

EFFETTI MICROBIOLOGICI DELLA MANIPOLAZIONE A BORDO DEL PESCHERECCIO IN MERLUCCIUS MERLUCCIUS

MICROBIOLOGICAL EFFECTS OF ON-BOARD FISHING VESSEL HANDLING IN MERLUCCIUS MERLUCCIUS

Serratore P.¹, Nik Zad H.¹, Zavatta E.¹, Piraccini S.¹, Ciaravino G.², Trentini M.³

¹Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale – Università di Bologna

²Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare – ISS Roma

³Dipartimento di Morfofisiologia – Università di Bologna

SUMMARY

The purpose of the present study was to determine the impact of different manipulation techniques applied on board fishing vessel, on the microbiological quality of the flesh of European hake (*Merluccius merluccius*) during storage at $+3^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for a time (T) of 10 days after landing (T1-T10). Samples of fish were taken from a fishing vessel of the Adriatic Sea and from one of the Tyrrhenian Sea, treated on-board under different icing conditions: 1) a low ice/product weight ratio and 2) an optimal ice/product weight ratio, up to 1:3 (3). Spoilage bacteria as Total Bacterial Count (TBC) and specific spoilage bacteria as Sulphide Producing Bacteria (SPB) were enumerated in fish flesh as Colony Forming Units (CFU/g) on Plate Count Agar and Lyngby Agar at 20°C for 3-5 days. TBC of the Adriatic fishes (gutted on-board) resulted 10^3 UFC/g at T1-T6, and 10^4 - 10^5 at T10, whereas TBC of the Tyrrhenian fishes (not gutted on-board) resulted 10 - 10^2 UFC/g at T2-T3, 10^3 at T6, and 10^4 - 10^5 at T10. SPB resulted 10 - 10^2 UFC/g at T1-T6, and 10^3 - 10^4 at T10, with absolute values higher in the Adriatic fishes, in respect with the Tyrrhenian fishes, and in the low icing conditions in respect with the optimal icing condition. At the experimented condition, the lowering of the microbiological quality of fish flesh during storage, seems to be more dependent on the gutting versus not gutting on-board practice rather than on the low versus optimal icing treatment.

KEYWORDS

European hake, icing conditions on-board, TBC, SPB

INTRODUZIONE

È ampiamente riconosciuto che la qualità dei prodotti ittici dipende strettamente dalla corretta manipolazione e dal mantenimento della catena del freddo. Nei pesci sani e subito dopo la morte, le carni sono sterili, e la flora microbica contaminante è localizzata esclusivamente sulla superficie esterna, sulle branchie e nel tubo digerente.

I fenomeni autolitici, che si realizzano precocemente (1), sono determinati da numerosi enzimi, tra cui predominano fosforilasi, lipasi, catepsine ed altri enzimi intestinali (2) e comportano modificazioni della consistenza e

della permeabilità dei tessuti, favorendo la migrazione dei batteri verso le carni. In particolare si ritiene che i batteri presenti a livello branchiale raggiungano le carni attraverso il sistema vascolare, mentre i batteri intestinali oltrepassano attivamente la parete e la membrana, e quelli presenti sulla superficie corporea attraversano la cute (3,4). La colonizzazione delle masse muscolari dei pesci, nelle quali la proliferazione batterica è favorita dal collasso del sistema immunitario (5), è dunque un fenomeno inevitabile, che comunque può essere condizionato dalle modalità di manipolazione e conservazione comprese quelle effettuate a bordo dei pescherecci. La quantità

della ghiacciatura in particolare, è considerata indispensabile per il mantenimento delle caratteristiche organolettiche, quali la rigidità post-mortem e la compattezza delle carni, e per il contenimento dei processi di degradazione derivanti dall'attività enzimatica endogena e dalla proliferazione batterica.

Ovviamente il rapporto in peso ghiaccio/prodotto varia a seconda della temperatura ambientale, ma escludendo le aree tropicali, un rapporto 1/3 può essere considerato ottimale (6). Studi precedenti condotti sulla sardina, mantenuta integra a temperatura di refrigerazione, mostrano che al terzo giorno di conservazione è apprezzabile un discreto aumento della componente batterica nei filetti (7), e condizioni analoghe sono state riscontrate nell'acciuga (dati non pubblicati).

