



TIPO DI OPERAZIONE

16.1.01 - Gruppi operativi del partenariato europeo per la produttività e la sostenibilità dell'agricoltura

DELIBERAZIONE DELLA GIUNTA REGIONALE N. 153 del 10/02/2020

FOCUS AREA 3A

RELAZIONE TECNICA FINALE

DOMANDA DI SOSTEGNO 5200017

DOMANDA DI PAGAMENTO 5700470

Titolo Piano	Milk_Controllo - Sistemi innovativi di gestione delle produzioni maidicole da granella finalizzate alla riduzione delle micotossine per l'utilizzo nella filiera lattiero casearia legata alle produzioni DOP
Ragione sociale del proponente (soggetto mandatario)	Centro Ricerche Produzioni Animali Soc. Cons. p. A.
Partner del GO	Società Agricola Leona s.s. Società Agricola Bonvy di Bonvicini Luca s.s. Cooperativa Casearia San Lorenzo Società Agricola Cooperativa NUTRISTAR spa Fondazione CRPA Studi Ricerche Università Cattolica del Sacro Cuore Università degli Studi di Ferrara Dinamica Soc. Cons. a.r.l.

Durata originariamente prevista del progetto (in mesi)	24
Data inizio attività	09/03/2021
Data termine attività (incluse eventuali proroghe già concesse)	8/03/2024

Relazione relativa al periodo di attività dal	09/03/2021	al 8/03/2024
Data rilascio relazione	29/03/2024	

Autore della relazione	Mariangela Soldano		
telefono		email	M.Soldano@crpa.it
pec	crpapec@pec.it		

Sommario

Sommario

1 - DESCRIZIONE DEL PIANO	4
2 -DESCRIZIONE PER SINGOLA AZIONE	4
2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI	5
2.2 PERSONALE	18
2.5 COLLABORAZIONI, CONSULENZE ESTERNE, ALTRI SERVIZI	21
2.6 SPESE PER ATTIVITÀ DI DIVULGAZIONE E DISSEMINAZIONE	21
2.7 SPESE PER ATTIVITÀ DI FORMAZIONE E CONSULENZA	22
3 CRITICITÀ INCONTRATE DURANTE LA REALIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ.....	22
4 - ALTRE INFORMAZIONI.....	22
5 - CONSIDERAZIONI FINALI	23
6 - RELAZIONE TECNICA	23

1 - DESCRIZIONE DEL PIANO

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

1.1 STATO 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
Cooperazione	CRPA	Cooperazione	1	1	24	33
Azione 1	Università degli Studi di Ferrara (PE03)	Estrazioni green di molecole bioattive ad azione fungicida da sottoprodotti agroalimentari	1	1	12	14
Azione 2	Università Cattolica del Sacro Cuore (PE02)	Valutazione degli estratti fenolici e terpenici ad azione antifungina	6	6	15	15
Azione 3	Università Cattolica del Sacro Cuore (PE02) /CRPA	Prove agronomiche su mais ad uso zootecnico	6	6	24	18
Azione 4	CRPA	Prove di stalla: comportamento alimentare e performances	6	12	24	33
Azione 5	CRPA	Valorizzazione dei risultati nella filiera lattiero - casearia	12	8	24	33
Divulgazione	CRPA	Divulgazione	1	1	24	33
Formazione	Dinamica	Formazione	12	18	24	24

2 -DESCRIZIONE PER SINGOLA AZIONE

Compilare una scheda per ciascuna azione

2.1 ATTIVITÀ E RISULTATI

Azione	COOPERAZIONE - Esercizio della cooperazione
Unità aziendale responsabile	CRPA
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>Il Gruppo Operativo Milk_Controllo ha confermato alla Regione l'interesse alla realizzazione del Piano con lettera Prot. DOC-2021-0764 del 25/03/2021 e si è costituito in forma di ATS con atto notarile Reg. al n. 2638 del 27/04/2021. Il giorno 12 marzo 2021 si è tenuto il Kick-off meeting del GO ove il referente delle attività del progetto e il responsabile scientifico hanno presentato gli obiettivi e le attività previste ed assieme ai partner sono state pianificate le prime operazioni da compiere.</p> <p>Una successiva riunione del Comitato di Piano si è tenuta il 3 dicembre 2021: il meeting ha avuto lo scopo di presentare, da parte di ogni gruppo di lavoro, le attività svolte con le prime evidenze e di anticipare i prossimi impegni. Il confronto ha permesso anche di pianificare l'attività divulgativa, che ha coinvolto a partire dai primi mesi del 2022 agricoltori, tecnici e portatori di interesse. Ultima riunione del Comitato è avvenuta in data 20 gennaio 2023 dove sono stati illustrati ai partner i risultati in anteprima e programmata la fase finale di disseminazione del piano.</p> <p>Oltre le riunioni del Comitato di Piano, il management staff di CRPA ScpA ha incontrato anche singolarmente i vari partner per verificare la corrispondenza delle attività con quelle assegnate e la tempistica di esecuzione. In particolar modo durante le fasi di sperimentazione di campo i contatti sono stati settimanali.</p> <p>Le attività di project management sono state svolte da CRPA ScpA verificando il corretto svolgimento delle attività del Piano, seguendo le comunicazioni che riguardano la sua gestione, i passaggi di informazioni, la programmazione e la gestione delle attività di divulgazione/informazione. Tali attività sono supportate dal sistema di gestione della qualità (SGQ) CRPA, conforme alla norma ISO 9001/UNI EN ISO 9001:2015. Lo strumento utilizzato per gestire l'SGQ in CRPA è il CRM aziendale.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>Nonostante la richiesta di proroga lo stato di avanzamento del Piano è risultato conforme agli obiettivi previsti e non si segnalano scostamenti dal progetto originario né particolari criticità tecnico-scientifiche emerse durante l'attività. In data 30/11/2022 è stata richiesta una proroga di 12 mesi per motivi legati al COVID e alla situazione metereologica.</p> <p>In data 08/06/2023 è stata inviata alla Regione una comunicazione (DOC-2023-3697) su variazione delle attività del progetto per motivi legati alle condizioni meteorologiche "estreme" di temperatura e siccità dell'estate 2022 che hanno favorito la formazione dei funghi patogeni e nessun trattamento è risultato efficace, in queste condizioni, a contenere la proliferazione fungina osservata sul mais. Le modalità di trattamento e le tempistiche e quindi i costi sono rimasti invariati, come dettagliato nella Azione 4, coinvolta in questa criticità.</p>

Azione 1	Estrazioni green di molecole bioattive ad azione fungicida da sottoprodotti agroalimentari
Unità aziendale responsabile	Università degli Studi di Ferrara (PE03)
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>L'Azione 1 aveva come scopo quello di realizzare un protocollo operativo di estrazione con tecniche green (UAE, Naviglio®, microonde e idro-distillazione) ottimizzato per ottenere estratti ricchi di composti fenolici e terpenici dalle matrici di scarto provenienti dalle imprese agricole coinvolte nel progetto, in particolare Caviro Distillerie (graspi e vinaccioli da uve bianche e rosse, foglie e raspi), Conserve Italia (polpe esauste di pere e mele, scarti di lavorazione di pomodori e fagiolini), Oleificio Brisighellese (sanse) e il birrifico Ex Fabrica (luppolo esausto). Le matrici sono state sottoposte a differenti protocolli estrattivi che prevedevano l'utilizzo di strategie a basso impatto ambientale (ridotto consumo di solventi organici) per ottenere rese significative di biomolecole di interesse (polifenoli, terpeni). In particolare, sono state effettuate macerazioni assistite da ultrasuoni (UAE), da microonde (MAE) e Naviglio® su tutte le matrici di scarto; e distillazione in corrente di vapore su il luppolo esausto dopo birrificazione.</p> <p>Tutti gli estratti sono stati caratterizzati chimicamente con tecniche cromatografiche (HPTLC, HPLC-DAD e GC-MS) per evidenziare i composti chimici maggiormente presenti nelle matrici. Successivamente è stata anche valutata la possibilità di eliminare la componente zuccherina dagli estratti che ne erano particolarmente ricchi.</p> <p>È stata condotta la misura del potenziale biochimico metanigeno (BMP) dei residui dei processi di estrazione tramite il sistema di misura presente presso CRPA Lab, costituito da reattori batch di 1,35 L di volume utile; i test sono stati condotti in mesofilia (38°C) in conformità con la norma UNI EN ISO 11734:2004. I residui delle estrazioni sono stati caratterizzati chimicamente mostrando un contenuto in sostanza organica interessante per il loro utilizzo in digestione anaerobica: difatti la quota di solidi volatili presente nella sostanza secca per la maggior parte dei campioni analizzati è superiore al 93% (tranne in un caso, per la vite di lambrusco pari all'85%). Quindi sono stati sottoposti a test BMP per misurarne la produzione in metano e valutare un ulteriore recupero energetico. I risultati mostrano valori di resa potenziale in metano compresa tra 129 e 306 Nm³CH₄/tSV.</p> <p>Per i dettagli dell'attività tecnica si rimanda all'allegato <u>Milk Controllo-</u> <u>allegato tecnico</u></p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>Gli obiettivi previsti dal piano sono stati pienamente raggiunti e le attività non hanno riportato scostamenti rispetto al piano di lavoro.</p> <p>OBIETTIVI SCIENTIFICI</p> <p>1. Individuazione dei sottoprodotti di filiera agroalimentare da sottoporre ad estrazione. Caviro Distillerie ha fornito graspi e vinaccioli da uve bianche e rosse, foglie e raspi; Conserve Italia le polpe esauste di pere e mele, e gli scarti di lavorazione di pomodori e fagiolini; l'Oleificio Brisighellese le sanse di oliva;</p>

	<p>e i birrifici Ex Fabrica e Birra Mitica il luppolo esausto da cui è stato estratto l'olio essenziale.</p> <p>OBIETTIVO PIENAMENTE RAGGIUNTO</p> <p>2. Estrazione di principi bioattivi dai sottoprodotti sopra elencati. A seconda della natura delle materie prime secondarie sono stati intrapresi percorsi estrattivi che hanno permesso di ottenere estratti a differente polarità.</p> <p>Criticità da evidenziare: il calcolo preliminare dei costi di produzione degli estratti utilizzati per le prove in campo sono superiori a quelli dei prodotti di sintesi normalmente utilizzati in agricoltura. Questo fenomeno potrebbe essere eliminato o calmierato considerando una produzione su scala pilota piuttosto di una laboratoristica.</p> <p>OBIETTIVO PIENAMENTE RAGGIUNTO</p> <p>3. Realizzazione di un protocollo operativo di estrazione con tecniche green ottimizzato per ottenere da ogni matrice di scarto estratti ricchi di composti fenolici e terpenici. In allegato il file con i protocolli estrattivi delle tecniche utilizzate che hanno mostrato il rendimento migliore sia per resa estrattiva che per contenuto di attivi.</p> <p>OBIETTIVO PIENAMENTE RAGGIUNTO</p> <p>4. misura del potenziale biochimico metanigeno (BMP) dei residui dei processi di estrazione</p> <p>OBIETTIVO PIENAMENTE RAGGIUNTO</p> <p>FORMAZIONE Il progetto ha previsto 2 annualità di borse di studio (regolarmente effettuate) per formare personale sui principi delle tecniche di estrazione e caratterizzazione chimica seguendo i principi dell'economia circolare.</p> <p>OBIETTIVO PIENAMENTE RAGGIUNTO</p> <p>DIVULGAZIONE</p> <p>1. Presentazione del progetto al Festival della Cultura Tecnica (Ferrara, 26 novembre 2021);</p> <p>2. Partecipazione agli incontri tecnici del 30 novembre 2022 (Tecnopolo di Reggio Emilia) e del 03 aprile 2023 (in contemporanea streaming tra Università degli Studi di Ferrara, Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza e CRPA);</p> <p>3. Presentazione del progetto alla manifestazione Interno Verde 2023 (Ferrara, 10 settembre 2023).</p> <p>OBIETTIVO PIENAMENTE RAGGIUNTO</p>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Azione 2	Valutazione degli estratti fenolici e terpenici ad azione antifungina
-----------------	--

Unità aziendale responsabile	Università Cattolica del Sacro Cuore (PE02)
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>L'obiettivo dell'attività svolta è stato quello di valutare l'efficacia degli estratti ottenuti da scarti alimentari nel ridurre la contaminazione da funghi micotossigeni e la loro produzione di micotossine. Sono stati testati 14 estratti, preparati e caratterizzati dal gruppo dell'Università di Ferrara. Nello specifico, le prove sono state condotte in piastra Petri, inoculando il fungo e successivamente depositando 1 ml di una soluzione dell'estratto. I funghi considerati sono stati <i>Aspergillus flavus</i>, <i>Fusarium verticillioides</i> e <i>Fusarium graminearum</i>, ovvero i principali responsabili della presenza di micotossine in mais. Sono infatti produttori, rispettivamente, di aflatossine, fumonisine e deossinivalenolo. La valutazione dell'efficacia degli estratti è stata testata confrontando lo sviluppo dei funghi con una piastra di controllo (fungo senza estratto) e la determinazione delle relative micotossine mediante analisi cromatografiche abbinata a fluorimetria o a spettrometria di massa.</p> <p>I risultati emersi dalla sperimentazione sono molto incoraggianti. In particolare, solo alcuni fra i 14 estratti testati hanno avuto un effetto positivo sullo sviluppo fungino, arrivando a riduzioni dal 19% al 51%, che dipendono sia dall'estratto che dal fungo considerato. Per quanto riguarda le micotossine, invece, l'efficacia di riduzione è risultata intorno al 50% per i tricoteceni, al 70% per le aflatossine e all'80% per le fumonisine. Anche in questo caso, l'efficacia degli estratti era legata alla micotossina considerata.</p> <p>1. Conclusioni</p> <p>L'attività svolta ha permesso di valutare in modo concreto alcuni estratti naturali per il contenimento delle micotossine da parte dei principali funghi produttori del mais. I risultati ottenuti ci aiutano nel focalizzare gli obiettivi futuri solo su queglii estratti che hanno mostrato maggiore efficacia sia nel contenimento della crescita fungina che, soprattutto, sulla produzione di micotossine. Ulteriori studi saranno necessari per valutare eventuali azioni sinergiche dovute all'uso contemporaneo di più estratti e al possibile timing di utilizzo in pieno campo.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>Tutti gli obiettivi previsti dall'azione 2 sono stati raggiunti. I dati ottenuti sono stati divulgati sia a livello nazionale (tramite pubblicazione di newsletter sul sito web del progetto e tramite incontri con gli agricoltori) sia a livello internazionale grazie alla pubblicazione di un paper su una rivista con ottimo impact factor (come riportato qui di seguito).</p> <p>Giorni, P.; Bulla, G.; Leni, G.; Soldano, M.; Tacchini, M.; Guerrini, A.; Sacchetti, G.; Bertuzzi, T., 2023 - Enhancement of agri-food by-products: green extractions of bioactive molecules with fungicidal action against mycotoxigenic fungi and their mycotoxins. <i>Frontiers in Nutrition</i>, 10,1196812.</p>

Azione 3	Prove agronomiche su mais ad uso zootecnico
Unità aziendale responsabile	UCSC - CRPA
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>L'obiettivo dell'attività è stato quello di valutare l'efficacia degli estratti ottenuti da scarti alimentari nel ridurre la contaminazione da funghi micotossigeni e la loro produzione di micotossine in prove di campo su mais. Sono stati testati 3 estratti per 2 anni, scegliendo quelli che avevano mostrato i risultati più promettenti nelle prove dell'azione 2. Il campo è stato suddiviso in più parcelle e i dati ottenuti sono stati quindi confrontati tra di loro, considerando anche un trattamento chimico, uno biologico e uno non trattato. Gli estratti sono stati distribuiti in campo nel mese di luglio, nel periodo di fine fioritura, e il mais è stato interamente raccolto a maturazione completa e analizzato per la determinazione della conta fungina e delle micotossine principali del mais, aflatossine, fumonisine, deossinivalenolo e zearalenone, mediante tecniche cromatografiche.</p> <p>La prova di campo è stata effettuata presso l'azienda Leona, partner del progetto, situata a Jolanda di Savoia in provincia di Ferrara. In un campo destinato alla coltivazione di mais è stata identificata un'area a sua volta divisa in parcelle di 4 x 5 metri (circa 90 piante per parcella) per un totale di 18 parcelle; per ogni trattamento sono state effettuate 3 repliche.</p> <p>Dai risultati è emerso che riguardo le rese agronomiche delle diverse parcelle prese in considerazione nei due anni di studio, nessuna differenza è stata rilevata indipendentemente dal trattamento subito in campo.</p> <p>In entrambi gli anni è stata riscontrata un'elevata contaminazione da aflatossine; il primo anno questa è risultata influenzata dai diversi valori di acqua libera riscontrati tra le parcelle e ha determinato quindi variazioni elevate di contaminazione tra replicati della stessa tesi, compromettendo un'eventuale riduzione degli estratti. Nel secondo anno, le tesi trattate con luppolo hanno mostrato una contaminazione media decisamente inferiore rispetto alla tesi non trattata, anche se le differenze non sono risultate significative all'analisi statistica a causa di alcune variabilità tra i replicati. Dalla sperimentazione viene comunque confermato che i livelli di aflatossina si alzano enormemente nei giorni successivi alla maturazione di raccolta. Il mais della prova è stato analizzato dopo 2 settimane rispetto alla maturazione fisiologica della spiga e dalle analisi fatte risulta che il livello di micotossina aumenta lasciando il mais in campo, come già sottolineato dalle linee guida del Ministero dell'agricoltura per la prevenzione delle micotossine in mais. Questo è il motivo per cui, nel secondo anno di sperimentazione, i trattamenti sono stati ripetuti con gli estratti naturali poco prima della raccolta.</p> <p>La prova di campo ha evidenziato la presenza di numerosi aspetti che devono essere affrontati per confermare i risultati positivi ottenuti in vitro. La differente tempistica di raccolta nel primo anno e le sfavorevoli condizioni meteorologiche del secondo anno hanno influenzato l'esito dei risultati determinando un'alta variabilità tra le repliche dei singoli trattamenti. L'estratto di luppolo ha mostrato delle buone riduzioni nella contaminazione da aflatossine in alcuni replicati in entrambi gli anni. Ulteriori prove sono necessarie per ottenere una valutazione sicura sull'efficacia di questi estratti, nelle quali si può valutare un utilizzo di più estratti contemporaneamente, trattamenti misti con fungicida chimico ed estratti al fine di aumentarne l'efficienza riducendo l'uso di prodotti di sintesi e infine l'aggiunta di formulanti che possono aumentare la stabilità nel tempo degli estratti. Inoltre,</p>

	<p>le prove di concia degli estratti sul seme hanno dato dei risultati preliminari molto interessanti sia per un migliore sviluppo della pianta che per la protezione nelle prime fasi di crescita, tanto da prendere in considerazione, per il futuro, di proporre di effettuare prove in campo con semi precedentemente trattati con questi estratti.</p>
<p>Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate</p>	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>Tutti gli obiettivi previsti dall'azione 3 sono stati raggiunti. I dati ottenuti sono stati divulgati a livello nazionale, tramite pubblicazione di newsletter sul sito web del progetto e tramite incontri con gli agricoltori.</p>

Azione 4	Prove di stalla: comportamento alimentare e performances
Unità aziendale responsabile	CRPA
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>L'obiettivo dell'attività prevista in questa azione è stato quello di valutare se le molecole individuate per contrastare lo sviluppo fungino potessero interagire con le caratteristiche del latte di vacche che avessero assunto il mais proveniente dalle attività sperimentali di campo. Si è dovuta accantonare la possibilità di utilizzare tali granelle in quanto dalle analisi sono tutte risultate con concentrazioni di micotossine oltre la soglia di legge per l'uso in alimentazione delle vacche da latte. Per questo si è optato per aggiungere direttamente l'estratto vegetale selezionato, in base ai risultati ottenuti dalle prove di laboratorio e campo (descritte nelle azioni precedenti), a mais sano. Nello specifico, presso l'allevamento di bovine da latte prescelto, sono state individuate 3 vacche in lattazione che sono state mantenute separate dal resto della mandria e che per 15 giorni hanno ricevuto la razione normalmente distribuita in stalla per i capi allo stesso stadio produttivo, ma dove 1 kg di farina di mais della razione è stato sostituito con la stessa quantità di farina di mais trattata con estratto di luppolo.</p> <p>Il latte delle 3 bovine del gruppo "trattato" è stato confrontato dal punto di vista tecnologico con il latte degli altri capi del gruppo "controllo" il giorno prima dell'inizio della somministrazione della farina di mais trattata (T0), dopo 7 giorni di trattamento (T7) e dopo 15 giorni (T15).</p> <p>Nello specifico il latte delle due tesi è stato confrontato considerando questi tre parametri:</p> <ul style="list-style-type: none"> • presenza di inibenti; • resa casearia;

