



BATTERI ISTAMINOGENI

Controllo nei filetti di tonno e pesce spada confezionati in atmosfera protettiva

MAURIZIO FERRI¹, VALERIO GIACCONE², VALENTINA TEPEDINO³, ALDO GRASSELLI¹, FABRIZIO LODI⁴¹Società di Medicina Veterinaria Preventiva²Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Padova³Eurofishmarket, Bologna⁴Servizio Veterinario – ASL, Pescara

Il pesce e i prodotti della pesca a causa della loro composizione chimica, caratterizzata da un elevato contenuto proteico e dalla presenza di acidi grassi insaturi, sono alimenti facilmente deperibili. Il deterioramento della qualità e il rischio microbiologico possono essere ridotti utilizzando una varietà di metodi di conservazione. Il confezionamento in atmosfera protettiva o MAP (*Modified Atmosphere Packaging*) si è dimostrato un metodo efficace per estendere la *shelf-life* di una vasta gamma di prodotti della pesca. Il confezionamento MAP prevede la sostituzione dell'aria presente all'interno della confezione con una miscela di gas costituita tipicamente da una combinazione di biossido di carbonio, azoto e ossigeno.

L'estensione della *shelf-life* dei prodotti ittici è legata a diversi fattori tra cui la specie ittica, la flora microbica iniziale, il contenuto dei grassi, la miscela di gas e soprattutto, la temperatura di conservazione.

Il confezionamento MAP può inibire in modo significativo la crescita dei batteri patogeni e deterioranti, compresi i batteri produttori di istamina presenti nei pesci appartenenti alla *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryphaenidae*, *Pomatomidae*, *Scomberesocidae* le cui carni presentano un elevato contenuto di istidina. L'istamina è all'origine di gravi forme di avvelenamento per consumo di pesci e rappresenta un serio problema di sicurezza alimentare e di sanità pubblica.

Il tonno è frequentemente coinvolto nelle notifiche del sistema di allerta europeo RASFF per presenza di istamina a elevate concentrazioni. L'industria ittica al fine di estendere la durabilità commerciale del prodotto può ottenere vantaggi consistenti con il confezionamento MAP assicurando ai propri prodotti una più ampia distribuzione commerciale.

In base al Regolamento (CE) 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari, i produttori al

fine di determinare la *shelf-life* dei loro prodotti, possono condurre test per valutare sia la crescita e sopravvivenza (*storage test*) dei microrganismi specifici, che possono essere presenti nel prodotto durante il periodo di conservabilità in condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, sia il comportamento (crescita o sopravvivenza) di un ceppo inoculato nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili (*challenge test*).

Materiali e metodi

Sia le prove di conservabilità che di inoculazione sperimentale sono stati condotti su un totale di 36 confezioni di filetti di tonno e pesce spada freschi confezionati in atmosfera protettiva (MAP) pervenuti presso il laboratorio 48 ore dopo l'imballaggio e trasportati a temperatura di 4 °C.

I filetti sono stati confezionati utilizzando azoto (70% N₂) e anidride carbonica (30% CO₂). I dati analitici del presente studio si riferiscono dunque non al prodotto ittico appena confezionato, ma ai prodotti che avevano già 48 ore di vita commerciale al momento dell'inizio delle prove (foto 1 e 2). A intervalli di tempo prestabiliti, su entrambe le tipologie di campioni, sono state effettuate le seguenti prove in parallelo:

- analisi sensoriale: eseguita al momento dell'apertura della confezione, per la valutazione di colore, odore e consistenza;
- analisi microbiologiche: carica microbica totale, coliformi, *Escherichia coli* - glucuronidasi-positivi (come indicatore di inquinamento fecale), batteri lattici mesofili, *Pseudomonas* spp., lieviti e muffe;
- analisi chimiche: composizione atmosfera della confezione, valore di pH, Azoto basico volatile totale (TVB-N), Trimetilammina (TMA), istamina, indice di ossidazione dei lipidi.

Per le prove di conservabilità le analisi sopra citate sono state condotte su due unità campionarie di 2 lotti diversi



Foto 1. Campione di tonno a pinne gialle (yellow fin tuna).



