura.

L'Ecovacs, come prodotto dedicato al mercato consumer, dispone di una piattaforma di gestione da remoto e multiutente molto evoluta, seppur ancora non completamente affidabile e robusta, è ampiamente sviluppata e funzionante.

Il robot Makita dedicato al mercato professionale ha un sistema di gestione wi-fi locale senza la possibilità di monitorare e gestire da remoto la macchina. Per sopperire a questa mancanza, è stata sperimentata la possibilità di inserire l'applicazione in un dispositivo Android controllabile da remoto che permetterebbe un sistema di automazione e gestione a distanza.

La spazzatrice autonoma da pavimento Kemaro k900 per caratteristiche tecniche, dimensionali e di prezzo si è dimostrata non essere idonea alla pulizia all'interno delle sale di stagionatura dei prosciuttifici.

Nella fase tre sono stati testati i due dispositivi selezionati nella fase due ovvero il Makita e l'Ecovacs.

In tutte le principali sessioni di test effettuate, si è riscontrato un livello medio-alto di deposito di grassi sulla pavimentazione delle sale di stagionatura del Prosciuttificio San Paolo.

Entrambi i Robot aspiratori sono riusciti a migliorare lo standard di pulizia e a ridurre considerevolmente la presenza, sui pavimenti, delle larve di *Piophilidae*.

CONCLUSIONI

Da quanto emerso dallo studio di fattibilità descritto in precedenza e dagli esiti positivi dei test effettuati sui due robot Makita ed Ecovacs, si potrebbe valutare:

- un ulteriore macchinario industriale con caratteristiche di compattezza accettabili ed una fascia prezzo più elevata rispetto ai due precedenti che si attesta intorno ai € 6.000 (ad esempio distributore Ica System Spa);
- acquisto multiplo di robot per garantirne l'utilizzo anche durante le attività di manutenzione dei robot con la logica della rotazione (robot di scorta/muletti in sostituzione).
- la definizione di un piano di manutenzione che preveda una pulizia frequente dei dispositivi e messa in funzione del dispositivo di scorta per garantire un piano di servizio continuativo.