	<ul style="list-style-type: none"> • tempo ottimale di taglio della cagliata (ToT); • consistenza del coagulo al momento del taglio della cagliata. <p>Il secondo obiettivo previsto nell'azione 4 è stata la valutazione dell'efficacia di estratti sulla riduzione di micotossine presenti sulla superficie di formaggi stagionati. Dal caseificio partner Coop. San Lorenzo sito a Prignano sul Secchia (MO) sono state prelevate 2 forme di grana stagionato 7 mesi, tagliate ad una profondità di 10 cm sotto la crosta e i campioni così ottenuti sono stati portati nei laboratori dell'università di Piacenza. Le croste con la parte sottostante sono state successivamente tagliate in cubi di 6 x 6 cm ed inoculate con i funghi micotossigeni <i>Penicillium nordicum</i> e <i>Aspergillus versicolor</i>. Anche una tesi non trattata è stata considerata nell'esperimento. Al termine della prova, le croste sono state grattate e sul grattugiato è stata effettuata l'analisi per la determinazione di sterigmatocistina e ocratossina.</p> <p>Per l'attività di alimentazione in stalla, nelle condizioni della prova:</p> <ul style="list-style-type: none"> • la somministrazione di mais additivato di estratto di luppolo non ha modificato l'utilizzazione digestiva della razione e la composizione delle feci, sovrapponibile in capi del controllo e del trattato che hanno consumato una razione identica per la quota di mangimi e a volontà per tutti i capi per quanto attiene la base foraggera <p>Per l'attività di caseificazione, nelle condizioni della prova:</p> <ul style="list-style-type: none"> • il latte proveniente dal gruppo di vacche che ha consumato il mais trattato è risultato negativo per la presenza di inibenti, così come quello del controllo; • le differenze di resa casearia sono imputabili alla diversa composizione del latte e non a un effetto della sostanza utilizzata per trattare il mais, • il tempo di coagulazione è risultato uguale per le due tesi in tutti e tra gli step: prima dell'inizio della prova di alimentazione, dopo una settimana e alla fine della prova, • anche eventuali differenze nella consistenza del coagulo al momento del taglio della cagliata (T=0) sono imputabili alle differenze nella composizione del latte. Durante la prova e a fine prova non ci sono differenze significative riguardo la consistenza del coagulo, • la performance della fermentazione del siero di fine lavorazione ottenuto nelle prove proveniente dal latte del gruppo di vacche alimentate con il mais trattato non è risultato diverso da quello ottenuto a partire del latte del gruppo di controllo. <p>La dose di estratto antifungino applicata sul mais trattato somministrato alle bovine non ha influenzato le caratteristiche del latte né la sua attitudine alla caseificazione.</p> <p>Per l'attività di valutazione dell'efficacia degli estratti sulla superficie di formaggi stagionati, i risultati sono stati soddisfacenti osservando riduzioni importanti sulle croste trattate con estratti naturali.</p>
<p>Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate</p>	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>Le condizioni meteorologiche "estreme" di temperatura e siccità dell'estate 2022 hanno favorito la formazione dei funghi patogeni e nessun trattamento è risultato efficace, in queste condizioni, a contenere la proliferazione fungina osservata sul mais. Quindi queste materie prime non potevano essere utilizzate ai fini sperimentali in condizioni di allevamento reale, come previsto dal piano del GO. In tal senso si è deciso di procedere con la seguente variazione (comunicata) nell'attività del progetto rispetto a quanto previsto in</p>

	<p>progettazione: le prove di alimentazione in stalla sono state effettuate, scegliendo l'estratto che ha ottenuto i risultati migliori in vitro in termini di riduzione di contaminazione da aflatoxine e fumonisine ed utilizzato, con le stesse dosi e concentrazioni somministrate nelle piante nelle prove in campo, su mais "pulito" da micotossine reperito presso produttori di mangimi. La procedura della prova di alimentazione e la successiva valutazione sulla produzione del latte e sull'efficienza alimentare è rimasta invariata rispetto a quanto previsto nel progetto senza variazioni nel numero di campioni e di analisi e quindi nei costi previsti nell'azione 4. In fase di progetto i partner hanno ritenuto di non procedere con le prove di valutazione antifungina delle superfici delle forme di formaggi nel caseificio partner data la necessità di inoculare il fungo sulle forme da testare e quindi di evitare il rischio di contaminazioni degli ambienti di stoccaggio. Si è proceduto quindi con il trattamento del formaggio in laboratorio riproducendo le condizioni di conservazione (temperatura e umidità). Le modalità di trattamento e le tempistiche e quindi i costi sono rimasti invariati.</p>
--	---

Azione 5	Valorizzazione dei risultati nella filiera lattiero - casearia
Unità aziendale responsabile	CRPA
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>Nell'azione 5 si è proceduto a quantificare gli impatti ambientali, in termini di impronta carbonica e idrica, della produzione di latte destinato alla filiera del Parmigiano Reggiano dell'azienda zootecnica partner del progetto.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Impronta carbonica <p>Le emissioni di tutti i potenziali gas serra GHG (CO₂, N₂O e CH₄) emessi sia dalla produzione di latte nell'azienda zootecnica oggetto d'indagine è stata determinata applicando la metodologia LCA (Life Cycle Assessment) secondo le norme internazionali (norme ISO 14040-44:2006 e ISO14067:2018). Il risultato dell'impronta carbonica è stato espresso in termini di kg di CO₂ equivalente su kg di latte "Standardizzato" (FPCM Fat and protein corrected milk), ovvero corretto per la percentuale di grassi e proteine. Il kg di latte FPCM rappresenta l'unità funzionale della fase di produzione di latte. In considerazione degli obiettivi dello studio, il sistema riguarda tutti i flussi di materiali, di energie e di trasporti relativi alla produzione di latte dell'azienda zootecnica analizzata nell'ambito del presente GOI, secondo l'approccio from cradle to farm gate. Il sistema include le emissioni di GHG che avvengono nell'azienda zootecnica, quali le emissioni enteriche delle bovine, le emissioni dalla fase di gestione delle deiezioni, le emissioni derivanti dall'uso delle fonti energetiche, e quelle che avvengono nella fase di coltivazione dei terreni aziendali su cui vengono prodotti esclusivamente gli alimenti destinati alla alimentazione del bestiame, quali le emissioni di protossido di azoto dovute alle fertilizzazioni azotate e le emissioni derivanti dall'uso dei combustibili per le macchine agricole. Il sistema include, inoltre, le emissioni di GHG indotte dalla produzione dei mezzi tecnici utilizzati in azienda. I confini del sistema analizzato hanno incluso tutti gli input di materiali necessari alla produzione e si sono fermati al cancello</p>

	<p>dell'azienda, rimane perciò esclusa la fase di trasformazione del prodotto con il processo di caseificazione.</p> <p>La produzione di latte dell'azienda Bonvy è risultato avere un'Impronta Carbonica (IC) pari 1,67 kg CO₂eq/kg latte. Sul totale dell'impronta i processi che incidono maggiormente sono i processi di fermentazioni enteriche (33%), l'acquisto di alimenti extra-aziendali (31%) e la gestione degli effluenti (21%). I contributi dei singoli processi sono riportati nel grafico sottostante</p> <p>Il risultato ottenuto è in linea con quanto riportato da diversi studi presenti in letteratura sull'impatto ambientale della produzione di latte, che identificano un range di Impronta Carbonica compreso tra 1,2 e 1,8 kg CO₂eq/kg latte FPCM (Climate ChangE-R" (2013-2016), Nemecek T. & Alig M. (2016), Battini (2016)). In particolare Battini stima l'impatto per la produzione di latte da Parmigiano Reggiano in montagna e collina dell'ordine di 1,6 kg CO₂eq/kg latte FPCM, risultato equivalente a quello ottenuto dalla presente progetto.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Impronta idrica <p>L'Impronta idrica, Water Footprint (WF) o Impronta Idrica (II) della produzione di un prodotto si può definire come il volume totale di acqua necessario a supportare tutte le attività produttive.</p> <p>Per il calcolo della WF si fa riferimento alla metodologia sviluppata da Hoekstra et al. (2011). Secondo la ISO 14046, gli impatti sul consumo e sulla degradazione della risorsa idrica sono espressi mediante differenti categorie d'impatto, analoghe a quelle comunemente utilizzate negli studi LCA. Nel nostro caso le differenti categorie riguardano principalmente i consumi derivati dalle produzioni agricole per i fabbisogni alimentari e le risorse idriche necessarie alla gestione della stalla. Il risultato finale dell'analisi è stato espresso su kg latte, come per l'Impronta Carbonica (IC).</p> <p>Come indicato dalla fase di progettazione, il computo globale della WF è dato dalla somma di tre componenti: acqua blu, verde e grigia.</p> <p>L'impronta idrica totale è stata stimata in 1.449.839 m³, derivanti quasi esclusivamente dalla fase di alimentazione. Considerando come unità funzionale il kg latte il risultato finale è stato di 862 litri di acqua per kg di latte. Considerando il peso delle tre diverse frazioni di acqua (verde, blu e grigia), si nota come l'acqua verde risulta di gran lunga la più elevata 571 l/kg di latte (verde). Tuttavia come abbiamo descritto nel capitolo precedente si tratta di una quota dovuta ai processi evaporazione, le quote da considerare sono quindi l'acqua blu e grigia, che sono gli indicatori ambientali più importanti, le quali sono rispettivamente 60 l/kg di latte (blu) e 232 l/kg di latte (grigia).</p>
<p>Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate</p>	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>Gli obiettivi previsti dal piano sono stati pienamente raggiunti e le attività non hanno riportato scostamenti rispetto al piano di lavoro.</p>

Azione <input type="checkbox"/>	Divulgazione <input type="checkbox"/>
Unità aziendale responsabile	CRPA
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>L'Azione divulgazione ha messo in atto tutte le strategie comunicative programmate, realizzate in parallelo alle altre azioni del progetto.</p> <p>Nei primi mesi di avvio del piano è stata ideata la linea grafica che ha caratterizzato tutto il materiale divulgativo. È stato realizzato e attivato un sito dedicato (http://milkcontrollo.crpa.it/nqcontent.cfm?a_id=22319), che si compone di una home page con carosello, news in primo piano e diverse sezioni tra cui “progetto”, “blog”, “documenti”, “contatti”. Le varie sezioni sono state implementate nel tempo riportando news, contenuti e prodotti divulgativi del progetto. Sono inoltre state attivate le statistiche di registrazione e gestione dei contatti.</p> <p>Una sezione dedicata al progetto Milk_Controllo è stata condivisa anche sulla pagina del sito goi.crpa.it (http://goi.crpa.it/nqcontent.cfm?a_id=22936&tt=t_bt_app1_www) e sul sito della Fondazione CRPA Studi e Ricerche (https://www.fondazionecrpa.it/prodotto/goi-milk_controllo).</p> <p>Si è dato comunicazione ai giornalisti dell'avvio delle attività del GO e delle prime sperimentazioni con l'invio del 1° comunicato stampa, a giugno 2021.</p> <p>Un roll up da utilizzare durante gli eventi è stato realizzato a settembre 2021.</p> <p>Sono stati svolti 2 giornate tecniche con visite guidate e un convegno finale:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ 1° Giornata tecnica con visita guidata “Sistemi innovativi e green per la riduzione delle micotossine nel mais”, realizzata il 30 novembre 2022, al Tecnopolo di Reggio Emilia con visita aziendale virtuale attraverso le riprese del servizio tv e visita guidata ai laboratori CRPA (caseificio sperimentale e laboratorio chimico); in tal occasione si è distribuito del materiale informativo, in cartelline personalizzate, dei risultati del primo anno di attività. Invio del programma dell'evento con la newsletter CRPAInforma-20 e 21/2022. Erano presenti all'evento n. 19 portatori d'interesse. Di seguito le presentazioni: <ul style="list-style-type: none"> · L'esperienza dei Gruppi Operativi per l'Innovazione in Emilia-Romagna a cura di Piero Pastore Trosello – Regione Emilia-Romagna; · progetto MILK_Controllo a cura di Mariangela Soldano – CRPA SCPA; · Circolarità e sostenibilità della filiera produttiva: vinacce, trebbie ed altri scarti a cura di Massimo Tacchini – Università di Ferrara; · Gli estratti da prodotti di scarto per il contenimento delle infezioni micotossigene nel mais a cura di Paola Giorni – UCSC; · Uso di prodotti di scarto nella coltivazione dei cereali: una possibile alternativa ai prodotti commerciali? A cura di Terenzio Bertuzzi – UCSC; ➤ 2° Giornata tecnica “Controllo delle micotossine nel mais mediante un approccio circolare e green” realizzata il 3 aprile 2023, in presenza contemporaneamente nelle due sedi dell'Università di Piacenza e Ferrara, con diretta streaming da Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza a Università di Ferrara; la visita aziendale è stata fatta virtualmente attraverso la visione del servizio tv realizzato. L'invito è stato spedito tramite la newsletter CRPAInforma-5 il 10/03/23 e recall al target di progetto composto da agronomi, allevatori di bovini da latte, coltivatori, facoltà di agraria, mangimifici, istituzionali, il 03/03/23. Partecipanti n. 38. Di seguito le presentazioni: <ul style="list-style-type: none"> · L'innovazione, la formazione e la consulenza per il settore agricolo ed agroalimentare dell'Emilia-Romagna a cura di Piero Pastore Trosello – Regione Emilia-Romagna (in collegamento streaming); · Il progetto MILK_Controllo a cura di Mariangela Soldano – CRPA SCPA;

- Valutazione fitochimica di estratti di scarti della filiera agro-alimentare a cura di Massimo Tacchini – Università di Ferrara;
- Effetto di alcuni estratti green sui principali funghi micotossigeni del mais a cura di Paola Giorni – UCSC;
- Molecole bioattive da scarti alimentari per il controllo in campo delle micotossine a cura di Terenzio Bertuzzi – UCSC.

➤ Convegno finale “Uso degli estratti da scarti vegetali dell’industria alimentare per contrastare lo sviluppo di micotossine su mais” presso Tecnopolo di Reggio Emilia il 12 ottobre 2023. L’evento ha attribuito crediti formativi dell’Ordine dei Dottori Agronomi e Dottori Forestali di Reggio Emilia e del Collegio interprovinciale dei Periti Agrari e Periti Agrari Laureati di Reggio Emilia e Parma. Invio dell’invito con la newsletter CRPAInforma 15/2023 il 27/09/2023 all’indirizzario CRPA. Ai 28 partecipanti è stato distribuito del materiale informativo sui risultati del progetto. Di seguito le presentazioni:

- L’innovazione, la formazione e la consulenza per il settore agricolo e agroalimentare dell’Emilia-Romagna a cura di Piero Pastore Trosello – Regione Emilia-Romagna;
- Il monitoraggio delle micotossine nel mais italiano a cura di Sabrina Monica Locatelli – CREA sede di Bergamo;
- Strategie agronomiche per prevenire la contaminazione da micotossine nel mais a cura di Massimo Blandino – Università di Torino;
- Il progetto Milk Controllo e la visita aziendale virtuale del servizio TV a cura di Mariangela Soldano – CRPA SCPA;
- Risultati finali del progetto - Prove in vitro a cura di Paola Giorni – UCSC;
- Risultati finali del progetto Milk Controllo: prove di campo a cura di Terenzio Bertuzzi – UCSC.

Sono inoltre stati pubblicati n. 2 articoli tecnico/divulgativi + n. 1 articolo scientifico:

- Mais italiano senza micotossine per la filiera lattiero casearia delle produzioni Dop, pubblicato il 24/01/2022 sulla rivista digitale AgroNotizie;
- Produzioni DOP, Milk Controllo: sistemi innovativi per la riduzione delle micotossine nella filiera lattiero casearia pubblicato su Pianeta PSR n. 127;
- "Enhancement of agri-food by-products: green extractions of bioactive molecules with fungicidal action on mycotoxigenic fungi and their mycotoxins" has been approved for production and accepted for publication in *Frontiers in Nutrition*, section Nutrition and Food Science Technology" di Paola Giorni, Giulia Bulla, Giulia Leni, Mariangela Soldano, Massimo Tacchini, Alessandra Guerrini, Gianni Sacchetti, Terenzio Bertuzzi; pubblicato il 25/05/2023 su FRONTIERS.

Sono state realizzate n. 3 newsletter inviate tramite la newsletter CRPA Informa all’indirizzario aziendale:

1. Newsletter 1 - luglio 2022, per divulgare gli obiettivi di Milk_Controllo;
2. Newsletter 2 – dicembre 2022, in seguito alla giornata tecnica del 30/11/2022;
3. Newsletter 3 – ottobre 2023, con i risultati delle sperimentazioni.

Un video scribing è stato realizzato a febbraio 2022 (sostituito rispetto al video clip in programma, risultato più efficace per illustrare il progetto)

https://milkcontrollo.crpa.it/nqcontent.cfm?a_id=23916&tt=t_bt_app1_www.

Un servizio televisivo è stato realizzato a luglio 2022 con riprese presso l’Azienda Leona e ai laboratori di UNIFE. La messa in onda è stata su emittenti regionali all’interno della rubrica di agricoltura “*Con i Frutti della Terra*” dal 21 al 26 agosto 2022

(https://milkcontrollo.crpa.it/nqcontent.cfm?a_id=24364&tt=news).

	<p>È stato preparato e stampato un opuscolo con i risultati finali del progetto, distribuito durante il convegno finale e scaricabile dal sito (https://milkcontrollo.crupa.it/media/documents/milkcontrollo_www/documenti/opuscolo-finale/GOI_Opuscolo_Milk_Controllo_09-2023_v3.pdf?v=20231113).</p> <p>Al termine di tutte le attività si è realizzata una presentazione multimediale dei risultati, visibile a questo link: https://sway.office.com/1KMlaUbtsLqj6G2l?ref=Link.</p> <p>Si è dato comunicazione ai giornalisti della fine del progetto con l'invio del 2° comunicato stampa con link alla presentazione sway.</p> <p>Per completare l'attività di diffusione delle iniziative volte a promuovere le azioni del progetto è stato utilizzato anche il canale social Twitter e LinkedIn.</p> <p>Milk_Controllo inoltre si è reso partecipe di iniziative promosse da altri:</p> <ul style="list-style-type: none"> · Festival della cultura tecnica, a Ferrara dal 20/10 al 16/12/2021, con 2 presentazioni: "Circolarità e sostenibilità della filiera produttiva: dal luppolo non solo birra!" Alessandra Guerrini, Massimo Tacchini; "Sottoprodotti di filiera e loro estratti" UNIFE; · World Mycotoxin Forum® dal 16 al 18 maggio a Parma, con la presentazione un poster sull'uso dei composti naturali per contrastare la contaminazione di micotossine su mais; · Interno Verde, manifestazione promossa dall'Associazione ilturco, il 9 e 10 settembre 2023, con la presentazione del progetto Milk_Controllo da parte di UNIFE.
<p>Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate</p>	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>Tutte le attività sono state completate come da programma, si rimanda ai materiali disponibili nel sito di progetto. Si è ritenuto di optare per la realizzazione di un video scribing al posto di un video clip, in quanto il primo è stato ritenuto più idoneo a descrivere gli obiettivi di questo progetto.</p>

Azione	Formazione
---------------	-------------------

Unità aziendale responsabile <input type="checkbox"/>	Dinamica S.c.a.r.l. <input type="checkbox"/>
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>Titolo: "Gestione delle micotossine in campo ed in stalla nella filiera lattiero casearia legata alle produzioni dei formaggi DOP."</p> <p>Il corso di formazione, realizzato in un'unica edizione, ha inteso valorizzare la problematica delle micotossine, inquinanti naturali dovuti all'attività di funghi patogeni e saprofiti (muffe), è diventata uno degli aspetti che più influenzano la produzione dei cereali ed il loro successivo impiego nelle filiere zootecniche soprattutto quella legata alle produzioni dei formaggi DOP. L'obiettivo del corso di formazione consiste nel fornire le conoscenze di base sulle micotossine in Italia con un approccio integrato dal 'campo alla stalla'. Saranno valutati gli aspetti di carattere generale e normativo, descritte le principali micotossine di interesse caseario, le micotossine emergenti ed i nuovi contributi della ricerca nell'ambito del loro contenimento; il corso avrà inoltre l'obiettivo di approfondire la conoscenza delle best practices legate alla riduzione dei funghi in campo (agrotecnica) ed in stalla (management ed alimentazione del bestiame). Sono previsti approfondimenti tecnico-pratici sviluppati nel corso della visita aziendale che sarà effettuata l'ultima giornata del corso.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>L'attività di formazione, è stata realizzata in un'unica edizione</p> <p>EDIZIONE N.1 "Gestione delle micotossine in campo ed in stalla nella filiera lattiero casearia legata alle produzioni dei formaggi DOP."</p> <p>Domanda di Sostegno avvio formazione n. 5521022 Domanda di proposta n. 5201836 Domanda di rendiconto n. 5538912</p> <p>Periodo di Svolgimento: dal 16/11/2022 al 16/12/2022 Durata: 29 ore</p> <p>Nell'ambito del corso sono state realizzate le 29 ore di formazione previste in fase di proposta progettuale approvata dalla Regione Emilia Romagna. Si sono iscritti 20 partecipanti di cui 19 hanno concluso il percorso formativo superando la percentuale minima di presenza. Inoltre tutti e 19 hanno raggiunto gli obiettivi formativi previsti oggettivamente dimostrabili attraverso i risultati ottenuti nella verifica finale di apprendimento.</p>

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.