Per quanto riguarda la pratica della eviscerazione, secondo il Reg. CE 853/2004, essa andrebbe praticata "al più presto possibile", anche se numerosi autori riportano di non aver rilevato differenze significative di contaminazione microbica nei filetti di pesci di diverse specie sottoposti e non alla asportazione del pacchetto intestinale e successiva conservazione in ghiaccio (8), mentre secondo studi condotti sullo scorfano del pacifico, si evidenziano condizioni ottimali di conservazione proprio nei soggetti non eviscerati (9).

In questa sede vengono presentati i risultati delle valutazioni di carattere microbiologico effettuate su filetti di nasello (*Merluccius merluccius*) conservato a temperatura di refrigerazione, ottenuti nell'ambito di uno studio multidisciplinare finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole ed ancora in corso, mirato alla verifica dell'impatto sulla qualità del pescato della applicazione di diverse modalità di manipolazione a bordo dei pescherecci.

MATERIALI E METODI

L'indagine è stata svolta su diversi lotti di nasello provenienti dall'Adriatico e dal Tirreno, confezionati a bordo del peschereccio in cassette di polistirolo secondo due modalità: tesi 1 con ghiacciatura considerata scarsa e tesi 2 con ghiacciatura considerata ottimale (fondo e lati della cassetta, più idonea copertura del prodotto), secondo un rapporto ghiaccio/prodotto di circa 1:3.

I campioni dell'Adriatico sono stati eviscerati a bordo, e consegnati al laboratorio lo stesso giorno del landing, mentre quelli del Tirreno, non eviscerati, sono stati mantenuti a temperatura di refrigerazione e consegnati il giorno successivo.

I controlli sono stati effettuati a partire dal giorno dopo la consegna mantenendo il lotto campionario a $+3^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ fino a 10 giorni.

Le analisi microbiologiche sono state effettuate sui filetti relativamente a Conta Batterica Totale (CBT), quale indice generico di contaminazione e Batterie Produttrici di Solfuri (BPS), quale indice specifico di spoilage, mediante la conta in piastra delle Unità Formanti Colonia (UFC/g) a 20°C per 3-5 gg, utilizzando il Plate Count Agar (PCA) (Oxoid) ed il Lyngby Agar, terreno di elezione per la quantificazione sia della CBT che dei BPS (10).

Per la valutazione statistica dei dati è stato applicato il test di significatività t-student, utilizzando Microsoft Excel 2003, relativamente alle tre variabili CBT su PCA, CBT su LYA e BPS su LYA, ed alle due tesi a confronto, T1 (ghiacciatura scarsa), T2 (ghiacciatura ottimale).

RISULTATI

Si riportano i dati relativi a 7 cicli di osservazione, di cui 4 con prodotto del Tirreno e 3 con prodotto dell'Adriatico, per un totale di 168 soggetti esaminati. I risultati ottenuti vengono presentati in forma grafica (fig. 1-6).

Nel prodotto proveniente dall'Adriatico i valori di CBT rilevati su PCA (fig. 1) e LYA (fig. 2) sono sostanzialmente sovrapponibili e dell'ordine di 3 log dal T1 al T3 in entrambe le tesi. Al T6 i valori mantengono lo stesso logaritmo, ma risultano leggermente superiori nella tesi con ghiacciatura scarsa su entrambi i terreni. Al T10 i valori aumentano fino a 5 log su entrambi i terreni, tranne la tesi con ghiacciatura scarsa che non supera i 4 log su LYA. I valori relativi ai BPS (fig. 3) al T1 risultano pari ad 1 log in entrambe le tesi.

Dal T1 al T6 i valori della tesi con ghiacciatura scarsa aumentano progressivamente fino ai 2 log, mentre risultano sostanzialmente stabili quelli della tesi con ghiacciatura ottimale. Al T10 i valori di entrambe le tesi raggiungono i 5 log.