Foto 2. Campione di pesce spada (sword fish).

ogni due giorni a partire dalle 48 ore successive al confezionamento seguendo il seguente piano di *shelf-life*:

- analisi eseguite a 2 giorni dal confezionamento (giorno di arrivo dei campioni in laboratorio) dopo conservazione a +4 °C (T0);

- a 5 giorni dal confezionamento metà delle confezioni sono state mantenute a +4 °C, mentre il restante 50% delle confezioni è stato spostato in un frigorifero termostato dove sono state mantenute in condizioni di “abuso termico permanente” a +12 °C;

- analisi eseguite a 6, 8, 13 giorni dal confezionamento dopo conservazione a +4 °C e +12 °C (T1, T2, T3, T4). Al fine di simulare lo scenario di vendita presso gli esercizi, ulteriori campioni sottoposti al test di conservabilità sono stati aperti al 10° giorno a 4 °C e tenuti su un letto di ghiaccio per 24 ore e analizzati per i parametri cими e microbiologici.

Le prove di inoculazione sono state eseguite inoculando 10 campioni di filetti di tonno e pesce spada con 10-100 ufc/cm² di *Hafnia alvei* ed *Enterobacter cloacae*, prima del loro confezionamento in MAP.

I campioni inoculati sono stati conservati alle stesse condizioni di temperatura (4 °C e 12 °C) del test di conservabilità e analizzati al giorno 2, 6, 8, 10, 13 per la produzione di istamina e il conteggio di *Enterobacteriaceae*.

Analisi sensoriale

Le considerazioni sullo stato organolettico si sono basate su una valutazione numerica su scala 0-3 assegnata a ogni singolo descrittore del singolo campione come indicato nella tabella 1.

Tabella 1. Attributi e punteggi utilizzati per l'analisi sensoriale.

Attributi	Punteggio			
	0	1	2	3
Colore	Colore brillante, omogeneo, assenza di discolorazione	vivido, assenza di brillantezza	Spento, senza brillantezza	Molto spento, l, discolorazione con alterazione
Odore	Fresco, marino di alga	Neutro, non di alga marina	Fermentazione, leggermente acido e putrido	Acido, putrido, ammoniacale
Consistenza	Dura, elastica	Piuttosto elastico	Leggermente soffice, meno elastico	Soffice e flaccido