Cooperazione

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo tot
	CRPA - Tecnico	Segreteria tecnica	27,00	97	2.619,00
	CRPA - Amministrativo	Supporto gestione amministrativa	27,00	79	2.133,00
	CRPA - Ricercatore	Coordinamento attività	27,00	240	6.480,00
	CRPA - Ricercatore	Supporto coordinamento attività	27,00	114	3.078,00
	CRPA - Ricercatore	Coordinamento attività	27,00	12	324,00
	CRPA - Responsabile di settore	Coordinamento organizzativo	43,00	10	430,00
	CRPA - Responsabile di settore	Coordinamento organizzativo	43,00	13	559,00
	CRPA - Responsabile amministrativa	Responsabile gestione amministrativa	43,00	47	2.021,00
	CRPA - Responsabile di settore	Coordinamento, supervisione attività	43,00	68	2.924,00
TOTALE					20.568,00

Azione 1

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo tot
	CRPA - Tecnico	Analisi di laboratorio	27,00	16	432,00
	CRPA - Ricercatore	Coordinamento attività	27,00	36	972,00
	UNIFE - Professore ordinario	coordinamento organizzativo	73,00	58	4.234,00
	UNIFE - Professore ordinario	coordinamento organizzativo	73,00	50	3.650,00
	UNIFE - Professore associato	Raccolta ed elaborazione dati	48,00	89	4.272,00
	UNIFE - Borsista di ricerca	raccolta ed elaborazione dati	13,89	1.152	16.000,00
	UNIFE - Borsista di ricerca	raccolta ed elaborazione dati	13,89	576	8.000,00
	UNIFE - Borsista di ricerca	raccolta ed elaborazione dati	11,11	854	9.488,89
TOTALE					47.048,89

Azione 2

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo tot
	UCSC – Professore associato	Responsabile scientifico	48,00	387	18.570,24
	UCSS – Ricercatrice	Analisi di laboratorio	31,00	510	15.798,84
	UCSC - Assegnista	Prove in campo	-	1712	23.866,68
TOTALE					58.235,76

Azione 3

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo tot
	CRPA - Tecnico	Analisi di laboratorio	27,00	24	648,00
	CRPA - Tecnico	Prove in campo	27,00	56	1.512,00
	CRPA - Ricercatore	Coordinamento attività	27,00	40	1.080,00
	CRPA - Ricercatore	Prove in campo	27,00	72	1.944,00
	FCSR – Tecnico	Prove in campo	27,00	40	1.080,00
	FCSR – Tecnico	Prove di laboratorio	27,00	73	1.971,00
	FCSR – Ricercatore	Prove di laboratorio	27,00	36	972,00
	FCSR – Tecnico	Prove in campo	27,00	38	1.026,00
	UCSC – Professore associato	Responsabile scientifico	48,00	19,5	937,44
	USCS – Ricercatrice	Analisi di laboratorio	31,00	74	2.306,40
	UNIFE - Professore associato	raccolta ed elaborazione dati	48,00	10	480,00
	LEONA - Operaio	Prove di campo	19,5	192	3.744,00
TOTALE					17.700,84

Azione 4

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo tot
	CRPA - Tecnico	Analisi di laboratorio	27,00	53	1.431,00
	CRPA - Tecnico	Prove in campo	27,00	57	1.539,00
	CRPA - Ricercatore	Prove in campo	27,00	96	2.592,00
	CRPA - Ricercatore	Prove di laboratorio	27,00	97	2.619,00
	CRPA – Ricercatore	Prove di laboratorio	27,00	16	432,00
	FCSR – Tecnico	Prove in campo	27,00	40	1.080,00
	FCSR – Tecnico	Prove di laboratorio	27,00	61	1.647,00
	FCSR – Ricercatore	Prove di laboratorio	27,00	10	270,00
	FCSR – Tecnico	Prove in campo	27,00	8	216,00
	UCSC – Professore associato	Responsabile scientifico	48,00	48	2.321,28
	USCS – Ricercatrice	Analisi di laboratorio	31,00	76	2.364,06
	SAN LORENZO –	Prove in campo	19,50	119	2.320,50
	BONVY –	Prove in campo	19,50	93	1.813,50
TOTALE					20.645,34

Azione 5

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo tot
	CRPA - Ricercatore	Raccolta elaborazione dati	27,00	96	2.592,00
	CRPA - Ricercatore	Raccolta elaborazione dati	27,00	26	702,00

	CRPA – Ricercatore	Raccolta elaborazione dati	27,00	46	1.242,00
	CRPA – Ricercatore	Raccolta elaborazione dati	43,00	4	172,00
	FCSR – Tecnico	Prove in campo	27,00	39	1.053,00
	FCSR – Tecnico	Prove in campo	27,00	103	2.781,00
	FCSR – Tecnico	Prove in campo	27,00	10	270,00
	FCSR – Tecnico	Prove in campo	27,00	14	378,00
	BONVY –	Prove in campo	19,50	24	468,00
	NUTRISTAR - Ricercatore	Conduzione prove	43,00	60	2.580,00
	NUTRISTAR - Dirigente	Coordinamento organizzativo	75,00	24	1.800,00
TOTALE					14.038,00

Azione Divulgazione

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta nell'azione	Costo orario	Ore	Costo tot
	CRPA -	Supporto divulgazione	27,00	56	1.512,00
	CRPA -	Supporto divulgazione	27,00	61	1.647,00
	CRPA - Ricercatore	Attività di divulgazione	27,00	29	783,00
	CRPA - Ricercatore	Attività di divulgazione	27,00	32	864,00
	CRPA – Ricercatore	Attività di divulgazione	27,00	89	2.403,00
	CRPA – Responsabile di settore	Attività di divulgazione	43,00	4	172,00
	CRPA – Responsabile di settore	Responsabile divulgazione	43,00	8	344,00
	CRPA – Responsabile di settore	Responsabile divulgazione	43,00	4	172,00
	UCSC – Professore associato	Responsabile scientifico	48,00	29	1.383,84
	USCS – Ricercatrice	Analisi di laboratorio	31,00	30	922,56
	UNIFE -Professore ordinario	coordinamento organizzativo	73,00	10	730,00
	UNIFE - Professore ordinario	coordinamento organizzativo	73,00	9	657,00
	SAN LORENZO –	Prove in campo	36,41	26	946,66
	BONVY –	Prove in campo	36,41	26	946,66
TOTALE					13.483,72

2.5 COLLABORAZIONI, CONSULENZE ESTERNE, ALTRI SERVIZI

CONSULENZE ESTERNE - PERSONE FISICHE (Consulenti costo standard)

Nominativo del consulente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
	4.698,00	comunicati stampa, articoli, riviste del settore, rapporto coi media	4.698,00
	2.268,00	definizione linea grafica di progetto, supporto grafico per eventi, materiale illustrativo e divulgativo, leaflet, opuscolo, editing grafico	2.268,00
TOTALE			6.966,00

2.6 SPESE PER ATTIVITÀ DI DIVULGAZIONE E DISSEMINAZIONE

Fornitore	Descrizione	Costo
	Sviluppo e registrazione voce fuori campo relativi a video	420,00
	Realizzazione video	980,00
Agricoltura è vita soc. coop	Servizio televisivo	700,00
Tecnograf srl	Impaginazione e stampa fascicolo 8 pagine	500,00
CAMELOT soc. coop sociale	Servizio catering per convegno finale	554,00
TOTALE		3.154,00

2.7 SPESE PER ATTIVITÀ DI FORMAZIONE E CONSULENZA

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

"Gestione delle micotossine in campo ed in stalla nella filiera lattiero casearia legata alle produzioni dei formaggi DOP." – Domanda di Sostegno n. 5521022	
Periodo di Svolgimento	
- n. 5538912 edizione 1 dal 16/11/2022- al 16/12/2022 partecipanti 19	
Spesa: 13.642,76 €	Importo contributo richiesto: 12.278.56€
Contributo Unitario: 646.24 €	Costo Pro Capite: 718.04 €

3 CRITICITÀ INCONTRATE DURANTE LA REALIZZAZIONE DELL'ATTIVITÀ

Lunghezza max 1 pagina

Criticità tecnico scientifiche	
Criticità gestionali (ad es. difficoltà con i fornitori, nel reperimento delle risorse umane, ecc.)	
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

I risultati del progetto Milk Controllo hanno messo in luce che lungo l'intera catena alimentare vengono generate grandi quantità di rifiuti e sottoprodotti che, prima di essere scartati, potrebbero essere significativamente valorizzati in quanto rappresentano una fonte di composti bioattivi. Nelle azioni del progetto i processi di estrazione ad alta tecnologia e alta sostenibilità sono stati applicati ad una gamma di scarti e sottoprodotti organici generati nel settore agroalimentare al fine di ottenere estratti ricchi di polifenoli e terpeni. Questi estratti si sono rivelati uno strumento importante per l'inibizione in vitro di alcuni dei più importanti funghi micotossigeni e delle micotossine correlate. Questi estratti potrebbero essere applicati sul campo o durante la conservazione degli alimenti per ridurre la contaminazione da micotossine delle materie prime entro i limiti normativi. Ciò potrebbe ridurre in modo significativo l'uso di pesticidi chimici, ampiamente utilizzati oggi, con effetti positivi a cascata sull'ambiente, sulla biodiversità e sulla salute umana.

La dose di estratto antifungino applicata sul mais trattato somministrato alle bovine non ha influenzato le caratteristiche del latte né la sua attitudine alla caseificazione.

Per l'attività di valutazione dell'efficacia degli estratti sulla superficie di formaggi stagionati, i risultati sono stati soddisfacenti osservando riduzioni importanti sulle croste trattate con estratti naturali.

6 - RELAZIONE TECNICA

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

Si allega documento della Relazione Tecnica: Milk_Controllo-allegato_tecnico.pdf

Il Direttore munito di procura¹

Documento firmato digitalmente

¹ Il documento, trasmesso per via telematica, deve essere sottoscritto con firma autografa e presentato unitamente a copia del documento di identità in corso di validità ovvero sottoscritto con firma digitale. (art 65 D.Lgs. 82/2005 C.A.D.). Ai sensi dell'art.24 del C.A.D., è legittima l'apposizione della firma digitale generata con certificato valido, non revocato o sospeso alla data della sottoscrizione. La struttura competente provvederà alla verifica della stessa.

Regione Emilia-Romagna - Programma regionale di sviluppo rurale 2014-2020

16.1.01 - Gruppi operativi del partenariato europeo per l'innovazione:
"produttività e sostenibilità dell'agricoltura".

Focus Area 3A -Migliorare la competitività dei produttori primari integrandoli meglio nella filiera agroalimentare attraverso i regimi di qualità, la creazione di un valore aggiunto per i prodotti agricoli, la promozione dei prodotti nei mercati locali, le filiere corte, le associazioni e organizzazioni di produttori e le organizzazioni interprofessionali

Gruppo Operativo – Milk_controllo (domanda di sostegno n. 5200017)

Piano d'innovazione

Milk_Controllo

Sistemi innovativi di gestione delle produzioni maidicole da granella finalizzate alla riduzione delle micotossine nella filiera lattiero casearia legata alle produzioni DOP

ALLEGATO – Relazione tecnica finale

Rendicontazione tecnica finale del Piano d'Innovazione

A cura di:



Viale Timavo, 43/2 – 42121 Reggio Emilia

Reggio Emilia, Aprile 2024

INDICE

AZIONE 1 - Estrazioni green di molecole bioattive ad azione fungicida da sottoprodotti agroalimentari	3
<i>Introduzione</i>	3
<i>Materiali e metodi</i>	3
<i>Risultati</i>	5
<i>Conclusioni</i>	10
AZIONE 2 - Valutazione degli estratti fenolici e terpenici ad azione antifungina	11
<i>Introduzione</i>	11
<i>Materiali e metodi</i>	11
<i>Risultati</i>	13
<i>Conclusioni</i>	15
AZIONE 3 – Prove agronomiche su mais ad uso zootecnico	17
<i>Introduzione</i>	17
<i>Materiali e metodi</i>	17
<i>Risultati</i>	19
<i>Conclusioni</i>	24
AZIONE 4 – Prove di stalla: comportamento alimentare e performances.....	26
<i>Introduzione</i>	26
<i>Materiali e metodi</i>	26
<i>Risultati</i>	30
<i>Conclusioni</i>	35
AZIONE 5 – Valorizzazione dei risultati nella filiera lattiero - casearia	36
<i>Introduzione</i>	36
<i>Materiali e metodi</i>	36
<i>Risultati – Impronta Carbonica</i>	39
<i>Risultati- Impronta Idrica</i>	41

AZIONE 1 - Estrazioni green di molecole bioattive ad azione fungicida da sottoprodotti agroalimentari

Introduzione

L'Azione 1, svolta durante il primo anno di attività del progetto, aveva come scopo quello di realizzare un protocollo operativo di estrazione con tecniche green (UAE, Naviglio®, microonde e idro-distillazione) ottimizzato per ottenere estratti ricchi di composti fenolici e terpenici dalle matrici di scarto provenienti dalle imprese agricole coinvolte nel progetto, in particolare Caviro Distillerie (graspi e vinaccioli da uve bianche e rosse, foglie e raspi), Conserve Italia (polpe esauste di pere e mele, scarti di lavorazione di pomodori e fagiolini), Oleificio Brisighellese (sanse) e il birrifico Ex Fabbrica (luppolo esausto). Le matrici sono state sottoposte a differenti protocolli estrattivi che prevedevano l'utilizzo di strategie a basso impatto ambientale (ridotto consumo di solventi organici) per ottenere rese significative di biomolecole di interesse (polifenoli, terpeni). In particolare, sono state effettuate macerazioni assistite da ultrasuoni (UAE), da microonde (MAE) e Naviglio® su tutte le matrici di scarto; e distillazione in corrente di vapore su il luppolo esausto dopo birrificazione.

Tutti gli estratti sono stati caratterizzati chimicamente con tecniche cromatografiche (HPTLC, HPLC-DAD e GC-MS) per evidenziare i composti chimici maggiormente presenti nelle matrici. Successivamente è stata anche valutata la possibilità di eliminare la componente zuccherina dagli estratti che ne erano particolarmente ricchi.

Materiali e metodi

I reagenti chimici impiegati: tutti i solventi e i reagenti impiegati per le estrazioni e le analisi chimiche erano di qualità cromatografica. Metanolo, etilacetato, etanolo, acido formico, acido acetico e toluene sono stati acquistati da Carlo Erba Reagents (Milano, Italia). NP / PEG e acido gallico sono stati acquistati da Sigma-Aldrich Italia (Milano, Italia).

La macinazione: gli scarti di filiera sono stati macinati (filtro 0.5mm) in un mulino a rotore a velocità variabile Pulverisette 14 (Fritsch, Germania) poco prima dell'estrazione per evitare la degradazione o l'ossidazione dei principali composti.

Le estrazioni: sono state effettuate estrazioni su campioni essiccati e polverizzati di vinacce bianche (VCB), vinacce rosse (VCR), vinaccioli (VIN), raspi, foglie di vite lambrusco, sottoprodotti della lavorazione di pomodori, fagiolini, mele, pere e olive (sanse), utilizzando estrazione assistita da ultrasuoni (UAE), da microonde (MAE) ed estrazione sotto pressione con l'apparato Naviglio® (NAV). Campioni non essiccati di scarti di luppolo sono stati sottoposti a distillazione in corrente di vapore d'acqua (DIS). Ogni estrazione è stata effettuata in triplicato. Gli estratti ottenuti con UAE, MAE e NAV sono stati liofilizzati e conservati a -20 ° C fino al momento delle analisi. Gli estratti ottenuti per distillazione in corrente di vapore d'acqua sono stati immediatamente analizzati per gas cromatografia. Sono state effettuate prove su differenti miscele di solventi coerenti con l'estrazione delle biomolecole di interesse e si è deciso di operare con una miscela EtOH:Acqua 50:50. Per tutte le matrici, il rapporto quantitativo ottimale matrice:solvente era di 1:13 (1g/13ml).

- **Estrazione assistita da ultrasuoni (UAE).** L'estrazione assistita da ultrasuoni è stata eseguita utilizzando un bagno ad ultrasuoni (Ultrasonik 104X, Ney Dental International, MEDWOW, Cipro) impostato ad una frequenza operativa di 48 kHz, per 80min, a temperatura ambiente. Gli estratti ottenuti sono stati filtrati, liofilizzati e conservati a -20°C al buio fino al momento dell'analisi.
- **Estrazione assistita da microonde (MAE).** Per il MAE è stato utilizzato un normale forno a microonde domestico con potenza regolabile (da 160 a 800 W) (Whirlpool Micro 410). Gli scarti di pera macinati (10 g) sono stati estratti con 130 ml di etanolo al 50% in un becher aperto in Pyrex. Il punto finale di estrazione è stato stabilito dall'ebollizione (osservazione di bolle

omogenee su tutta la superficie del liquido). L'irraggiamento è stato poi fermato e il becher è stato lasciato nel forno per 25 secondi per la stabilizzazione della temperatura. Una volta fuori dal forno, la distribuzione della temperatura all'interno del campione è stata valutata misurando la temperatura in tre diverse posizioni. L'estratto è stato filtrato attraverso un filtro buchner e carta da filtro, liofilizzato e pesato per la valutazione della resa estrattiva. L'estratto secco così ottenuto è stato conservato in freezer a -20°C fino al momento dell'analisi.

- **Estrazione sotto pressione (estrattore Naviglio®).** Questo estrattore sfrutta una compressione del solvente estraente sul solido di circa 6-8 bar seguita da una decompressione a pressione atmosferica. La rapida fuoriuscita del liquido estraente dall'interno della matrice solida verso l'esterno, per l'effetto del gradiente pressorio, trasporta meccanicamente verso l'esterno le sostanze estraibili contenute nella matrice solida. L'estrazione è stata eseguita con 10 cicli totali (fase dinamica di 18 giri di solvente a ciclo e fase statica di 5 minuti). La durata totale dell'estrazione è quindi di 80 minuti.
- **Estrazione per distillazione in corrente di vapore d'acqua (idrodistillazione).** Campioni non essiccati di luppolo esausto sono stati sottoposti a distillazione in corrente di vapore. Le distillazioni sono state effettuate seguendo le metodiche riportate nella Farmacopea Europea (Edizione corrente). In particolare, 100g di matrice (miscele varietali di luppolo esausto derivante da birrificazione IPA e APA) sono stati distillati con un volume di acqua di 1,3 litri, per un tempo di 4 ore con strumentazione Clevenger. Gli estratti ottenuti (distillati) sono stati disidratati con sodio solfato anidro e conservati a -20 °C al buio fino al momento dell'analisi.

La caratterizzazione chimica: è stata focalizzata sulla rilevazione delle principali classi di composti generalmente noti per proprietà funzionalmente utili nei contesti di ricaduta della ricerca, in particolare: polifenoli, attesi con rilevante abbondanza negli estratti idroalcolici, e composti terpenici (mono-, sesqui-, di-terpeni) attesi con rilevante abbondanza negli estratti ottenuti con la distillazione in corrente di vapore d'acqua (idrodistillazione).