Nel prodotto proveniente dal Tirreno i valori di CBT rilevati su PCA (fig. 4) e LYA (fig. 5) al T2 sono pari ad 1 log nella tesi con ghiacciatura ottimale, e circa 2 log nella tesi con ghiacciatura scarsa. Al T3 entrambe le tesi mostrano valori superiori ma sempre dell'ordine di 2 log con leggera prevalenza nella tesi con ghiacciatura scarsa e su LYA. Al T6 entrambe le tesi mostrano valori di 3 log, leggermente superiori nella tesi con ghiacciatura scarsa.

Al T10 i valori della tesi con ghiacciatura ottimale raggiungono i 4 log e quelli della tesi

con ghiacciatura scarsa i 5 log, su entrambi i terreni. I valori relativi ai BPS (fig. 6) risultano pari a 1 log, con tendenza all'aumento dal T2 al T3 in entrambe le tesi. Al T6 i valori raggiungono i 2 log, ed al T10 i 3 log, in entrambe le tesi.

Figura 1. Conta Batterica Totale (CBT) su PCA a 20°C, in nasello dell'Adriatico (eviscerato), conservato a +3°C ± 1°C. Manipolazione a bordo: Tesi 1 ghiacciatura scarsa (-G), Tesi 2 ghiacciatura ottimale (+G). Tempo espresso in giorni (T1-T10).

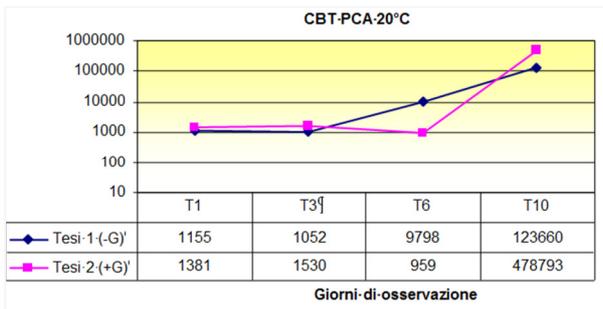


Figura 2. Conta Batterica Totale (CBT) su LYA a 20°C, in nasello dell'Adriatico (eviscerato), conservato a +3°C ± 1°C. Manipolazione a bordo: Tesi 1 ghiacciatura scarsa (-G), Tesi 2 ghiacciatura ottimale (+G). Tempo espresso in giorni (T1-T10).

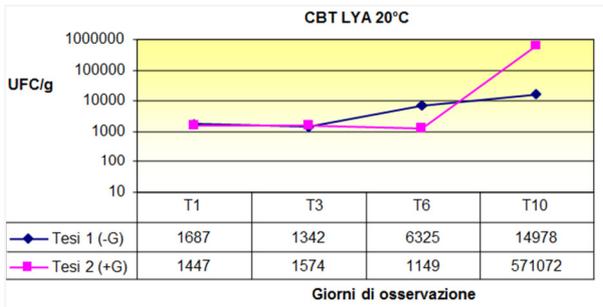


Figura 3. Conta Batteri produttori di H₂S (BPS) su LYA a 20°C, in nasello dell'Adriatico (eviscerato), conservato a +3°C ± 1°C. Manipolazione a bordo: Tesi 1 ghiacciatura scarsa (-G), Tesi 2 ghiacciatura ottimale (+G). Tempo espresso in giorni (T1-T10).

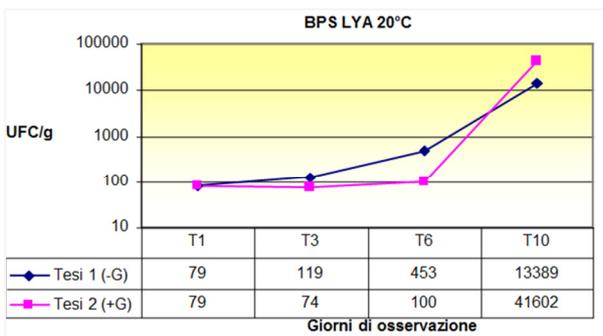


Figura 4. Conta Batterica Totale (CBT) su PCA a 20°C, in nasello del Tirreno (non eviscerato), conservato a +3°C ± 1°C. Manipolazione a bordo: Tesi 1 ghiacciatura scarsa (-G), Tesi 2 ghiacciatura ottimale (+G). Tempo espresso in giorni (T1-T10).