= composizione moderata in confronto al prodotto a T0

= decomposizione significativa in confronto al prodotto a T0

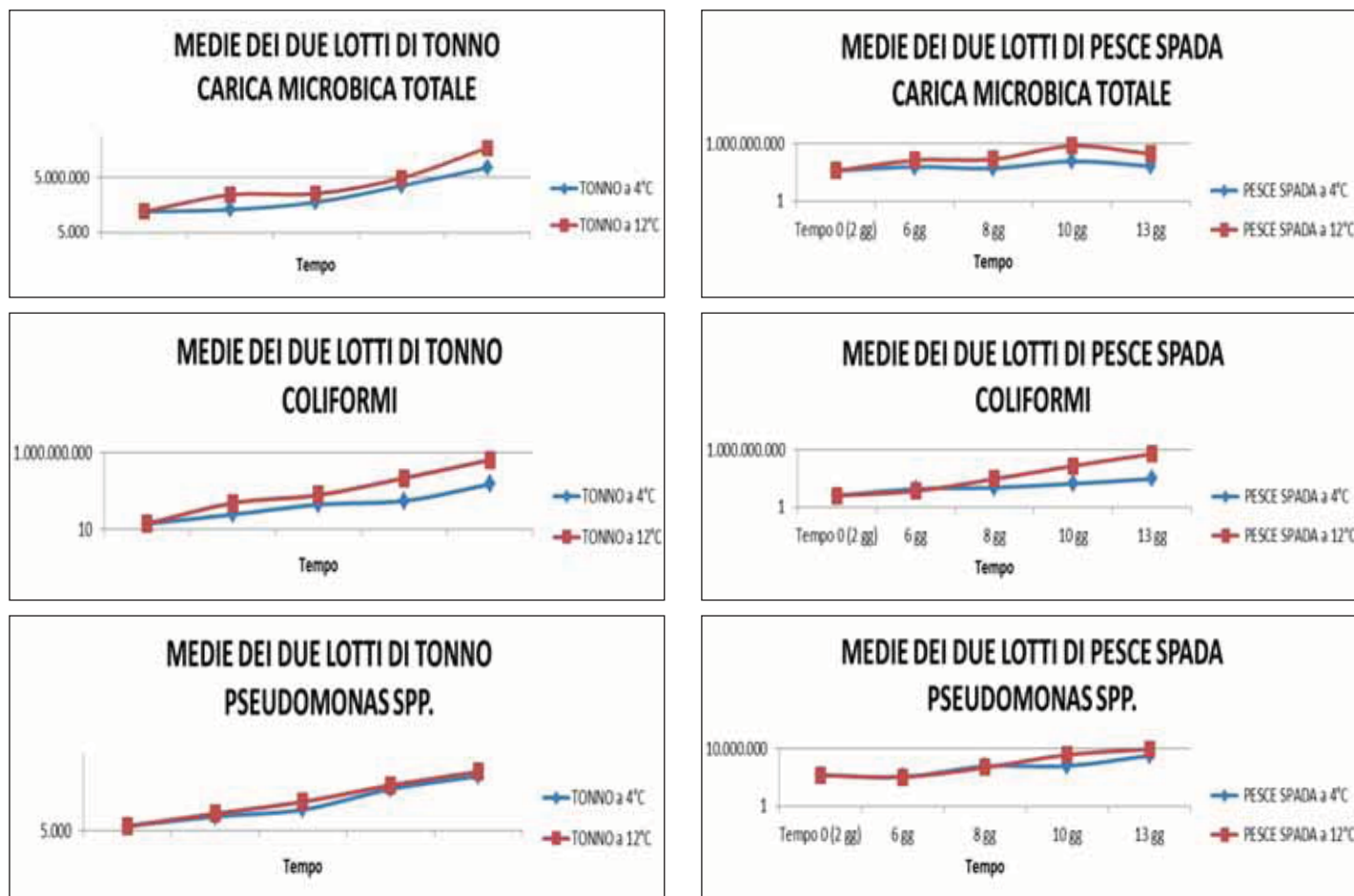


Figura 1. Andamento dei processi microbici che si sono sviluppati nei tranci di tonno pinne gialle e pesce spada nel corso della conservazione, sia a temperatura di refrigerazione sia di "abuso termico" a +12 °C.

Risultati

Analisi microbiologiche

I risultati delle analisi descritti nei grafici seguenti e relativi alle medie ottenute da due lotti sia di pesce spada sia di tonno a 4 °C e 12 °C, hanno permesso di stabilire che nella determinazione della *shelf-life* del tonno a pinne gialle e pesce spada, le voci dell'esame microbiologico che hanno giocato (e che, quindi, giocheranno) un ruolo significativo nel condizionare le caratteristiche di qualità del prodotto sono la Carica Microbica Totale (CMT), i Coliformi e il gruppo di *Pseudomonas* spp..

Infatti, dai grafici (figura 1) si può cogliere con estrema facilità l'andamento dei processi microbici che si sono sviluppati nei tranci di tonno pinne gialle e pesce spada nel corso della conservazione, sia a temperatura di refrigerazione sia di "abuso termico" a +12 °C. È evidente che in tutte e tre le voci dell'esame microbico i valori delle confezioni mantenute a +12 °C si sono sempre attestati su valori di carica microbica superiori a quelli delle confezioni mantenute a +4 °C (e ciò è perfettamente logico e ovvio).