- **Analisi spettrofotometriche per la valutazione del contenuto in polifenoli, flavonoidi e proantocianidine totali.** La determinazione del contenuto di in polifenoli, flavonoidi e proantocianidine totali negli estratti è stata eseguita utilizzando uno spettrofotometro Helios-Gamma, ThermoSpectronic seguendo le metodiche precedentemente descritte in Tacchini et al. (2015) [1]. I risultati sono stati espressi come mg di acido gallico/g di estratto secco per la quantificazione dei polifenoli totali, mg di iperoside/g di estratto secco per la quantificazione dei flavonoidi totali e mg di cianidin cloruro/g di estratto secco per la quantificazione delle proantocianidine totali.
- **Analisi cromatografica su strato sottile ad alta risoluzione (HP)TLC.** Le analisi sono state eseguite su una lastra di gel di silice HPTLC 60 F₂₅₄ (Camag, Swizerland). 8 µl di una soluzione etanolica al 50% degli estratti (20 mg/ml) sono stati depositati sulla lastra in bande di 6 mm di ampiezza utilizzando un depositore automatico Linomat V (Camag, Swizerland) in flusso di azoto. Le bande depositate sono state eluite con un sistema eluente composto di due step successivi ed una derivatizzazione con soluzione NP-PEG (Wagner e Bladt, 2009; Plant drug analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas, second Edition, Springer Verlag, Berlin) per la valutazione di flavonoidi; ed un sistema eluente successivamente derivatizzato con una soluzione di acido solforico e vanillina per la detezione di proantocianidine (Wagner e Bladt, 2009; Plant drug analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas, second Edition, Springer Verlag, Berlin).
- **Analisi cromatografica liquida ad alta risoluzione in fase inversa RP-HPLC-DAD.** La caratterizzazione dei campioni finalizzata alla rilevazione dei principali flavonoidi è stata eseguita sui campioni di estrazione idroalcolica utilizzando un sistema HPLC modulare JASCO (To-

kyo, Giappone, modello PU 2089) accoppiato ad un detector a fotodiodi (MD 2010 Plus). Per l'analisi si è fatto riferimento a quanto riportato in Tacchini et al. (2015) [1].

- **Analisi gas cromatografica accoppiata a spettrometria di massa e detector a ionizzatore di fiamma (GC-MS-FID).** Le analisi gas cromatografiche, elettive per la valutazione di composti terpenici, sono state sviluppate sui campioni ottenuti dalla distillazione di matrici non essiccate. Le analisi sono state sviluppate seguendo le indicazioni riportate in Guerrini et al. (2021) [2].

Risultati

Gli scarti di lavorazione di pera, mela, fagiolini, pomodoro e sottoprodotti della vinificazione sono stati trattati con metodiche che hanno permesso di ottenere estratti arricchiti di polifenoli: macerazione idroalcolica coadiuvata da ultrasuoni (UAE) ed estrazione con apparato Naviglio® (NAV). L'ottimizzazione del metodo ha preso in considerazione 3 tipologie di solvente idroalcolico (acqua:etanolo 80:20, 50:50 e 20:80). La macerazione coadiuvata da ultrasuoni è risultata la metodica più performante (Tabella 1).

Matrice	Resa %	
	UAE	NAV
Vinacce rosse	23,26 ± 0,30	11,29 ± 0,64
Vinacce bianche	30,55 ± 0,71	14,26 ± 0,92
Foglie verdi di vite var. Lambrusco	15,27 ± 0,72	11,75 ± 0,84
Vinaccioli	9,32 ± 0,48	8,11 ± 0,70
Raspi	31,72 ± 0,54	23,44 ± 0,41
Scarti di lavorazione di pera	24,34 ± 0,22	22,79 ± 0,52
Scarti di lavorazione di mela	34,07 ± 2,33	28,69 ± 1,30
Scarti di lavorazione di fagiolini	37,92 ± 1,83	22,48 ± 1,02
Scarti di lavorazione di pomodoro	15,97 ± 0,82	14,01 ± 0,67
Luppolo esausto	22,83 ± 0,03	18,55 ± 0,94

Tabella 1. Rese estrattive percentuali degli estratti ottenuti con macerazione assistita da ultrasuoni (UAE) ed estrazione sotto pressione con metodo Naviglio (NAV)

La valutazione del contenuto di polifenoli totali, flavonoidi totali e proantocianidine totali, molecole dall'alto valore aggiunto per le loro capacità antimicrobiche è stata effettuata sugli estratti ottenuti con la metodica più promettente alla realizzazione di un prodotto green da utilizzare per le valutazioni biologiche successive: macerazioni in ultrasuoni ottenute con una miscela idroalcolica 50:50 (Tabella 2).

Matrice	TPC (mg GAE/g estratto secco)	TFC (mg IpE/g estratto secco)	TPrC (mg CiaE/g estratto secco)
Vinacce rosse	259,20 ± 8,47	13,59 ± 1,10	89,70 ± 5,44
Vinacce bianche	197,26 ± 5,32	4,40 ± 0,24	31,36 ± 1,38
Foglie verdi di vite var. Lambrusco	253,19 ± 11,41	113,48 ± 3,24	10,02 ± 0,18
Vinaccioli	514,26 ± 5,70	60,56 ± 3,51	92,17 ± 7,10
Raspi	198,95 ± 10,40	22,24 ± 0,51	9,14 ± 0,09
Scarti di lavorazione di pera	105,94 ± 9,84	17,96 ± 1,25	3,56 ± 0,11
Scarti di lavorazione di mela	29,50 ± 1,53	3,88 ± 0,33	0,80 ± 0,08

Scarti di lavorazione di fagiolini	41,17 ± 1,11	8,99 ± 0,63	0,96 ± 0,03
Scarti di lavorazione di pomodoro	17,56 ± 0,55	7,33 ± 2,06	0,58 ± 0,04
Luppolo esausto	18,84 ± 0,32	15,06 ± 1,33	1,26 ± 0,02

Tabella 2. Contenuto di polifenoli totali (TPC), flavonoidi totali (TFC) e proantocianidine totali (TPrC) negli estratti UAE ottenuti con miscela acqua:etanolo 50:50. Le quantificazioni sono espresse in, rispettivamente, mg equivalenti di acido gallico (GAE) / 100g di estratto secco, mg equivalenti di iperoside (IpE) / 100g di estratto secco e mg equivalenti di cianidin cloruro (CiaE) / 100g di estratto secco.

A livello italiano, tra gli scarti di produzione considerati quelli di uva rossa sono i più abbondanti e quindi potrebbero rappresentare una fonte di attivi particolarmente interessante. Per questo sono stati oggetto di una caratterizzazione chimica più approfondita tramite HPTLC (Figura 1) e RP-HPLC_DAD che ha portato all'identificazione e alla quantificazione dei principali flavonoidi ed antociani (Tabella 3).

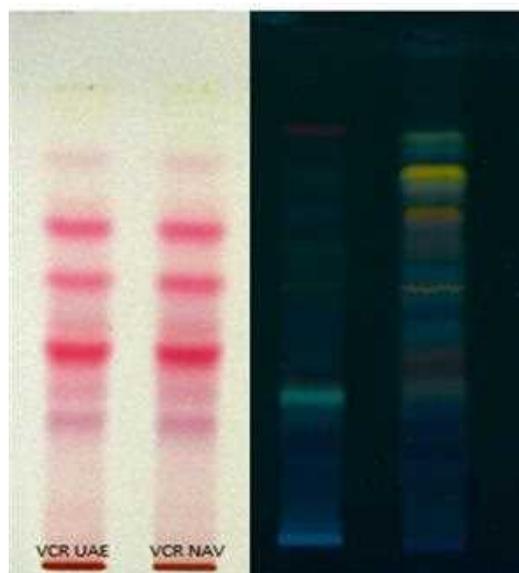


Figura 1. Lastra HPTLC eluita e derivatizzata per la valutazione di antociani (sinistra) e flavonoidi (destra)

La produzione di estratti con un contenuto maggiore di flavonoidi da parte dell'apparato Naviglio® è controbilanciata negativamente dalla scarsa resa estrattiva del processo, mantenendo l'estratto UAE quello più interessante in prospettiva di un utilizzo per la valutazione dell'attività biologica e delle prove in campo.

Estratto		Vinacce rosse UAE	Vinacce rosse NAV
Acido caftarico	mg/g estratto ± deviazione standard	5,35 ± 0,46	2,68 ± 0,23
Miquelianina + Isoquercetina		36,53 ± 0,87	47,21 ± 0,45
Rutina		1,41 ± 0,11	2,75 ± 0,05
Astragalina		2,32 ± 0,13	5,26 ± 0,03
Nictoflorina		1,41 ± 0,23	2,96 ± 0,06
Kuromanina		0,24 ± 0,01	0,17 ± 0,01
Mirtillina		1,01 ± 0,10	1,07 ± 0,05
Oenina		4,14 ± 0,12	3,22 ± 0,14

Tabella 3. Contenuto di acidi fenolici (acido caftarico), flavonoidi (miquelianina, isoqueretina, rutina, astragalina, nictoflorina) e antociani (kuromanina, mirtillina e oenina) negli estratti ottenuti da vinacce rosse.

Per ottimizzare il processo estrattivo applicato agli scarti di lavorazione di pera è stata anche utilizzata la macerazione assistita da microonde (MAE), ma non ha portato un incremento nella resa estrattiva % o in quella di polifenoli e flavonoidi (Tabella 4).

Rapporto acqua:etanolo	Potenza microonde (W)	Durata estrazione (min)	Resa %	TPC (mg GAE/g estratto secco)			TFC (mg IpE/g estratto secco)		
					±			±	
2:8	90	3	19,87	35,18	±	0,60	3,07	±	0,05
2:8	90	6	22,01	44,75	±	1,36	3,18	±	0,14
2:8	160	3	20,17	41,84	±	0,45	3,42	±	0,10
2:8	160	6	20,43	43,02	±	1,71	3,33	±	0,10
5:5	90	3	18,45	47,26	±	1,90	3,25	±	0,11
5:5	90	6	16,79	63,85	±	4,71	3,81	±	0,06
5:5	160	3	15,66	58,56	±	1,53	3,83	±	0,06
5:5	160	6	19,50	65,13	±	0,72	3,90	±	0,05
8:2	90	3	19,30	49,27	±	2,64	3,32	±	0,26
8:2	90	6	21,00	46,90	±	0,81	3,10	±	0,05
8:2	160	3	20,75	47,76	±	0,39	3,23	±	0,19
8:2	160	6	24,20	47,07	±	1,57	3,35	±	0,33

Tabella 4. Parametri di estrazione MAE di scarti di lavorazione di pera con resa%, quantificazione dei polifenoli totali (TPC) e flavonoidi totali (TFC).

L'acido clorogenico, noto per la sua attività antifungina [3], è risultato essere il metabolita principale degli estratti UAE degli scarti di produzione di pere e mele analizzati in RP-HPLC-DAD. I residui di lavorazione delle pere hanno mostrato un contenuto pari a $2,54 \pm 0,21$ mg/g di estratto, mentre i residui di lavorazione delle mele $0,70 \pm 0,03$ mg/g di estratto.

Il luppolo esausto dopo birrificazione trattato con idro-distillazione ha dato una resa massima dello 0.1% (Tabella 5).

MIX Luppoli	Acqua	Tempo	Resa %
300 g umidi di IPA	1000 ml	3 h	0.1
300 g umidi di APA	1000 ml	3 h	0.05

Tabella 5. Rese % dell'estrazione di oli essenziali da luppoli esausti dopo birrificazione.

Tale matrice ha mostrato di mantenere un buon contenuto terpenico caratterizzato principalmente da mircene e alfa- e beta- cariofillene (Tabella 6). Questa tipologia estrattiva è stata preferita rispetto a quella con anidride carbonica in stato supercritico a cause del suo minor impatto ambientale.

Ordine di eluizione	Composto	Area %			AI exp.	AI lit
1	Beta-pinene	0.49	±	0.02	971	979
2	Myrcene	29.13	±	1.45	986	991
3	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-methylbutylester	0.13	±	0.01	1010	1009

4	Propanoic acid, 2-methyl-, 2-methylbutylester	0.23	±	0.01	1013	1014
5	Limonene	0.32	±	0.01	1023	1029
6	2-Undecanone	0.91	±	0.03	1292	1294
7	<i>Cis</i> -pinocarvyl acetate	0.61	±	0.02	1309	1311
8	Methyl geranate	0.63	±	0.02	1325	1325
9	Alpha-ylangene	0.15	±	0.01	1367	1375
10	Alpha-copaene	0.52	±	0.02	1373	1377
11	<i>n</i> -Tetradecane	0.16	±	0.01	1396	1400
12	Beta-caryophyllene	13.90	±	0.58	1406	1409
13	Beta-copaene	0.55	±	0.03	1420	1432
14	Alpha-caryophyllene	29.07	±	1.05	1448	1455
15	γ -Gurjunene	1.62	±	0.06	1470	1477
16	Geranyl propanoate	0.21	±	0.01	1474	1478
17	Beta-selinene	0.68	±	0.02	1481	1490
18	Cubenene	0.42	±	0.01	1486	1496
19	Alpha-selinene	0.65	±	0.03	1487	1498
20	Gamma-muurolene	0.16	±	0.01	1490	1499
21	Alpha-muurolene	0.34	±	0.01	1492	1500
22	2-Tridecanone	1.22	±	0.05	1495	1495
23	Gamma-cadinene	2.37	±	0.10	1505	1514
24	Geranyl isobutyrate	0.70	±	0.03	1507	1515
25	Delta-cadinene	2.78	±	0.12	1512	1523
26	<i>Trans</i> -calamene	0.40	±	0.02	1516	1529
27	Alpha-cadinene	0.83	±	0.04	1530	1539
28	Selina-3,7(11)-diene	0.52	±	0.02	1535	1547
29	<i>n</i> -Tridecanol	0.23	±	0.01	1571	1572
30	Caryophyllene oxide	1.46	±	0.05	1577	1583
31	Cedrol	0.24	±	0.01	1594	1600
32	Geranyl 2-methyl butanoate	0.19	±	0.01	1597	1601
33	Humulene epoxide II	2.43	±	0.12	1605	1608
34	1-epi-Cubenol	0.13	±	0.01	1626	1629
35	Eremoligenol	0.22	±	0.01	1629	1631
36	Alpha-acorenol	0.28	±	0.01	1632	1633
37	Alpha-muurolol	0.26	±	0.01	1641	1646
38	Alpha-cadinol	0.27	±	0.01	1656	1654
39	Selin-11-en-4-alpha-ol	2.95	±	0.14	1660	1660
40	14-hydroxy-9-epi-(<i>E</i>)-caryophyllene	0.20	±	0.01	1665	1667
41	Epi-beta-bisabolol	0.94	±	0.03	1670	1672
42	2-Pentadecanone	0.30	±	0.03	1698	1697
Total		99,39				

Tabella 6. Caratterizzazione chimica quali-quantitativa via GC-MS-FID dell'olio essenziale di luppolo ottenuto per idrodistillazione.

Test del potenziale metanigeno dei residui delle estrazioni

È stata condotta la misura del potenziale biochimico metanigeno (BMP) dei residui dei processi di estrazione tramite il sistema di misura presente presso CRPA Lab (Figura 2), costituito da reattori batch di 1,35 L di volume utile; i test sono stati condotti in mesofilia (38°C) in conformità con la norma UNI EN ISO 11734:2004. I residui delle estrazioni sono stati preliminarmente caratterizzati chimicamente mostrando un contenuto in sostanza organica interessante per il loro utilizzo in digestione anaerobica: difatti la quota di solidi volatili presente nella sostanza secca per la maggior parte dei campioni analizzati è superiore al 93% (tranne in un caso, per la vite di lambrusco pari all'85%). Quindi sono stati sottoposti a test BMP per misurarne la produzione in metano e valutare un ulteriore recupero energetico Tabella 7. I risultati mostrano valori tra 129 e 306 Nm³CH₄/tSV.



Figura 2- Sistema di misura del potenziale metanigeno

Tabella 7- Analisi chimica e risultati del test BMP dei residui delle estrazioni

Codice archivio	Tipo di estrazione: matrice di partenza	Solidi totali (ST)	Solidi volatili (SV)		BMP Nm ³ CH ₄ /tSV	CH ₄ nel biogas
		g/kg	g/kg	% ST		%
BMP_5773	ESTRAZIONE NAVIGLIO: PERE	871,84	855,19	98,09	220,24	56,4%
BMP_5774	ESTRAZIONE UAE: PERE	664,27	651,72	98,11	242,84	55,7%
BMP_5775	ESTRAZIONE UAE: VINACCE BIANCHE E.	919,94	909,87	98,91	188,59	59,2%
BMP_5776	ESTRAZIONE UAE: MELE	797,31	784,54	98,40	305,66	55,9%
BMP_5777	ESTRAZIONE UAE: SANSA	919,94	909,87	98,91	151,87	58,2%
BMP_5793	ESTRAZIONE UAE: VITE LAMBRUSCO	687,45	584,89	85,08	128,72	52,4%
BMP_5794	ESTRAZIONE UAE: VINACCE ROSSE	897,42	837,35	93,31	182,44	58,4%
BMP_5795	ESTRAZIONE UAE: RASPI	466,10	433,39	92,98	145,83	57,6%

Conclusioni

- il bilancio tra resa estrattiva e potere estraente mostra la macerazione assistita da ultrasuoni come quella più performante sulle matrici considerate;
- gli scarti della produzione vitivinicola sono caratterizzati principalmente da flavonoidi e antociani, mentre gli scarti di lavorazione di pera e mela dalla presenza di acido clorogenico, più abbondante nei primi;
- il luppolo esausto dopo birrificazione non ha mostrato una resa estrattiva elevata, ma è risultato ancora ricco di molecole terpeniche. In conseguenza di ciò, le evidenze portate dal progetto per questa matrice negletta, che non trova a tutt'oggi molto spazio di sfruttamento, potrebbero aprire una nuova strada per il suo utilizzo;
- il potenziale metanigeno dei residui degli estratti risulta interessante per un loro potenziale recupero e valorizzazione energetica.

AZIONE 2 - Valutazione degli estratti fenolici e terpenici ad azione antifungina

Introduzione

L'obiettivo dell'attività svolta è stato quello di valutare l'efficacia degli estratti ottenuti da scarti alimentari nel ridurre la contaminazione da funghi micotossigeni e la loro produzione di micotossine. Sono stati testati 14 estratti, preparati e caratterizzati dal gruppo dell'Università di Ferrara.

Nello specifico, le prove sono state condotte in piastra Petri, inoculando il fungo e successivamente depositando 1 ml di una soluzione dell'estratto. I funghi considerati sono stati *Aspergillus flavus*, *Fusarium verticillioides* e *Fusarium graminearum*, ovvero i principali responsabili della presenza di micotossine in mais. Sono infatti produttori, rispettivamente, di aflatossine, fumonisine e deossinivalenolo (Figura 3).

La valutazione dell'efficacia degli estratti è stata testata confrontando lo sviluppo dei funghi con una piastra di controllo (fungo senza estratto) e la determinazione delle relative micotossine mediante analisi cromatografiche abbinata a fluorimetria o a spettrometria di massa.



Figura 3- Ceppi fungini utilizzati per la prova in vitro.

Materiali e metodi

I diversi funghi sono stati trasferiti con un'ansa al centro di altre piastre Petri (Figura 4) contenenti anche 1 mL dei diversi estratti, prendendo in considerazione due possibili concentrazioni di utilizzo (320 ppm e 1000 ppm).



Figura 4- Distribuzione dell'estratto naturale su terreno agarizzato (a sinistra) e posizionamento dell'inoculo fungino al centro della piastra (a destra)



Figura 5- Filtrazione dell'estratto naturale per purificazione da possibili batteri; preparazione delle piastre con crescita fungina per la fase di estrazione

Dopo 14 giorni di incubazione a 25 °C, è stata verificata l'estensione della crescita fungina misurando la colonia lungo due linee ortogonali ed è stata effettuata l'analisi delle micotossine. Per la determinazione delle micotossine, l'intero contenuto della piastra è stato estratto con 40 ml di acetonitrile mediante agitazione meccanica per 45 minuti. Dopo filtrazione (Figura 5), un'aliquota dell'estratto è stato opportunamente diluito prima dell'analisi cromatografica. Aflatossine e zearalenone sono stati determinati mediante HPLC con rilevazione fluorimetrica, fumonisine con LC-MS/MS a triplo quadrupolo, deossivalenolo con GC-MS dopo derivatizzazione. Le concentrazioni ottenute sono state quindi confrontate con quelle delle piastre di controllo, calcolando le eventuali riduzioni.

Risultati

Dalla sperimentazione sono emersi risultati molto incoraggianti. In particolare, alcuni fra i 14 estratti testati sono riusciti a produrre un effetto sullo sviluppo fungino, arrivando però a riduzioni dal 19% al 51%, che dipendono sia dall'estratto che dal fungo considerato (Figura 6, Figura 7 e Figura 8).

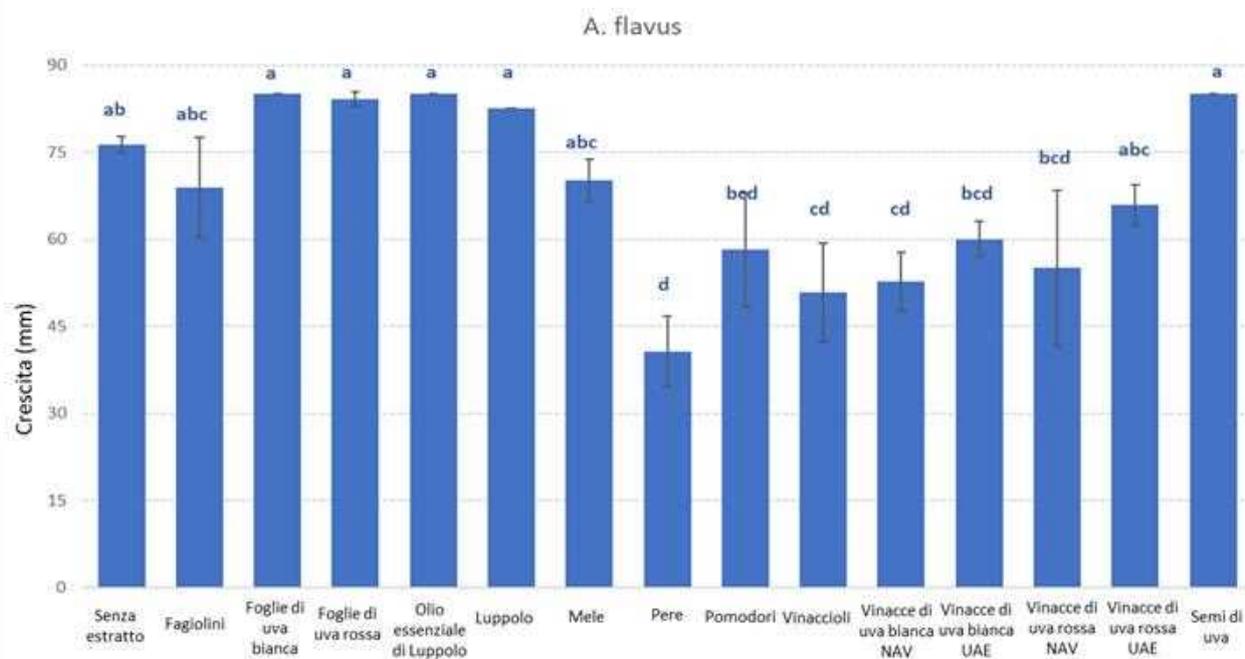


Figura 6- Crescita di *Aspergillus flavus* (in mm) su piastra con terreno agarizzato rispetto alla crescita dello stesso fungo in presenza dei diversi estratti naturali utilizzati

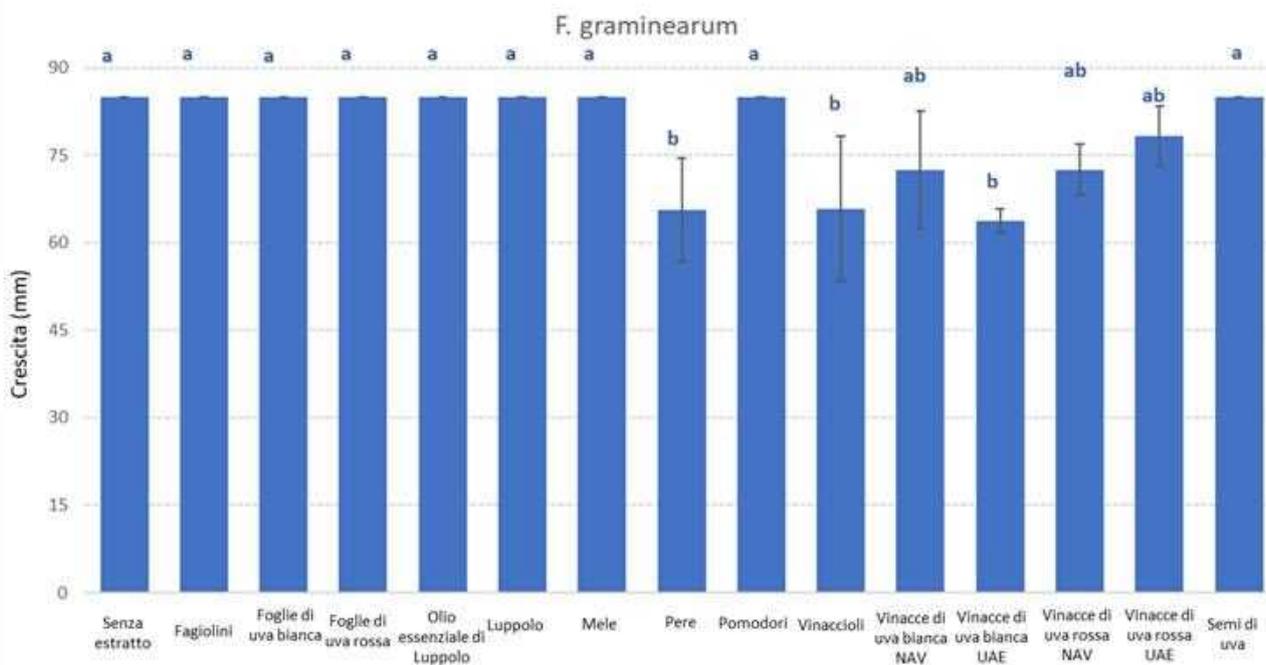


Figura 7- Crescita di *Fusarium graminearum* (in mm) su piastra con terreno agarizzato (istogramma a sinistra) rispetto alla crescita dello stesso fungo in presenza dei diversi estratti naturali utilizzati

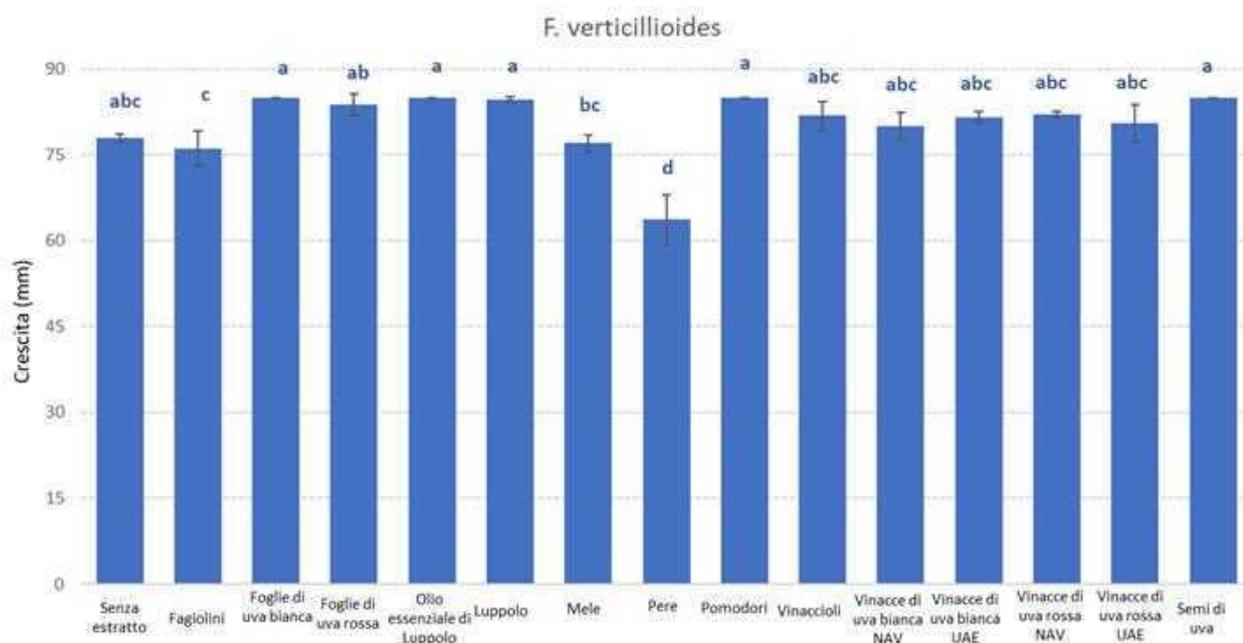


Figura 8- Crescita di *Fusarium verticillioides* (in mm) su piastra con terreno agarizzato (istogramma più a sinistra) rispetto alla crescita dello stesso fungo in presenza dei diversi estratti naturali utilizzati

Per quanto riguarda le micotossine, invece, l'efficacia di riduzione è risultata intorno al 50% per i tricoteceni, al 70% per le aflatossine e all'80% per le fumonisine. Anche in questo caso, l'efficacia degli estratti era legata alla micotossina considerata (Figura 9, Figura 10 e Figura 11).

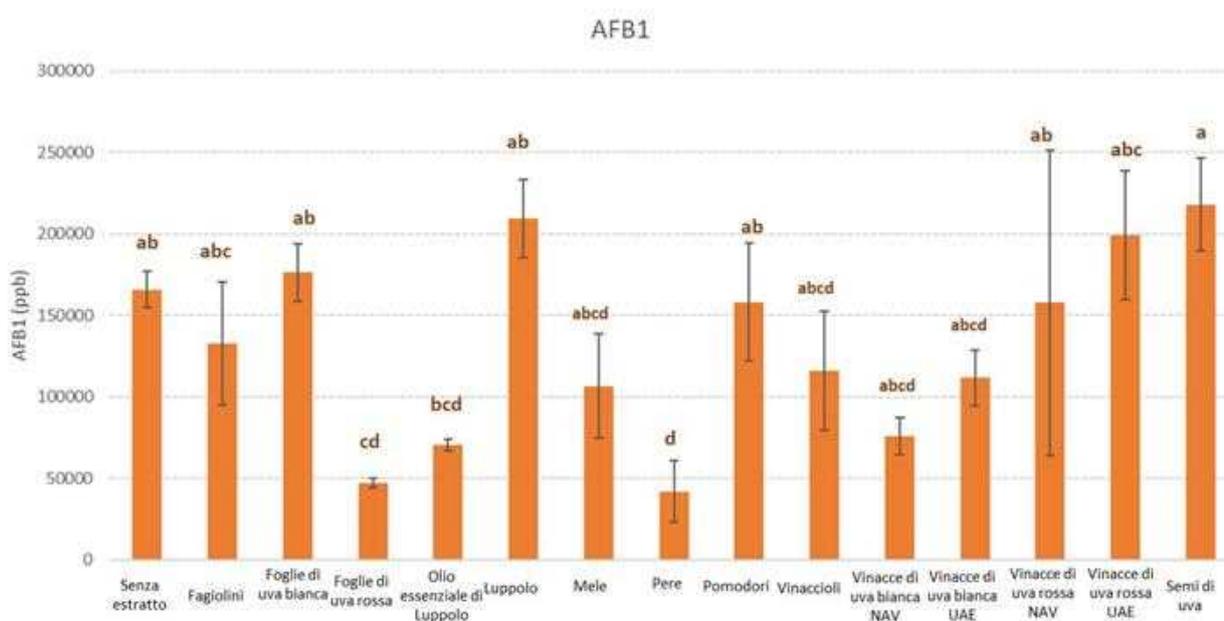


Figura 9 - Produzione di aflatoxina B1 (microgrammi/kg) su piastra con terreno agarizzato (istogramma più a sinistra) rispetto alla produzione della stessa micotossina in presenza dei diversi estratti naturali utilizzati

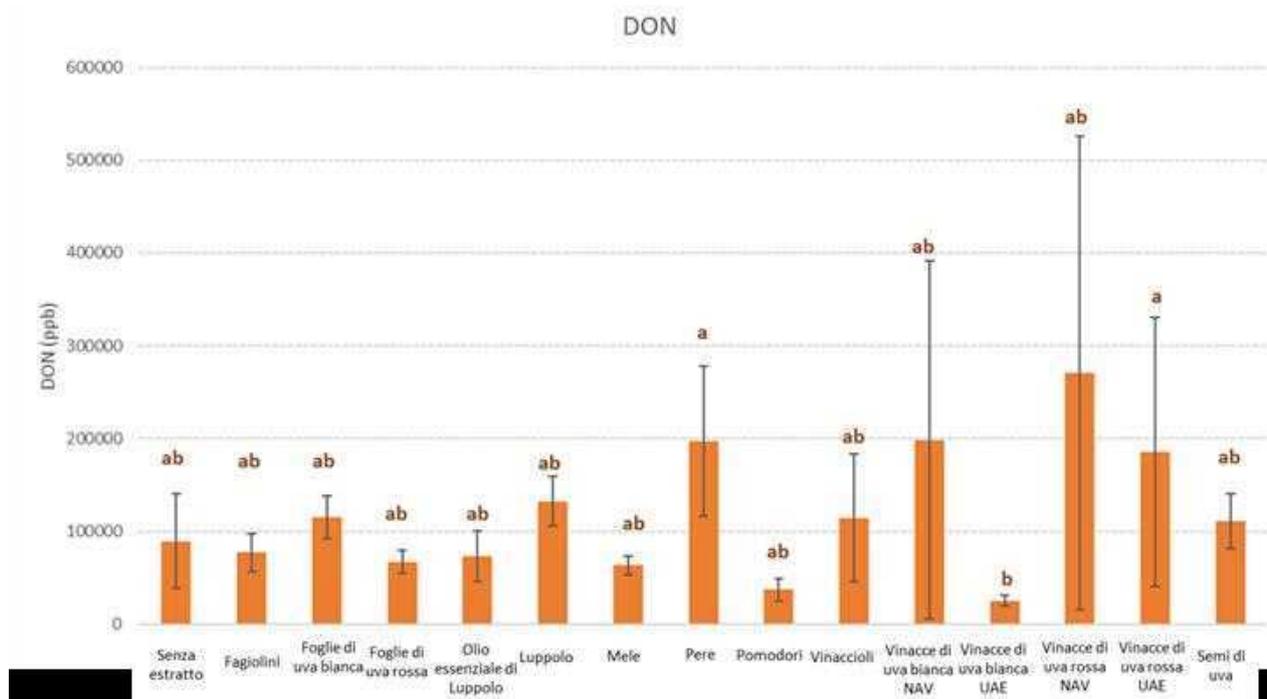


Figura 10 - Produzione di deossinivalenolo (microgrammi/kg) su piastra con terreno agarizzato (istogramma a sinistra) rispetto alla produzione della stessa micotossina in presenza dei diversi estratti naturali utilizzati

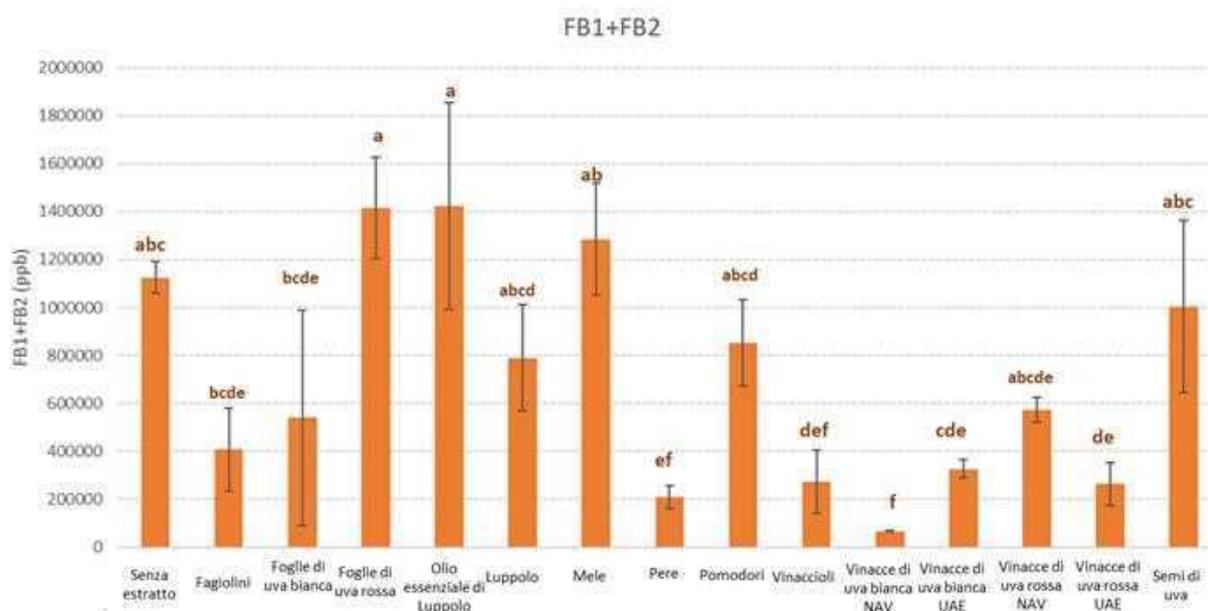


Figura 11 - Produzione di fumonisine (microgrammi/kg) su piastra con terreno agarizzato (istogramma a sinistra) rispetto alla produzione della stessa micotossina in presenza dei diversi estratti naturali utilizzati

Conclusioni

L'attività svolta ha permesso di valutare in modo concreto alcuni estratti naturali per il contenimento delle micotossine da parte dei principali funghi produttori del mais. I risultati ottenuti sono molto incoraggianti e ci aiutano nel focalizzare gli obiettivi futuri solo su quegli estratti che

hanno mostrato maggiore efficacia sia nel contenimento della crescita fungina che, soprattutto, sulla produzione di micotossine. In particolare, sia gli estratti più promettenti che le relative concentrazioni maggiormente efficaci sono state individuate. Ulteriori studi saranno necessari per valutare eventuali azioni sinergiche dovute all'uso contemporaneo di più estratti e al possibile timing di utilizzo in pieno campo.

AZIONE 3 – Prove agronomiche su mais ad uso zootecnico

Introduzione

L'obiettivo dell'attività svolta è stato quello di valutare l'efficacia degli estratti ottenuti da scarti alimentari nel ridurre la contaminazione da funghi micotossigeni e la loro produzione di micotossine in prove di campo su mais. Sono stati testati 3 estratti per 2 anni, scegliendo quelli che avevano mostrato i risultati più promettenti nelle prove dell'azione 2. Il campo è stato suddiviso in più parcelle e i dati ottenuti sono stati quindi confrontati tra di loro, considerando anche un trattamento chimico, uno biologico e uno non trattato. Gli estratti sono stati distribuiti in campo nel mese di luglio, nel periodo di fine fioritura, e il mais è stato interamente raccolto a maturazione completa e analizzato per la determinazione della conta fungina e delle micotossine principali del mais, aflatossine, fumonisine, deossinivalenolo e zearalenone, mediante tecniche cromatografiche.

Materiali e metodi

La prova di campo è stata effettuata presso l'azienda Leona, partner del progetto, situata a Jolanda di Savoia in provincia di Ferrara. In un campo destinato alla coltivazione di mais è stata identificata un'area a sua volta divisa in parcelle di 4 x 5 metri (circa 90 piante per parcella) per un totale di 18 parcelle; per ogni trattamento sono state effettuate 3 repliche (Figura 12 e Figura 13).