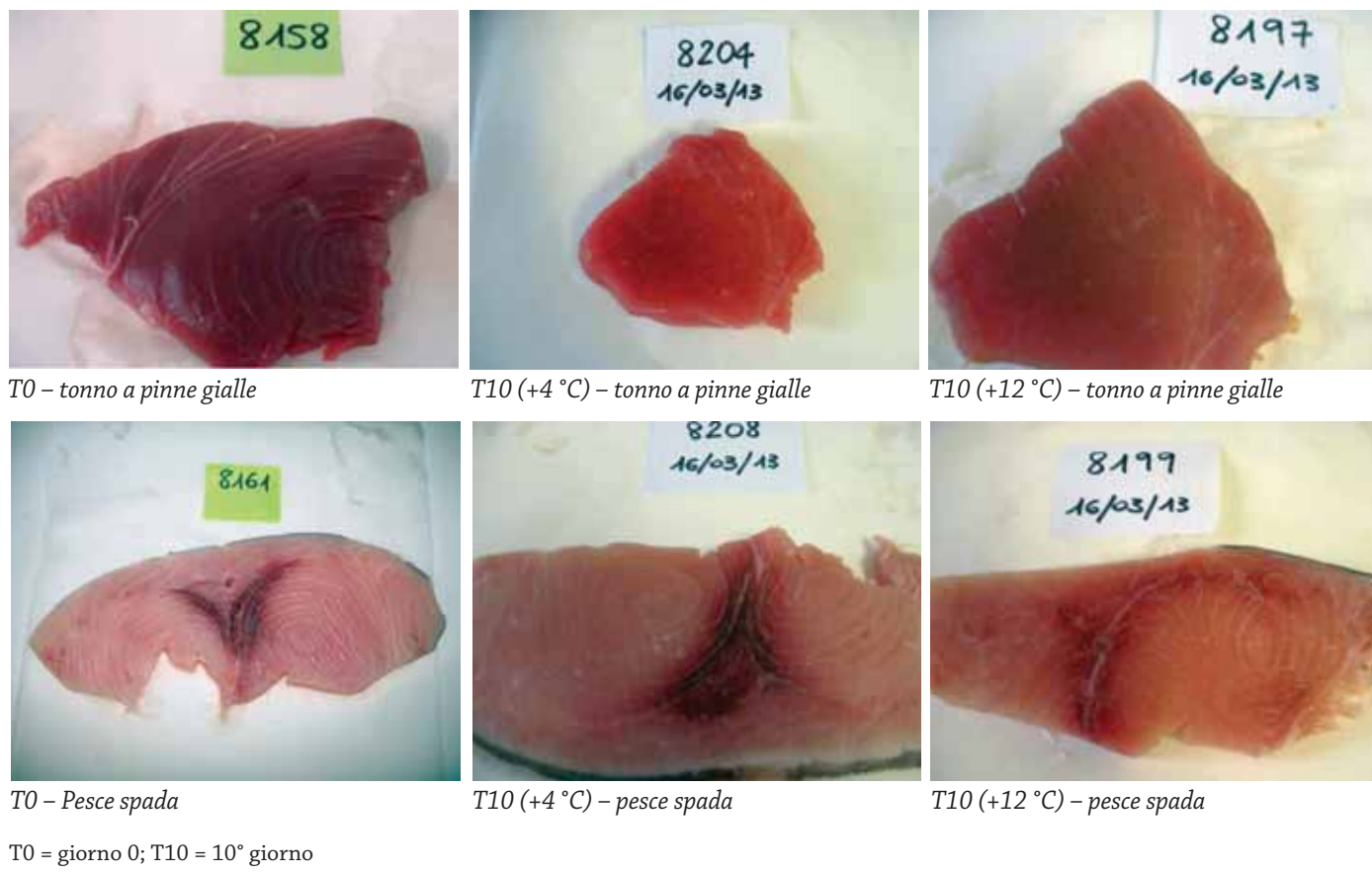
Ciò che comunque è significativo è l'andamento complessivo delle curve che segnalano la dinamica di popolazione microbica per ciascuna delle tre voci sopra indicate. La dinamica di popolazione dei batteri citati ci indica che fino all'8° giorno di conservazione, le cariche microbiche subiscono sì un incremento, ma piuttosto lento, graduale e poco accentuato.

A partire dal 9° giorno di conservazione, invece, tutte e tre le voci dell'esame microbiologico fanno segnare un più rapido incremento delle curve di crescita, ciò sta evidentemente a dimostrare la progressiva accelerazione della velocità di duplicazione delle flore microbiche in esame (CMT, Coliformi e *Pseudomonas*) e giustifica anche il rapido decadimento delle caratteristiche chimiche dei prodotti e delle stesse caratteristiche sensoriali.