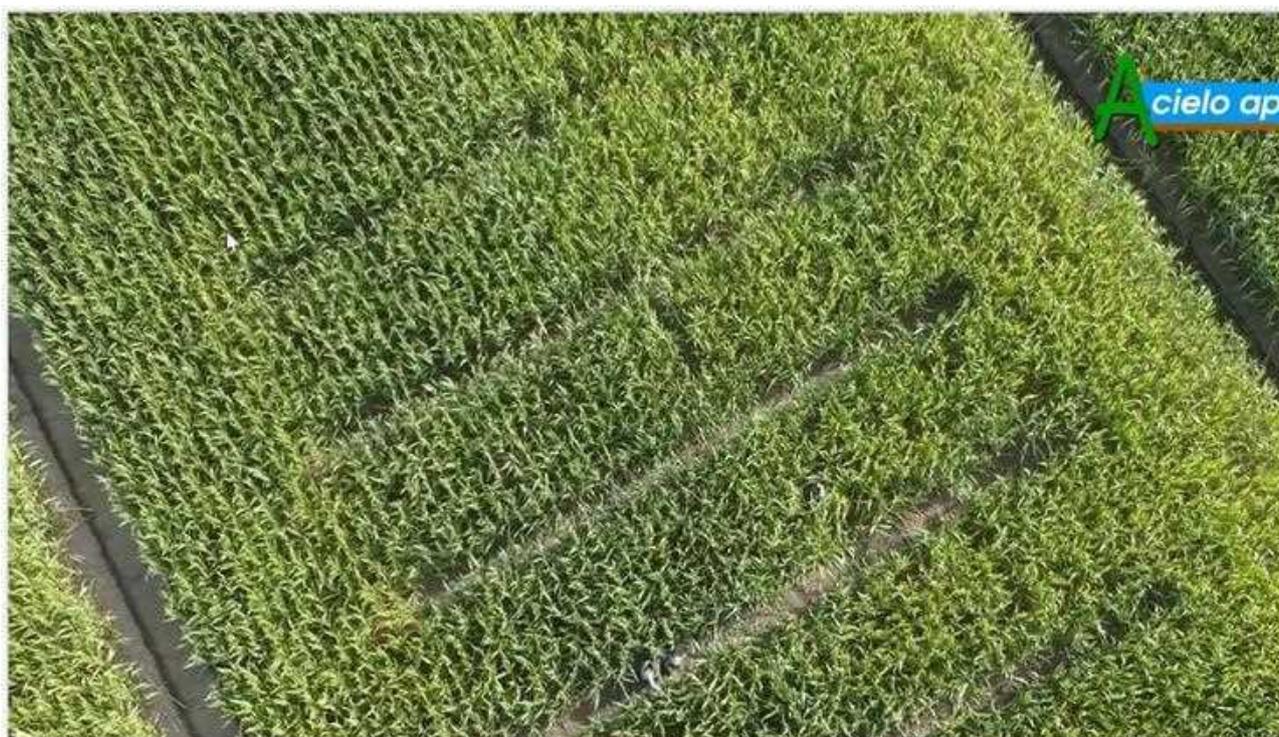


Figura 12- Campo sperimentale con parcelle visto dall'alto, presso l'azienda Leona (FE)

Nella prima annualità, 2021, sono stati testati gli estratti di **luppolo**, **vinacce bianche** e **pere**, confrontandoli con un trattamento chimico (Prosaro), uno biologico (Serenade) e uno non trattato e somministrati sulle piante il 23 luglio con irroratori a spalla (Figura 14). Tutto il campo è stato sottoposto anche a trattamento anti-piralide (con *Trichogramma brassicae*). La granella delle prove parcellari è stata raccolta a maturazione completa, mentre il resto del campo è stato raccolto dall'azienda circa 15 giorni prima, a maturazione cerosa, lasciando le parcelle sperimentali esposte.

Per ogni parcella sono state raccolte tutte le spighe, ottenendo circa 20-22 kg di granella per parcella. Dopo essiccazione, circa 12 kg di granella sono state macinate con mulino con griglia da 1 mm, quindi omogeneizzate (ad umido per le aflatossine con relativa ulteriore essiccazione e macinazione, a secco per le altre micotossine). 2 kg di campione è stato conservato a -20°C per le analisi riguardante la determinazione delle micotossine. Per la conta fungina, è stato prelevato un campione di 1 kg prima dell'essiccazione.



Figura 13- Squadratura campo sperimentale

Nella seconda annualità, 2022, sono stati testati gli estratti di **luppolo** e **vinacce bianche**. Oltre a quelli con gli estratti, sono stati considerati anche trattamenti più tradizionali con prodotti consentiti in agricoltura biologica a base di *Bacillus spp.*, e un prodotto chimico che ha ottenuto la delega per l'utilizzazione su mais contro la fusariosi. I prodotti commerciali sono stati utilizzati a dose d'etichetta. Gli estratti e il *Bacillus spp* sono stati confrontati sempre con uno non trattato, uno chimico e uno biologico. I trattamenti sono stati compiuti il 14 luglio con irroratori a spalla. Nel secondo anno si è ripetuto il trattamento delle spighe con i soli estratti naturali anche 3 settimane prima della raccolta, per sopperire al fatto che la loro durabilità ad alte temperature e in piena luce poteva essere compromessa. Per evitare troppa esposizione delle parcella si è provveduto a lasciare ulteriori tre file di piante di mais non trattate lungo il perimetro della prova sperimentale, fino alla raccolta a maturazione completa. Raccolte le spighe, si è proceduto alle fasi di essiccazione, macinazione, omogeneizzazione e analisi come nel primo anno.

Per la determinazione delle micotossine, le analisi hanno previsto un'estrazione con miscele acquose di solventi e purificazione con colonne ad immunoaffinità. Aflatossine e zearalenone sono stati determinati mediante HPLC con rilevazione fluorimetrica, fumonisine con LC-MS/MS a triplo quadrupolo, deossinivalenolo con GC-MS dopo derivatizzazione.



Figura 14- Irroratori per il trattamento in campo

Risultati

Riguardo le rese agronomiche delle diverse parcelle prese in considerazione nei due anni di studio, nessuna differenza è stata rilevata indipendentemente dal trattamento subito in campo.

Riguardo, invece, la contaminazione fungina e la presenza di micotossine, i risultati sono stati differenti nei due anni, dovuto anche alle differenti condizioni meteorologiche e all'esposizione subita dalle piante di mais negli ultimi 15 giorni del primo anno. Infatti, nel 2021, è stata osservata una differenza significativa del tenore di umidità e di acqua libera tra le parcelle, constatando una diminuzione di aw (acqua libera) per quelle esposte sul lato nord rispetto a quelle sul lato sud, variando da un valore medio di $0,899 \pm 0,009$ a $0,786 \pm 0,022$. Questo aspetto ha comportato risultati non omogenei tra le repliche dei singoli trattamenti, distribuite casualmente nello schema del piano sperimentale. In Tabella 8 sono riportati i valori di aw, umidità e aflatoxina B1 e le relative medie per ogni trattamento.

Tabella 8- Valori di aw, umidità e aflatoxina B1 e le relative medie per ogni trattamento

	aw	Um	AFB1	
			ppb	Media \pm dev. std
	-	%		
Non Trattato 1	0,781	15,1	0,81	0,94 \pm 0,72
Non Trattato 2	0,872	19,1	1,72	
Non Trattato 3	0,871	18,3	0,29	
Chimico 1	0,909	17,9	4,91	4,56 \pm 4,26
Chimico 2	0,899	19,8	0,14	
Chimico 3	0,889	19,0	8,63	
BIO 1	0,767	11,2	2,49	27,24 \pm 44,22

BIO 2	0,771	12,1	0,94	
BIO 3	0,903	17,2	78,30	
PERA 1	0,859	16,3	0,21	
PERA 2	0,881	18,8	77,35	33,92±39,48
PERA 3	0,903	20,9	24,21	
Vinacce Bia 1	0,885	16,0	67,43	
Vinacce Bia 2	0,899	18,9	1,78	30,82±33,47
Vinacce Bia 3	0,873	20,0	23,27	
LUPPOLO 1	0,810	13,5	12,38	
LUPPOLO 2	0,925	20,1	0,52	8,53±6,94
LUPPOLO 3	0,906	21,7	12,71	



Figura 15 - Raccolta del mais nei due anni in cui è stata eseguita la prova in campo

Si può osservare come, per la minore aw (sempre inferiore a 0,880), il mais non trattato ha mostrato una bassa contaminazione, rivelatesi invece alta negli altri trattamenti, specialmente quando l'aw è risultata superiore a 0,880. Tra gli estratti, il trattamento con luppolo ha dato valori più bassi, vicini al trattamento chimico.

La Tabella 9 mostra i valori per la fumonisina B1.

Tabella 9 - Valori di aw, umidità e fumonisina B1 e le relative medie per ogni trattamento

	aw	Umidità	FB1	
			ppb	Media ± dev. std
Non Trattato I	0,781	15,1	929	2763±1937
Non Trattato II	0,872	19,1	2571	

Non Trattato III	0,871	18,3	4789	
Chimico I	0,909	17,9	6220	6933±1061
Chimico II	0,911	19,8	6427	
Chimico III	0,889	19,0	8152	
BIO I	0,767	11,2	867	2608±2246
BIO II	0,771	12,1	1815	
BIO III	0,903	17,2	5143	
PERA I	0,859	16,3	2380	5935±3240
PERA II	0,881	18,8	8722	
PERA III	0,903	20,9	6703	
VCB NAV I	0,885	16,0	3013	4896±1634
VCB NAV II	0,899	18,9	5756	
VCB NAV III	0,873	20,0	5921	
LUPPOLO I	0,81	13,5	930	4655±3254
LUPPOLO II	0,925	20,1	6945	
LUPPOLO III	0,906	21,7	6091	

Come per l'AFB1, si osserva una notevole influenza del valore di aw sul contenuto di fumonisine, dato evidenziato anche dalla Figura 16. Le concentrazioni più basse sono state riscontrate per il non controllo e il trattamento biologico.

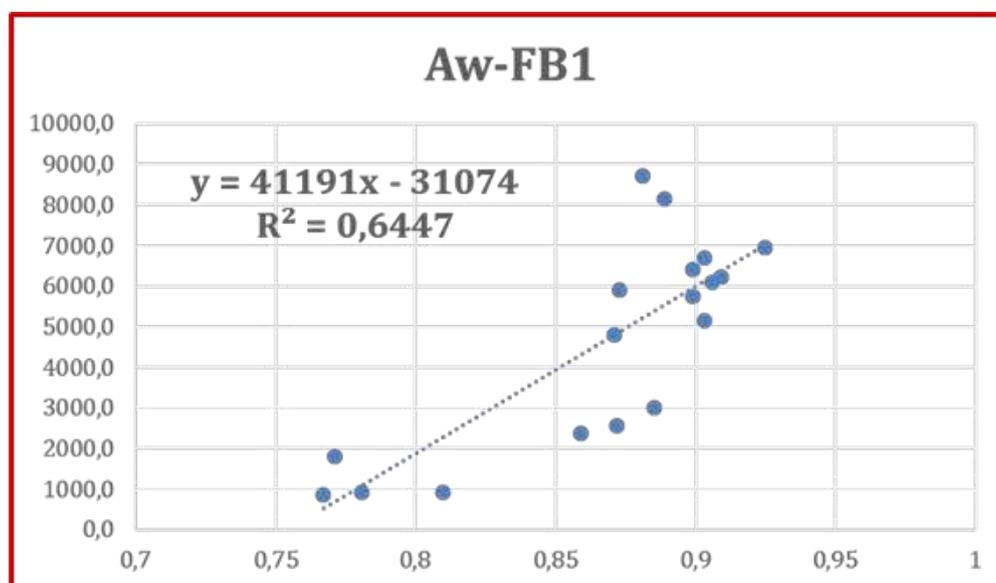


Figura 16- Correlazione tra acqua libera (aw) e concentrazione di AFB1

Nel secondo anno, la protezione delle file esterne di mais lasciate fino al termine della prova ha permesso di ottenere valori di aw simili per ogni parcella.

L'estate 2022 è stata caratterizzata da una notevole siccità ed alte temperature, questo ha portato ad avere scarsi raccolti di mais in Pianura Padana con talvolta alte concentrazioni di aflatossine. La

medesima situazione si è verificata nella prova di campo; la Tabella 10 evidenzia gli alti valori di AFB1.

Tabella 10 - Valori di aw, umidità e aflatoxina B1 e le relative medie per ogni trattamento

	aw	AFB1	
		ppb	Media ± dev. std
Non Trattato I	0,755	81,93	56,9±23,2
Non Trattato II	0,738	36,06	
Non Trattato III	0,747	52,81	
Chimico I	0,77	21,93	96,6±124,6
Chimico II	0,725	27,52	
Chimico III	0,689	240,49	
Biol A I	0,766	36,84	51,2±25,1
Biol A II	0,733	80,17	
Biol A III	0,742	36,62	
Lupp I	0,751	1,85	32,4±37,9
Lupp II	0,76	74,90	
Lupp III	0,73	20,57	
Biol B I	0,783	30,17	33,5±18,3
Biol B II	0,766	53,26	
Biol B III	0,737	17,19	
Uva I	0,74	33,29	78,2±51,0
Uva II	0,718	133,58	
Uva III	0,73	67,59	

La concentrazione media di AFB1, nel campo, è stata pari a circa 55 ppb; nonostante le alte variabilità dovute alla contaminazione spesso puntiforme delle aflatoxine, i trattamenti con luppolo e *B. subtilis* sono risultati quelli con i valori medi più bassi anche se non statisticamente significativi. Inoltre, il trattamento con luppolo è risultata l'unica parcella con un valore inferiore a 2 ppb, quando in tutte le altre sono stati rilevati valori superiori a 17 ppb.

Per le fumonisine, invece la contaminazione è risultata abbastanza omogenea e simile per tutte le parcelle, constatando solo una lieve diminuzione per il trattamento chimico, pari a circa il 10% (Tabella 11).

Tabella 11- Valori di aw, umidità e fumonisina B1 e le relative medie per ogni trattamento

	aw	FB1	
		ppb	Media ± dev. std
Non Trattato I	0,755	2345	2128±195,1
Non Trattato II	0,738	2073	

Non Trattato III	0,747	1967	
Chimico I	0,77	1944	1815±139,1
Chimico II	0,725	1668	
Chimico III	0,689	1834	
Biol A I	0,766	3198	2522±652,4
Biol A II	0,733	2473	
Biol A III	0,742	1896	
Lupp I	0,751	3225	2286±815
Lupp II	0,76	1882	
Lupp III	0,73	1753	
Biol B I	0,783	4666	3254±1620,1
Biol B II	0,766	3610	
Biol B III	0,737	1485	
Uva I	0,74	2361	2565±334,7
Uva II	0,718	2951	
Uva III	0,73	2383	

In entrambe le annualità sperimentali, non è stata rilevata contaminazione da deossinivalenolo e zearalenone. Inoltre campioni di mais sono stati prelevati nelle file adiacenti al campo sperimentale in fase di maturazione cerosa ed analizzati evidenziando come la contaminazione da aflatossine e fumonisine fosse estremamente bassa o non rilevabile.

Riassumendo i risultati: in entrambi gli anni è stata riscontrata un'elevata contaminazione da aflatossine; il primo anno questa è risultata influenzata dai diversi valori di acqua libera riscontrati tra le parcelle e ha determinato quindi variazioni elevate di contaminazione tra replicati della stessa tesi, compromettendo un'eventuale riduzione degli estratti. Nel secondo anno, le tesi trattate con luppolo hanno mostrato una contaminazione media decisamente inferiore rispetto alla tesi non trattata, anche se le differenze non sono risultate significative all'analisi statistica a causa di alcune variabilità tra i replicati.

Dalla sperimentazione viene comunque confermato che i livelli di aflatossina si alzano enormemente nei giorni successivi alla maturazione di raccolta. Il mais della prova è stato analizzato dopo 2 settimane rispetto alla maturazione fisiologica della spiga e dalle analisi fatte risulta che il livello di micotossina aumenta lasciando il mais in campo, come già sottolineato dalle linee guida del Ministero dell'agricoltura per la prevenzione delle micotossine in mais. Questo è il motivo per cui, nel secondo anno di sperimentazione, i trattamenti sono stati ripetuti con gli estratti naturali poco prima della raccolta.

Conclusioni

La prova di campo ha evidenziato la presenza di numerosi aspetti che devono essere affrontati per confermare i risultati positivi ottenuti in vitro. La differente tempistica di raccolta nel primo anno e le sfavorevoli condizioni meteorologiche del secondo anno hanno influenzato l'esito dei risultati determinando un'alta variabilità tra le repliche dei singoli trattamenti. L'estratto di **luppolo** ha mostrato delle buone riduzioni nella contaminazione da aflatossine in alcuni replicati in entrambe le

annualità. Ulteriori prove sono necessarie per ottenere una valutazione sicura sull'efficacia di questi estratti, nelle quali si può valutare un utilizzo di più estratti contemporaneamente, trattamenti misti con fungicida chimico ed estratti al fine di aumentarne l'efficienza riducendo l'uso di prodotti di sintesi e infine l'aggiunta di formulanti che possono aumentare la stabilità nel tempo degli estratti. Inoltre, le prove di concia degli estratti sul seme (Figura 17 e Figura 18) hanno dato dei risultati preliminari molto interessanti sia per un migliore sviluppo della pianta che per la protezione nelle prime fasi di crescita, tanto da prendere in considerazione, per il futuro, di proporre di effettuare prove in campo con semi precedentemente trattati con questi estratti.



Figura 17- Test in vitro concia delle granelle – test di germinazione

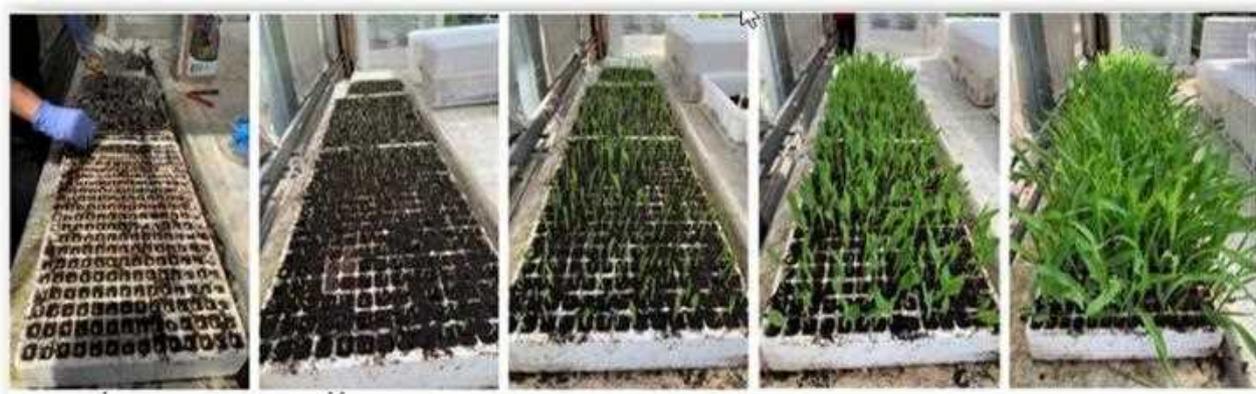


Figura 18 - Test in vitro concia delle granelle - test di crescita delle piante

AZIONE 4 – Prove di stalla: comportamento alimentare e performances

Introduzione

L'obiettivo dell'attività prevista in questa azione è stato quello di valutare se le molecole individuate per contrastare lo sviluppo fungino potessero interagire con le caratteristiche del latte di vacche che avessero assunto il mais proveniente dalle attività sperimentali di campo. Si è dovuta accantonare la possibilità di utilizzare tali granelle in quanto dalle analisi sono tutte risultate con concentrazioni di micotossine oltre la soglia di legge per l'uso in alimentazione delle vacche da latte. Per questo si è optato per aggiungere direttamente l'estratto vegetale selezionato, in base ai risultati ottenuti dalle prove di laboratorio e campo (descritte nelle azioni precedenti), a mais sano.

Nello specifico, presso l'allevamento di bovine da latte prescelto, sono state individuate 3 vacche in lattazione che sono state mantenute separate dal resto della mandria e che per 15 giorni hanno ricevuto la razione normalmente distribuita in stalla per i capi allo stesso stadio produttivo, ma dove 1 kg di farina di mais della razione è stato sostituito con la stessa quantità di farina di mais trattata con estratto di **luppolo**.

Il latte delle 3 bovine del gruppo "trattato" è stato confrontato dal punto di vista tecnologico con il latte degli altri capi del gruppo "controllo" il giorno prima dell'inizio della somministrazione della farina di mais trattata (T0), dopo 7 giorni di trattamento (T7) e dopo 15 giorni (T15).

Nello specifico il latte delle due tesi è stato confrontato considerando questi tre parametri:

- presenza di inibenti;
- resa casearia;
- tempo ottimale di taglio della cagliata (ToT);
- consistenza del coagulo al momento del taglio della cagliata.

Materiali e metodi

Precedentemente all'inizio della prova di alimentazione in stalla, una idonea quantità di granella di mais è stata miscelata con quantità pre-determinate di estratti vegetale derivanti dalle tesi che hanno dimostrato la migliore efficacia nelle prove parcellari in campo nel contenimento delle aflatossine. Nello specifico si è utilizzato l'estratto di luppolo, aggiunto nella dose di 1 mg/kg. Il mais trattato è stato macinato e ridotto allo stato di farina in modo tale da facilitarne la somministrazione giornaliera in stalla alle bovine selezionate per la prova, in ragione di 1 kg al giorno.

Per la conduzione della prova, sono state scelte tre bovine con periodo di lattazione diverse in modo da rappresentare il mix presente in stalla (Figura 19).



Figura 19- Trattamento delle granelle di mais con l'estratto e momenti di somministrazione nella razione giornaliera in stalla

Al momento dell'inizio della prova, la razione somministrata in stalla prevedeva una quota di fieno pari a 15 kg capo/gg suddiviso equamente tra 1° taglio di graminacee da essiccatoio, 1° taglio di graminacee grossolano e 2° taglio di erba medica da essiccatoio. Il foraggio è stato distribuito “*ad libitum*” senza nessuna differenziazione tra gli animali. La quota di concentrato distribuito con gli auto alimentatori è stata differenziata in funzione della lattazione con la quantità minima di circa 7 kg somministrata alla bovina con la lattazione più avanzata mentre le per le altre due bovine la quantità è stata circa di 10 kg con una aggiunta di 1 kg di supplemento “energetico” per la “fresca”. Per la conduzione della prova, in accordo con l'allevatore, è stato sostituito 1 kg di concentrato con 1 kg di farina di mais trattata, distribuita giornalmente alle tre bovine. Il periodo di

somministrazione è stato di 15 giorni durante i quali non ci sono stati problemi da parte degli animali nel riconoscere e assimilare il nuovo alimento.

Tabella 12- Composizione dei mangimi utilizzati

Campione	SS [%]	Proteine [%SS]	Grassi [%SS]	Fibra Grezza [%SS]	Ceneri [%SS]
Mangime complementare Supplemento	88,00	16,48	5,11	8,64	9,09
Mangime complementare	88,00	13,07	3,41	17,61	5,68

Tabella 13- Composizione dei fieni utilizzati

Campione	SS [%]	Ceneri [%SS]	Proteine [%SS]	ndip [%SS]	adip [%SS]	solp [%SS]	solp [%PG]	aNDFom [%SS]	ADF [%SS]	ADL [%SS]	dNDF 24h in vitro [%NDF]
Fieno in balloni	92,70	8,32	8,26	1,59	1,18	3,80	46,08	59,38	40,12	5,70	44,98
Fieno essiccatore primo taglio	92,51	9,35	10,54	1,63	1,16	5,49	52,13	51,93	36,94	5,26	49,94
Fieno essiccatore secondo taglio	92,73	9,39	14,33	1,74	1,28	6,47	45,13	52,01	41,68	7,73	38,50

Campione	SS [%]	uNDF [%SS]	uNDF [%NDF]	dNDF ₂ 40) [%SS]	dNDF ₂ 40) [%NDF]	Grassi [%SS]	Amido [%SS]	Zuccheri [%SS]	TDN	ENL [kcal/kg SS]	UFL [n/kg SS]
Fieno in balloni	92,70	21,19	35,69	38,19	64,31	1,32	2,16	9,86	53,84	1144,57	0,67
Fieno essiccatore primo taglio	92,51	19,45	37,46	32,47	62,54	1,29	1,96	10,38	55,67	1221,37	0,72
Fieno essiccatore secondo taglio	92,73	26,90	51,72	25,11	48,28	1,71	1,25	6,93	52,37	1158,10	0,68

Con l'obiettivo di verificare che il prodotto aggiunto non interferisse con l'utilizzazione digestiva delle diete somministrate sono state effettuate le analisi delle feci delle vacche in prova alla fine dei 15 giorni di somministrazione delle due diete.

Il latte delle bovine del gruppo che avrebbe ricevuto il mais trattato (LT) è stato munto separatamente dal latte del resto della mandria (LC) già a partire del giorno prima dell'inizio della somministrazione. Campioni di latte LT e LC sono stati prelevati a T0 (prima dell'inizio del trattamento), a T7giorni e a T 15 giorni.

Per la determinazione dei parametri tecnologici che indicano l'attitudine del latte alla trasformazione in formaggio, sono state eseguite delle caseificazioni sperimentali applicando un protocollo appositamente predisposto da CRPA LAB. Il tempo ottimale di taglio della cagliata e la consistenza del coagulo al momento del taglio della cagliata sono stati determinati attraverso

l'utilizzo di uno strumento ottico (Optigraph) che consente di monitorare la fase di coagulazione nelle condizioni delle prove.

L'attività di caratterizzazione tecnologica del latte ha previsto le seguenti fasi in tutti e tre i tempi selezionati:

- preparazione del siero innesto;
- caseificazione a scala di laboratorio;
- trasformazione del siero di fine lavorazione in siero innesto;

Per ottenere il siero innesto da impiegare per l'avvio delle prove di caseificazione si è fatto ricorso ad un siero dolce disidratato disponibile in commercio inoculato con siero innesto conservato tramite liofilizzazione. Il siero innesto reidratato ottenuto è stato quindi sottoposto ad un processo di fermentazione controllata messo a punto da CRPA Lab. Durante questa fase è stato monitorato il pH ed è stata determinata l'acidità iniziale e finale, Tabella 14.

Tabella 14- Valori di pH e acidità finali dei sieri innesti impiegati nelle tre prove di caseificazione

<i>Siero innesto</i>	<i>pH</i>	<i>°SH/50</i>
SI - T0	3,52	31,0
SI - T7	3,52	30,5
SI - T15	3,35	29,5

Caseificazione a scala di laboratorio

Le caseificazioni sono state condotte secondo la procedura per la produzione di formaggi a scala di laboratorio (Bortolazzo et al, 2014 , 2022) per ottenere un siero innesto paragonabile a quello del Parmigiano Reggiano da poter poi trasformare in siero innesto e studiarne le sue caratteristiche.

Per le prove sono stati utilizzati 4 coagulatori in acciaio inox di 10 litri di capacità nominale con intercapedine, dotati di agitatori con velocità regolabile, controllo della temperatura e monitoraggio del pH. I parametri tecnici di lavorazione, tempo, temperatura e velocità di agitazione sono stati impostati in modo da riprodurre le condizioni caratteristiche della produzione di PR.

Caseificazione

Circa 7 kg di latte intero, miscelati e pesati, sono riscaldati fino a circa 30°C, momento nel quale si aggiunge il siero innesto (S) in quantità tale da raggiungere 4,4 °SH/50 ml di acidità e assicurarsi che il pH sia tra 3,35 – 3,40. Aggiunto il siero innesto, il mix si mantiene a 30°C per circa 30 minuti, e successivamente si aggiusta la temperatura a 34°C. Arrivata questa temperatura si aggiunge il caglio (Clerici - 1000 IMCU), in modo di raggiungere la coagulazione e rassodamento del latte in un tempo variabile tra 10 e 12 minuti. Il tempo ottimale per il taglio della cagliata (tempo di coagulazione + rassodamento) viene definito tramite lo strumento Optigraph. Una volta raggiunto il momento ottimale si procede con il taglio della cagliata in cubi di circa 0,5 – 0,7 cm di lato. Tagliata la cagliata si procede alla sua cottura, aumentando la temperatura fino a 55°C; raggiunta questa temperatura, si ritira circa 1 litro di siero da destinare alla fermentazione e la cagliata rimane sotto siero, mantenendo costante la temperatura per altri 45 minuti. Trascorso questo periodo, si ritira la cagliata, si colloca nelle fascere e dopo circa 1 ora si misura il pH, si pesa la cagliata e si preleva un campione per determinare l'umidità della cagliata. Con questa

informazione si calcola la resa casearia standard che consente di valutare la bontà della procedura o individuare fattori critici del latte.

Durante la caseificazione sono stati monitorati e registrati i seguenti parametri: pH, temperatura e tempi delle operazioni durante tutta la fase di caseificazione, misura dell'acidità del latte iniziale, dopo l'aggiunta del siero innesto e al momento del prelievo del siero da destinare alla fermentazione e prelievo del siero di fine lavorazione per analisi microbiologica prima della fase di fermentazione.

Risultati

Come si può evincere dai risultati riportati nella Tabella 15, non sono rilevabili differenze nella composizione delle feci imputabili alle differenze nelle diete. Non è stata effettuata alcuna valutazione statistica delle differenze tra le medie, considerando che gli animali sarebbero stati confrontabili solo a parità di stadio di lattazione e razione somministrata.

Tabella 15 - Composizione delle feci

Campione	SS [%]	Ceneri [%SS]	Proteine [%SS]	aNDFom [%SS]	ADF [%SS]	ADL [%SS]	uNDF [%SS]	Amido [%SS]
Animali di controllo (1-3)								
1,00	10,15	10,15	11,35	65,26	49,36	11,21	42,35	1,62
2,00	12,26	10,77	10,96	65,60	49,58	11,63	42,15	1,40
3,00	12,54	10,44	11,20	65,73	49,56	14,87	44,81	1,57
Media	11,65	10,45	11,17	65,53	49,50	12,57	43,10	1,53
Animali che hanno ricevuto il trattamento (4-6)								
4,00	13,07	10,92	11,43	63,92	48,69	9,80	39,18	1,68
5,00	12,39	10,79	11,43	65,78	49,88	10,68	41,20	1,31
6,00	10,18	11,30	10,84	67,45	51,16	9,62	36,67	0,99
Media	11,88	11,00	11,23	65,71	49,91	10,03	39,02	1,33

La composizione delle feci di entrambi i gruppi è sovrapponibile e non si individua alcuna differenza di rilievo nel contenuto di proteina, ceneri, NDF e amido. Gli animali che hanno assunto il mais additivato di estratto di luppolo hanno fornito feci con una quota inferiore di fibra indigerita (uNDF), risultato che però senza supporto statistico non può essere ascritto al trattamento. In ogni caso l'effetto dell'additivazione non sarebbe peggiorativo sulla digeribilità e quindi si può concludere che l'inclusione dell'estratto di luppolo nelle dosi della prova su base giornaliera non abbia modificato in senso negativo le performance digestive degli animali.

La composizione media del latte impiegato nelle prove (LT, LC) così come i parametri che

caratterizzano la caseificazione sono stati riassunti nella Tabella 16. Le prove di caseificazione sono state condotte in doppio e nella Tabella 16 sono stati illustrati i risultati medi dei parametri utili per valutare la performance del latte durante la caseificazione: resa casearia standard, tempo ottimale di taglio (ToT) e consistenza del coagulo al momento del taglio della cagliata.

Prima dell'inizio della prova (T0), il latte LT, presentava un contenuto superiore di grasso e caseina rispetto al latte ottenuto dal gruppo di controllo, di conseguenza la resa casearia standard è risultata superiore. Il tempo di coagulazione è risultato uguale per entrambe le tesi, intorno a 12 minuti, mentre il coagulo ottenuto è risultato leggermente più consistente per la cagliata ottenuta a partire di latte del gruppo di vacche di controllo. La ricerca di sostanze inibenti in entrambi i latti è risultata negativa.

Tabella 16- riassunto dei parametri del latte e della caseificazione a T0, T7 e T15

Parametri - T0	LT	LC	Media	Dev. St	Sign*.
°SH/50	4,05	4,10	4,08	0,05	n.s.
Grasso g/100 mL	4,26	3,57	3,91	0,40	***
Proteina g/100 mL	3,48	3,20	3,34	0,16	(n.d)
Lattosio g/100 mL	4,95	4,88	4,92	0,04	(n.d)
Caseina g/100 mL	2,78	2,55	2,66	0,13	***
Sostanze inibenti	assenti	assenti	assenti	assenti	
Resa latte standard (%)	9,85	8,67	9,26	0,71	*
ToT (min)	12,10	12,03	12,06	0,05	n.s.
Consistenza (V)	3,43	3,72	3,57	0,17	*

Parametri - T7	LT	LC	Media	Dev. St	Sign.
°SH/50	3,75	3,45	3,60	0,18	*
Grasso g/100 mL	4,43	3,62	4,02	0,47	**
Proteina g/100 mL	3,56	3,19	3,37	0,22	***
Lattosio g/100 mL	4,97	4,88	4,93	0,05	(n.d)
Caseina g/100 mL	2,82	2,53	2,67	0,17	(n.d)
Sostanze inibenti	assenti	assenti	assenti	assenti	assenti
Resa latte standard (%)	11,14	10,07	10,60	0,68	n.s.

ToT (min)	9,99	10,24	10,11	0,50	n.s.
Consistenza (V)	6,35	6,24	6,29	0,67	n.s.

Parametri - T15	LT	LC	Media	Dev. St	Sign.
°SH/50	4,00	3,90	3,95	0,06	n.s.
Grasso g/100 mL	4,16	3,63	3,90	0,31	***
Proteina g/100 mL	3,60	3,22	3,41	0,22	(n.d)
Lattosio g/100 mL	4,89	4,85	4,87	0,02	*
Caseina g/100 mL	2,84	2,56	2,70	0,16	***
Sostanze inibenti	assenti	assenti	assenti	assenti	-
Resa latte standard (%)	11,27	9,18	10,23	1,22	**
ToT (min)	10,52	9,82	10,17	0,71	n.s.
Consistenza (V)	5,99	6,93	6,46	0,64	n.s.

* Confronto delle medie eseguito attraverso il test -T di student per $\alpha=0,05$. Significatività, $p \leq 0,05 = *$; $p \leq 0,01 = **$ e $p \leq 0,001 = ***$

La composizione del latte LT, dopo 7 giorni e dopo 15 giorni dall'inizio del trattamento era più ricca di grasso, proteina e caseina rispetto a LC e come a T0, queste differenze nella composizione si sono riflessi sulla resa casearia standard. Anche in questo caso, l'indagine sulla presenza di inibenti nelle due tesi, a T7 e T15, è risultata negativa.

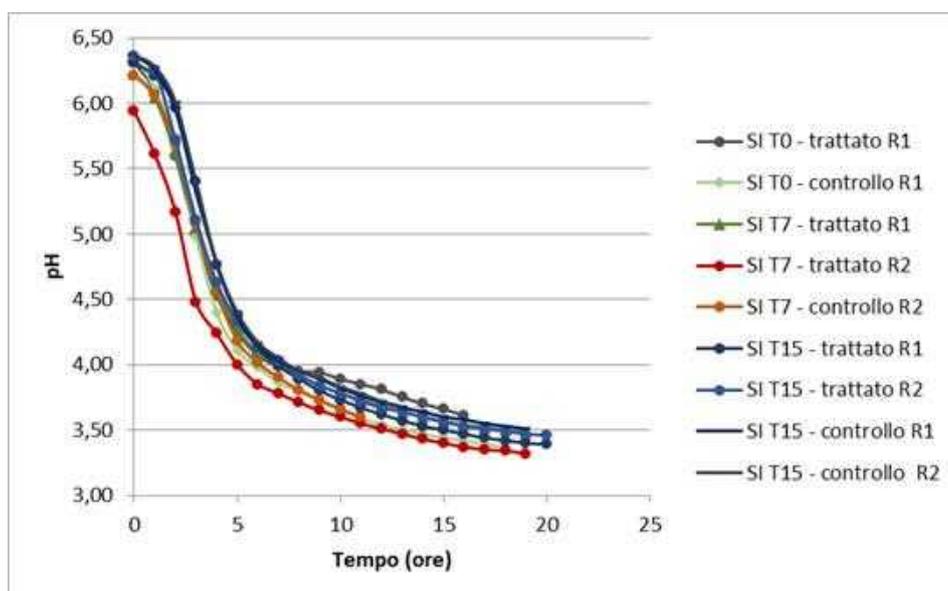


Figura 20 -Evoluzione del pH del siero di fine lavorazione

Tabella 17- Acidità, pH e attività fermentativa dei sieri innesti

SIERO INNESTO - TESI	Acidità [$^{\circ}$SH/50 ml]	pH	Attività fermentativa 55°C [$^{\circ}$SH/50 ml]
SI T0 - trattato	27,00	3,53	1,30
SI T0 - controllo	29,50	3,35	1,20
SI T7 - trattato	30,65	3,40	1,89
SI T7 - controllo	29,85	n.d.	1,87
SI T15 - trattato	30,35	3,43	1,73
SI T15 - controllo	29,40	3,51	1,44

La Tabella 17 riporta i parametri finali che caratterizzano il siero innesto: acidità, pH e attività fermentativa ottenuti a partire dalla fermentazione dei sieri di fine lavorazione. Nei 3 step presi in considerazione, l'acidità finale dei sieri innesti è sufficiente per avviare la caseificazione. Il siero innesto derivato dal latte del gruppo trattato a T0 presenta un'acidità inferiore. Questo valore inferiore è attribuibile a fattori esterni in quanto a T0 le vacche avevano la razione tradizionale (controllo). Il pH e l'attività fermentativa presentano dei valori caratteristici in entrambi i gruppi.

Valutazione efficacia di estratti sulla riduzione di micotossine presenti sulla superficie di formaggi stagionati.

Dal caseificio partner Coop. San Lorenzo sito a Prignano sul Secchia (MO) sono state prelevate 2 forme di grana stagionato 7 mesi, tagliate ad una profondità di 10 cm sotto la crosta e i campioni così ottenuti sono stati portati nei laboratori dell'università di Piacenza. Le croste con la parte sottostante sono state successivamente tagliate in cubi di 6 x 6 cm ed inoculate con i funghi micotossigeni *Penicillium nordicum* e *Aspergillus versicolor* (Figura 21). Anche una tesi non trattata è stata considerata nell'esperimento. Per ogni tesi sono state effettuate 3 repliche biologiche. Dopo 14 giorni di incubazione a 15°C si osservava la crescita di funghi sulla crosta. Le croste che prevedevano il trattamento con l'estratto sono state quindi spruzzate, a seconda della tesi, con 1 mL di estratto alla concentrazione di 1 ppm di luppolo, vinacce bianche e olive. Le croste sono state quindi poste di nuovo in incubazione a 15°C e dopo 4 settimane e successivamente ancora trattate sulla superficie con 1 mL di estratto. Quindi poste ancora in ambiente controllato a 15°C per altre 4 settimane. Al termine della prova, le croste sono state grattate e sul grattugiato è stata effettuata l'analisi per la determinazione di sterigmatocistina e ocratossina.

I risultati, soddisfacenti, mostrando riduzioni fino al 90% per la sterigmatocistina e il 100% per ocratossina come mostrato in Figura 23 e Figura 23.



Figura 21- Croste di formaggi stagionati per l'incubazione e preparazione dei funghi da inoculare

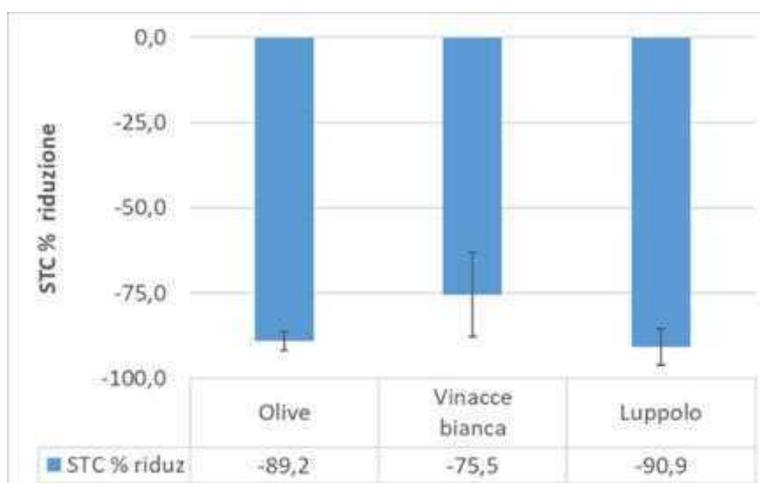


Figura 22- Percentuale di riduzione della micotossina sterigmatocistina (STC) a seguito del trattamenti della crosta con gli estratti naturali

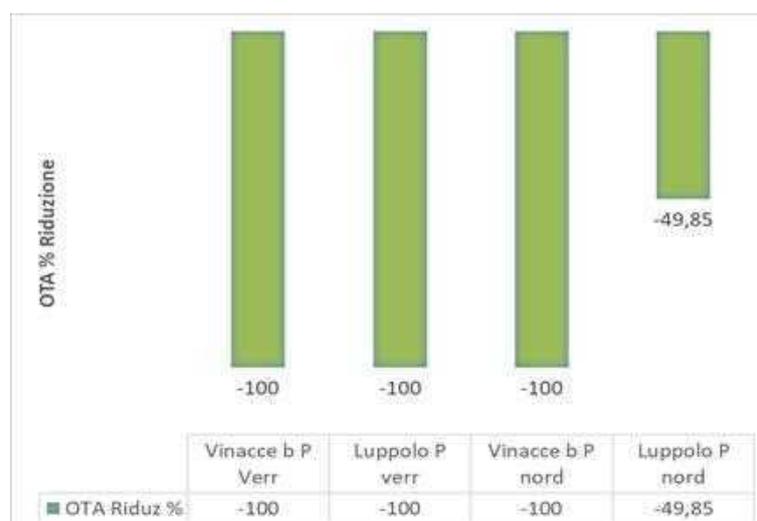


Figura 23- Percentuale di riduzione della micotossina ocratoxina (OTA) a seguito del trattamenti della crosta con gli estratti naturali

Conclusioni

Per l'attività di **alimentazione in stalla**, nelle condizioni della prova:

- la somministrazione di mais additivato di estratto di luppolo in ragione della dose pari a 1mg/kg non ha modificato l'utilizzazione digestiva della razione e la composizione delle feci, sovrapponibile in capi del controllo e del trattato che hanno consumato una razione identica per la quota di mangimi e a volontà per tutti i capi per quanto attiene la base foraggera

Per l'attività di **caseificazione**, nelle condizioni della prova:

- il latte proveniente dal gruppo di vacche che ha consumato il mais trattato è risultato negativo per la presenza di inibenti, così come quello del controllo;
- le differenze di resa casearia sono imputabili alla diversa composizione del latte e non a un effetto della sostanza utilizzata per trattare il mais,
- il tempo di coagulazione è risultato uguale per le due tesi in tutti e tra gli step: prima dell'inizio della prova di alimentazione, dopo una settimana e alla fine della prova,
- anche eventuali differenze nella consistenza del coagulo al momento del taglio della cagliata (T=0) sono imputabili alle differenze nella composizione del latte. Durante la prova e a fine prova non ci sono differenze significative riguardo la consistenza del coagulo,
- la performance della fermentazione del siero di fine lavorazione ottenuto nelle prove provenienti dal latte del gruppo di vacche alimentate con il mais trattato non è risultato diverso da quello ottenuto a partire dal latte del gruppo di controllo.