Analisi sensoriali

Il risultati delle analisi sensoriali (tabella 2) indicano che il campione a tempo zero si presenta di colore rosso cupo, intenso e omogeneo. L'odore è fresco, di salsedine e alghe marine; la consistenza è succosa, soda ed elastica. Nella

Tabella 2. Modifiche del colore, consistenza e odore nei filetti di tonno e pesce spada confezionati in MAP e conservati a 4 °C e 12 °C.



seconda valutazione (6° giorno) colore, odore e consistenza rimangono invariati e conformi alla tipologia del prodotto; solo il colore tende leggermente a perdere lucentezza all'8°giorno, soprattutto nei prodotti conservati a +12 °C. Al 10° giorno, in particolar modo nei campioni conservati a +12 °C, inizia a evidenziarsi un'alterazione dell'odore, che si presenta leggermente acre e con note di fermentazione.

Al 13° giorno si evidenzia un generale peggioramento delle caratteristiche organolettiche prese in esame (più evidenti nei prodotti conservati a +12 °C): il colore è spento e slavato; l'odore è acre e ammoniacale e in alcuni casi leggermente putrido; la consistenza è lievemente molle, a volte tendenzialmente flaccida (tabella 2).

Analisi chimiche

Per quanto riguarda le analisi chimiche svolte, sempre dai grafici che sintetizzano visivamente i risultati (figura 2), si può arguire che i parametri che hanno maggiore significato per la valutazione della *shelf-life* di tonno pinne gialle e pesce spada sono la trimetilammina, l'azoto basico volatile totale e l'istamina.

Dai grafici si può apprezzare molto chiaramente che i valori dei suddetti parametri si sono mantenuti su livelli bassi e

sono aumentati di pochissimo fino all'8° giorno di conservazione per poi iniziare un progressivo aumento dal 9° giorno in avanti e fino alla fine delle prove.

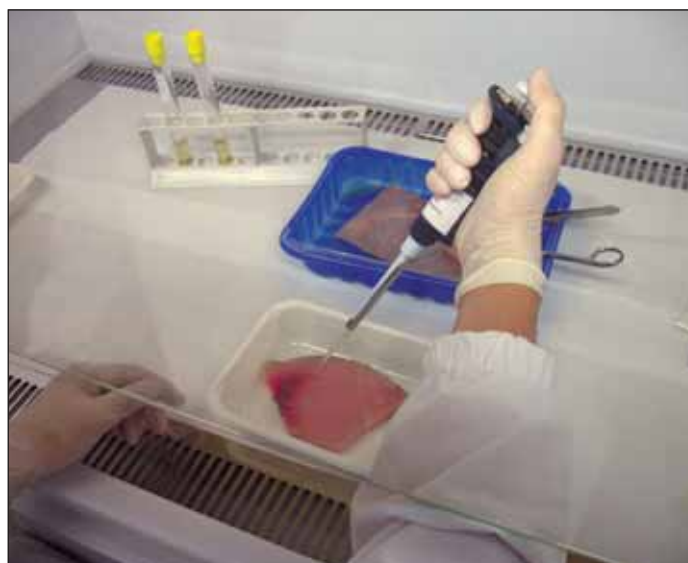


Foto 3. Inoculazione sperimentale.