La dose di estratto antifungino applicata sul mais trattato somministrato alle bovine non ha influenzato le caratteristiche del latte né la sua attitudine alla caseificazione.

Per l'attività di valutazione dell'efficacia degli estratti sulla **superficie di formaggi stagionati**, i risultati sono stati soddisfacenti osservando riduzioni importanti sulle croste trattate con estratti naturali.

AZIONE 5 – Valorizzazione dei risultati nella filiera lattiero - casearia

Introduzione

L'obiettivo del Piano è quello di individuare e sviluppare sistemi innovativi di gestione delle produzioni maidicole da granella finalizzate alla riduzione delle micotossine per l'utilizzo nella filiera lattiero-casearia legata alle produzioni DOP. Il successo nella realizzazione delle attività tecniche di Milk Controllo porterà altresì benefici in termini di impatto ambientale nella filiera oggetto GOI.

In accordo con quanto stabilito nella fase di progettazione, si è perciò proceduto a quantificare gli impatti ambientali, in termini di impronta carbonica e idrica, della produzione di latte destinato alla filiera del Parmigiano Reggiano dell'azienda zootecnica partner del progetto.

Materiali e metodi

Impronta carbonica

La metodologia

Fasi preliminari (obiettivi del lavoro, unità funzionale e confini del sistema)

Le emissioni di tutti i potenziali gas serra GHG (CO₂, N₂O e CH₄) emessi sia dalla produzione di latte nell'azienda zootecnica oggetto d'indagine è stata determinata applicando la metodologia LCA (Life Cycle Assessment) secondo le norme internazionali (norme ISO 14040-44:2006 e ISO14067:2018).

Il risultato dell'impronta carbonica è stato espresso in termini di kg di CO₂ equivalente su kg di latte "Standardizzato" (FPCM Fat and protein corrected milk), ovvero corretto per la percentuale di grassi e proteine.

Il kg di latte FPCM rappresenta l'unità funzionale della fase di produzione di latte.

In considerazione degli obiettivi dello studio, il sistema riguarda tutti i flussi di materiali, di energie e di trasporti relativi alla produzione di latte dell'azienda zootecnica analizzata nell'ambito del presente GOI, secondo l'approccio from cradle to farm gate.

Il sistema include le emissioni di GHG che avvengono nell'azienda zootecnica, quali le emissioni enteriche delle bovine, le emissioni dalla fase di gestione delle deiezioni, le emissioni derivanti dall'uso delle fonti energetiche, e quelle che avvengono nella fase di coltivazione dei terreni aziendali su cui vengono prodotti esclusivamente gli alimenti destinati alla alimentazione del bestiame, quali le emissioni di protossido di azoto dovute alle fertilizzazioni azotate e le emissioni derivanti dall'uso dei combustibili per le macchine agricole. Il sistema include, inoltre, le emissioni di GHG indotte dalla produzione dei mezzi tecnici utilizzati in azienda. I confini del sistema analizzato hanno incluso tutti gli input di materiali necessari alla produzione e si sono fermati al cancello dell'azienda, rimane perciò esclusa la fase di trasformazione del prodotto con il processo di caseificazione.

Raccolta dati

Per determinare l'impronta carbonica della produzione di latte nell'azienda zootecnica oggetto d'indagine è stato somministrato all'azienda zootecnica un questionario dove sono stati richiesti i seguenti dati primari:

- informazioni generali sull'azienda (denominazione, localizzazione, zona altimetrica);
- informazioni sulla produzione zootecnica: consistenza della mandria, indici produttivi, alimentazione, modalità di stabulazione e di gestione degli effluenti, grado di autosufficienza alimentare, consumi energetici, consumi idrici, materie in ingresso, produzione di rifiuti, etc.
- informazioni sulla fase di coltivazione: colture presenti e produttività per annata agraria e per taglio, lavorazioni effettuate e macchine agricole utilizzate, consumi idrici, consumi energetici, tipo e quantità di fertilizzanti di sintesi e di effluenti di allevamento applicati, tipo e quantità di agrofarmaci e di sementi utilizzati.

Per i dati secondari, ossia quelli per i quali non è possibile una raccolta diretta, ad esempio gli impatti relativi alla produzione dei mezzi tecnici che entrano in azienda, è stata utilizzata la banca dati LCA Agribalyse v3.1 (2021) e Ecoinvent, v.3 (2013).

Inventario

A partire dalle fasi preliminari di impostazione dell'analisi e dalla redazione dei questionari sono stati inclusi i seguenti input/output:

- La produzione dei mezzi tecnici impiegati (mangimi e integratori alimentari, foraggi acquistati, lettiere, carburanti e lubrificanti, detergenti, sanificanti, farmaci) e dei loro imballaggi e degli animali acquistati;
- La produzione e il consumo di carburanti per le operazioni meccaniche eseguite in azienda relativamente a: lavorazioni del terreno, semina, distribuzione di fertilizzanti, eventuali trattamenti diserbanti e fitosanitari, irrigazione, operazioni di fienagione e raccolta del prodotto.
- La coltivazione dei foraggi e delle materie prime autoprodotti in azienda, includendo gli impatti dovuti alla produzione e applicazione dei fertilizzanti, alla utilizzazione agronomica degli effluenti di allevamento e dei digestati, alla produzione e consumo di carburanti per le operazioni di campagna;
- Le emissioni enteriche di CH₄, stimate secondo la metodologia e i fattori di emissione *IPCC 2019 Refinement to 2006*;
- Le emissioni di CH₄ dalla gestione delle deiezioni, stimate secondo la metodologia e i fattori di emissione *IPCC 2019 Refinement to 2006*;
- Le emissioni dirette di N₂O dovute ai residui colturali sono state calcolate con la metodologia *IPCC 2019 Refinement to the 2006*, utilizzando l'equazione 11.6 per stimare l'apporto di N dovuto ai residui e il fattore EF1 (Table 11.1) che riporta una perdita dell'1% dell'azoto apportato dai residui colturali.
- Le emissioni dirette di N₂O dalle fertilizzazioni sono state stimate con la metodologia *IPCC 2019 Refinement to the 2006*, che considera le emissioni dirette di N-N₂O pari a 1% dell'azoto distribuito con i fertilizzanti organici e minerali.
- Le emissioni indirette di N₂O dalle fertilizzazioni sono state stimate utilizzando la metodologia *IPCC 2019 Refinement to the 2006*, che considera le emissioni indirette di N-N₂O pari a 1% delle perdite di N sotto forma di emissioni di NH₃+NO, dovute ai fertilizzanti azotati applicati (sia minerali che organici), e pari a 1.1% delle perdite di N sotto forma di rilasci azotati come percolazione + ruscellamento. In base ai fattori di emissione dell'*IPCC 2019 Refinement to the 2006*, le emissioni NH₃+NO rappresentano l'11% dell'azoto applicato con

i fertilizzanti sintetici e il 24% di quello applicato con i fertilizzanti organici, le emissioni di N sotto forma di nitrati per percolazione + ruscellamento sono stimate pari al 24% di N applicato.

Allocazione

L'azienda bovina da latte produce, oltre al latte medesimo, la carne delle vacche a fine carriera e dei vitelli maschi, oltre a possibili vendite di bovini di altre categorie (manzette e manze da rimonta eccedentarie rispetto ai fabbisogni aziendali).

Occorre quindi allocare gli impatti, suddividendoli fra latte, carne. Sono state escluse le produzioni relative a produzioni vegetali che non concorrono all'alimentazione della mandria.

Si dato dunque peso solo ai prodotti principali in uscita dell'azienda zootecnica, cioè il latte e la carne. Per l'allocazione fra latte e carne, è stato impiegato l'approccio proposto da International Dairy Federation (FIL - IDF, 2015), volto ad armonizzare le metodologie nella valutazione dell'impronta del carbonio della produzione di latte. Il criterio si basa sul peso dei prodotti in modo da ripartire gli impatti fra le due produzioni. La percentuale di impatto da attribuire al latte viene calcolata utilizzando l'equazione seguente:

$$AFL = 1 - 6,04 \times R$$

dove:

AFL = fattore di allocazione per il latte, ovvero percentuale dell'impatto complessivo da attribuire al latte;

6,04 = numero ricavato empiricamente della elaborazione di dati aziendali provenienti da 536 aziende da latte;

R = Mcarne/Mlatte

Mcarne = somma del peso vivo di tutti gli animali venduti (kg)

Mlatte = latte venduto (kg), espresso come FPCM (Fat-Protein Corrected Milk):

Nella Tabella 18 sono riportate le percentuali di allocazione attribuita all'azienda, mediante la formula.

Tabella 18- Percentuale di allocazione tra la produzione di latte e carne nell'azienda zootecnica analizzata

Latte	Carne
88,25%	11,75%

Caratterizzazione degli impatti

Per il calcolo dell'indicatore GWP, nella fase di analisi degli impatti – LCIA (Life Cycle Impact Assessment) – sono stati utilizzati i fattori di caratterizzazione IPCC 2013 V Assessment Report AR5 (<http://www.ipcc.ch/report/ar5/>), dove si indica che a un 1 kg di metano biogenico CH₄ corrispondono 27.75 kg di CO₂ equivalente, e che a 1 kg di protossido di azoto N₂O corrispondono 265 kg di CO₂ equivalente.

In particolare nella Tabella 19 sottostante viene riportata la categorizzazione dei risultati per le fasi emissive rilevanti nella fase di produzione di latte.

Tabella 19- Descrizione delle fonti di impatto considerate nel calcolo dell'impronta del carbonio per la fase di produzione del latte

Enteriche	Emissioni di CH ₄ dovuto al processo di fermentazione enterica degli animali.
Gestione degli effluenti	Emissioni di CH ₄ e N ₂ O dovute alla modalità di gestione degli effluenti, classificate in base alla tabella 10.18, Volume 4, Chapter 10, IPCC 2019 Refinement to the 2006.
Alimenti aziendali	Emissioni di N ₂ O dovute alla fertilizzazione dei terreni dai quali vengono prodotti alimenti che entrano nella razione ed emissioni di CO ₂ dovute alla produzione di materie prime (sementi, concimi, fertilizzanti) e al consumo di gasolio per la coltivazione di questi terreni.
Alimenti extra-aziendali	Emissioni di CO ₂ per la produzione di alimenti extra-aziendali destinati all'alimentazione della mandria.
Energia in stalla	Emissioni di CO ₂ dovute alla produzione e al consumo di energia per le operazioni in stalla.
Animali in ingresso	Emissioni di CO ₂ dovute all'allevamento degli animali acquistati.
Altro	Emissioni di CO ₂ per il trasporto dei diversi alimenti, per la produzione di medicinali, detergenti e altri materiali, per lo smaltimento dei rifiuti.

Nella presente analisi non sono stati presi in considerazione i processi di sequestro del carbonio nel suolo in quanto i suoli agricoli dell'azienda zootecnica analizzata le emissioni non hanno subito modifiche nella gestione agronomica da più di 20 anni, per cui, in accordo alla metodologia IPCC 2006, non si devono registrare variazioni nel tenore del carbonio organico del suolo. Infine gli effluenti di allevamento utilizzati su terreni extra-aziendali vengono considerati alla stregua di residui destinati al riciclo, non assegnando ad essi nessun impatto.

Risultati – Impronta Carbonica

La produzione di latte dell'azienda Bonvy è risultato avere un'Impronta Carbonica (IC) pari 1,67 kg CO₂eq/kg latte. Sul totale dell'impronta i processi che incidono maggiormente sono i processi di fermentazioni enteriche (33%), l'acquisto di alimenti extra-aziendali (31%) e la gestione degli effluenti (21%). I contributi dei singoli processi sono riportati nel grafico sottostante (Figura 24).

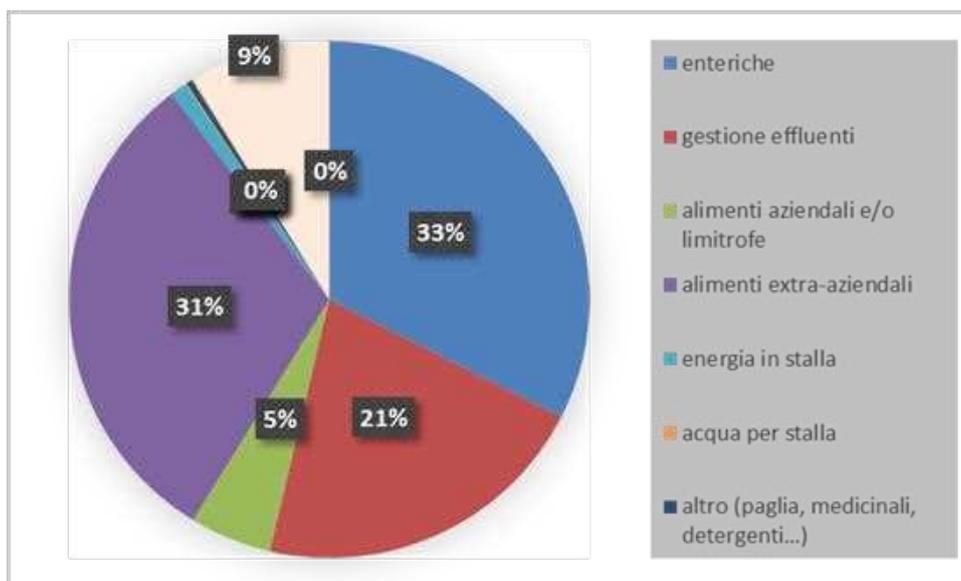


Figura 24- Contributo delle fonti d'impatto ai singoli alla totale dell'Impronta Carbonica della produzione di latte

Il risultato ottenuto è in linea con quanto riportato da diversi studi presenti in letteratura sull'impatto ambientale della produzione di latte, che ha identificato un range di Impronta Carbonica compreso tra 1,2 e 1,8 kg CO₂eq/kg latte FPCM (Climate ChangeE-R" (2013-2016), Nemecek T. & Alig M. (2016), Battini (2016)). In particolare Battini stima l'impatto per la produzione di latte da Parmigiano Reggiano in montagna e collina dell'ordine di 1,6 kg CO₂eq/kg latte FPCM, risultato equivalente a quello ottenuto dalla presente progetto.

Impronta idrica

Metodologia

L'Impronta idrica, Water Footprint (WF) o Impronta Idrica (II) della produzione di un prodotto si può definire come il volume totale di acqua necessario a supportare tutte le attività produttive. Per il calcolo della WF si fa riferimento alla metodologia sviluppata da Hoekstra et al. (2011). Secondo la ISO 14046, gli impatti sul consumo e sulla degradazione della risorsa idrica sono espressi mediante differenti categorie d'impatto, analoghe a quelle comunemente utilizzate negli studi LCA. Nel nostro caso le differenti categorie riguardano principalmente i consumi derivati dalle produzioni agricole per i fabbisogni alimentari e le risorse idriche necessarie alla gestione della stalla. Il risultato finale dell'analisi è stato espresso su kg latte, come per l'Impronta Carbonica (IC).

Come indicato dalla fase di progettazione, il computo globale della WF è dato dalla somma di tre componenti: acqua blu, verde e grigia.

L'acqua BLU si riferisce al prelievo di acque superficiali e sotterranee destinate ad un utilizzo per scopi agricoli, domestici e industriali. È la quantità di acqua dolce che non torna a valle del processo produttivo nel medesimo punto in cui è stata prelevata, o vi torna in tempi diversi. Oltre all'acqua utilizzata per l'irrigazione sono stati inseriti i valori relativi ai fabbisogni dell'allevamento. I valori sono stati forniti direttamente da stime aziendali.

La componente di acqua GRIGIA rappresenta il volume di acqua inquinata, quantificata come volume di acqua teorico necessario per diluire gli inquinanti al punto che la qualità delle acque torni

sopra gli standard di qualità.

La componente di acqua grigia è stata calcolata in funzione della quota di nitrati lisciviati, considerati come inquinante di riferimento. E' stata dunque stimata la quantità di nitrati lisciviati utilizzando il fattore dell'IPCC: fracLAECH (kgN-NO₃/kgN appl) del 24% della frazione di N applicato come fertilizzanti di sintesi e organici. Successivamente, in base alla quota di nitrati lisciviati, è stato calcolato l'ammontare teorico di acqua necessario a portare i nitrati al valore massimo di 50 mg/l. (Nelle acque destinate al consumo umano il DLgs 31/2001 stabilisce per i nitrati il valore massimo di 50 milligrammi per litro)

Per quanto riguarda l'acqua VERDE essa rappresenta l'acqua piovana evapotraspirata, legata al sistema pianta-pioggia-suolo. Essa rappresenta una componente dell'acqua piovana che segue un ciclo naturale e non va ad incidere direttamente su possibili sprechi e consumi di risorse idriche.

Per questi motivi per la misura dell'acqua verde abbiamo attinto alle banche dati, in particolare ai valori di riferimento dalla bibliografia (Mekonnen, M.M. and Hoekstra, A.Y., 2010). Mentre ci si è soffermati maggiormente sui risultati dell'acqua blu e grigia.

Risultati- Impronta Idrica

L'impronta idrica totale è stata stimata in 1.449.839 m³, derivanti quasi esclusivamente dalla fase di alimentazione. Considerando come unità funzionale il kg latte il risultato finale è stato di 862 litri di acqua per kg di latte. (Tabella 20).

Tabella 20- Risultati dell'Impronta Idrica

	Acqua blu	Acqua verde	Acqua grigia	Totale
M³ H₂O/kg di latte	0,060	0,571	0,232	0,862

Considerando il peso delle tre diverse frazioni di acqua (verde, blu e grigia), si nota come l'acqua verde risulta di gran lunga la più elevata 571 l/kg di latte (verde). Tuttavia come abbiamo descritto nel capitolo precedente si tratta di una quota dovuta ai processi evaporazione, le quote da considerare sono quindi l'acqua blu e grigia, che sono gli indicatori ambientali più importanti, le quali sono rispettivamente 60 l/kg di latte (blu) e 232 l/kg di latte (grigia).

Bibliografia

Battini F., Agostini A., Tabaglio V., Amaducci S. (2016). Environmental impacts of different dairy farming systems in the Po valley. *Journal of Cleaner Production* 112, 91-102.

Nemecek T. & Alig M. (2016). Life cycle assessment of dairy production systems in Switzerland: strengths, weaknesses and mitigation options. *Integrated nutrient and water management for sustainable farming* No. 29

Mekonnen, M.M. and Hoekstra, A.Y., 2010 The green, blue and grey water footprint of farm animals and animal products, *Value of Water Research Report Series* No. 48, UNESCO-IHE, Delft, the Netherlands.

Hoekstra, AY, Chapagain, AK, Aldaya, MM, Mekonnen, MM, 2011. *The Water Footprint Assessment Manual*. Febrero 2011. doi:978-1-84971-279-8