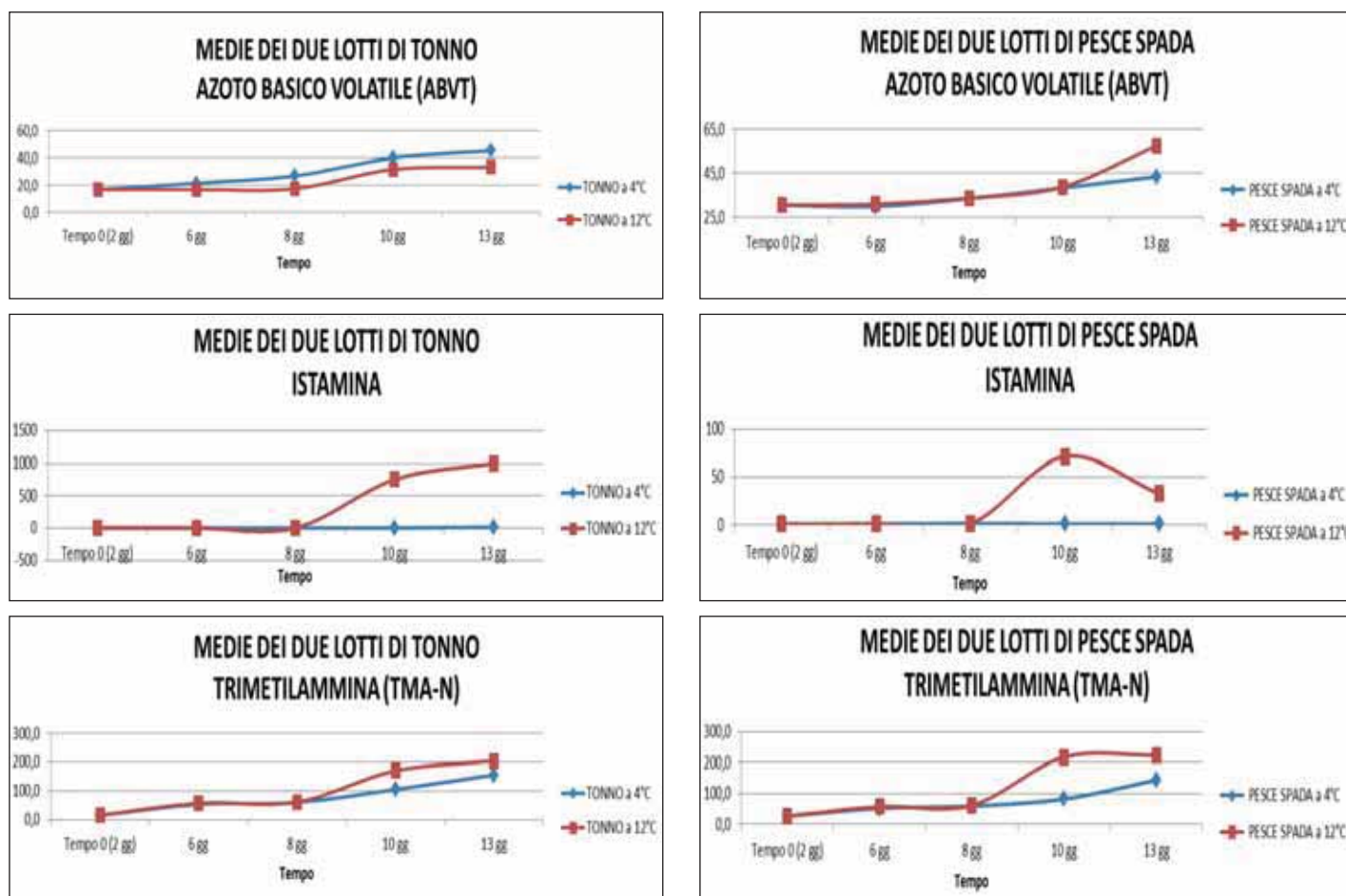


Figura 2. Concentrazione di ABVT, TMA, istamina in due lotti di filetti di tonno e pesce spada a 4 °C e 12 °C.

Entrambi i campioni hanno mostrato risultati sensoriale, chimici e microbiologici favorevoli fino all'8°giorno a 4 °C.

Challenge test

Nelle prove di inoculazione sperimentale (foto 3) i risultati sono simili a quelli della prova di conservabilità. La crescita di *Enterobacteriaceae* ha seguito lo stesso trend dei batteri deterioranti delle prove di conservabilità. Dall'8 giorno c'è stato un leggero aumento di *Enterobacteriaceae* in entrambi i prodotti e istamina nel tonno: la crescita è stata elevata tra l'8° e 13° giorno con cariche superiori a 12 °C (abuso termico), mentre la concentrazione di istamina è stata più alta solo nei campioni conservati a 12 °C (figura 3), con valori superiori ai livelli consentiti in UE di 100 ppm in 7 unità campionarie e 200 ppm in 2 unità campionarie come stabilito dal Regolamento (CE) n. 2073/2005.

Conclusioni

I risultati delle analisi microbiologiche, chimiche e sensoriali condotte nel corso delle prove sono concordi nel portarci a

concludere che la vita commerciale dei tranci di pesce spada e di tonno pinne gialle confezionati in MAP secondo le modalità del produttore, assicurano un soddisfacente mantenimento delle caratteristiche di qualità dei due prodotti fino all'8°giorno (compreso) di conservazione a temperatura di 4 °C.

Infatti, dal 9°-10° giorno a causa di modificazioni microbiologiche e organolettiche i prodotti sono risultati non idonei al consumo umano. I campioni conservati a 12 °C hanno mostrato un deterioramento più rapido dovuto alla crescita di *Pseudomonas*.

Il processo di deterioramento dei campioni conservati a 12 °C al 9° e 10° giorno di conservazione è stato confermato dai risultati delle analisi chimiche, con i filetti di tonno contenenti una quantità di istamina più alta del pesce spada, principalmente dall'8° giorno di conservazione. Entrambi le prove hanno dimostrato come fino all'8° giorno di conservazione dei tranci in MAP, la quantità che potrebbe potenzialmente formarsi è talmente bassa da non comportare concreti rischi per la salute umana. I livelli di istamina tendono poi ad aumentare nei campioni mantenuti in condizioni di abuso termico e in quelli dall'8° giorno in poi.



Figura 3. Carica delle Enterobacteriaceae (logcfu/g) e concentrazione di istamina (mg/kg) nei filetti tonno e pesce spada. Media di due lotti.

Le differenze riportate sulla concentrazione di istamina nei campioni conservati a 4 °C e 12 °C sono dovute molto probabilmente alla bassa temperatura che limita il processo metabolico per la produzione di istamina, nonostante i batteri istaminogeni siano ancora in grado

di moltiplicarsi. Questo aspetto deve essere più profondamente indagato.

La bibliografia è disponibile presso la redazione:
argomenti@sivemp.it

Due nuovi gruppi di lavoro: Spreco alimentare e World food

Sono nati a seguito del convegno “Verso Expo 2015 *One Medicine - One Health - Food For All*” che si è tenuto a fine novembre a Bergamo, due nuovi gruppi di lavoro della Società Italiana di Medicina Veterinaria Preventiva che vanno ad aggiungersi agli 11 già esistenti:

- Sostenibilità delle produzioni e lotta agli sprechi alimentari. Coordinatori: Maurizio Ferri e Valentina Tepedino
- World food. Coordinatore: Massimo Meazza

Gli iscritti SIMeVeP interessati a contribuire ai lavori dei gruppi possono inviare un'email a segreteria@veterinariapreventiva.it indicando: nome, cognome, Ente di appartenenza e disciplina.



ELENCO AREE TEMATICHE E REFERENTI NAZIONALI

Gruppo	Referente	E-mail
• Acquacoltura e prodotti della pesca	Dott.ssa Valentina Tepedino	info@eurofishmarket.it
• Affari Europei, rapporti internazionali	Dott. Maurizio Ferri	gblntf@tin.it
• Ambiente e cambiamenti climatici	Dott. Luigino Valentini	lvalentini@asl1abruzzo.it
• Cooperazione decentrata	Dott. Massimo Platini	veter@libero.it
• Disastrologia Veterinaria e Bioterrorismo	Dott. Raffaele Bove	lellobove@libero.it
• Equidi	Dott. Vincenzo Fedele	vfedele@asl10.piemonte.it
• Farmaco sorveglianza	Dott. Franco Cicco	francocicco@libero.it
• Fauna Selvatica	Dott. Roberto Zuccarini	rob52z@vodafone.it
• Igiene urbana e comportamento animale	Dott. Enrico Loretto	enrico.loretto@asf.toscana.it
• Rapporti e strategie di comunicazione con i consumatori	Dott.ssa Francesca Bellini	fra.bellini@yahoo.it
• Sicurezza alimentare	Dott. Giuseppe De Angelis	deangelis.g@tiscali.it
• Sostenibilità delle produzioni e lotta agli sprechi alimentari	Dott. Maurizio Ferri	gblntf@tin.it
• World food	Dott. Massimo Meazza	mmeazza@asl.milano.it