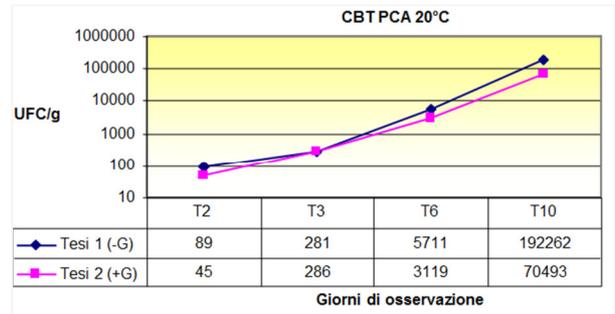


Figura 5. Conta Batterica Totale (CBT) su LYA a 20°C, in nasello del Tirreno (non eviscerato), conservato a +3°C ± 1°C. Manipolazione a bordo: Tesi 1 ghiacciatura scarsa (-G), Tesi 2 ghiacciatura ottimale (+G). Tempo espresso in giorni (T1-T10).

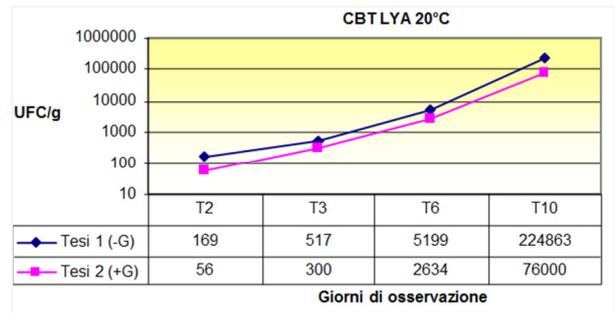
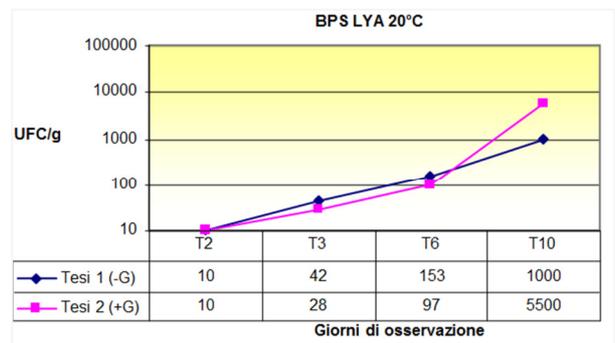


Figura 6. Conta Batteri produttori di H₂S (BPS) a 20°C, in nasello del Tirreno (non eviscerato), conservato a +3°C ± 1°C. Manipolazione a bordo: Tesi 1 ghiacciatura scarsa (-G), Tesi 2 ghiacciatura ottimale (+G). Tempo espresso in giorni (T1-T10).



I risultati della elaborazione statistica dei dati per il confronto fra le 2 tesi sono riportati nelle tabelle 1-6. Per nessun tempo di osservazione la differenza tra le medie geometriche è risultata significativamente diversa.

Tabella 1. Analisi statistica relativa alla CBT su PCA a 20°C in naselli dell'Adriatico. Tesi 1 (ghiacciatura scarsa) versus tesi 2 (ghiacciatura ottimale).

Giorni di conservazione	T1		T3		T6		T10	
Rapporto tra le medie (=diff)	0,836		0,649		10,074		0,258	
IC95% (min;max)	0,012	58,522	0,012	33,935	0,030	3330,319	0,001	77,932
p-value	0,912		0,777		0,294		0,546	

Tabella 2. Analisi statistica relativa alla CBT su LYA a 20°C in naselli dell'Adriatico. Tesi 1 (ghiacciatura scarsa) versus tesi 2 (ghiacciatura ottimale).

Giorni di conservazione	T1		T3		T6		T10	
Rapporto tra le medie (=diff)	1,166		0,663		4,929		0,026	
IC95% (min;max)	0,016	84,502	0,003	163,524	0,003	7471,259	5,070	1356,793
p-value	0,926		0,846		0,538		0,404	

Tabella 3. Analisi statistica relativa ai BPS su LYA a 20°C in naselli dell'Adriatico. Tesi 1 (ghiacciatura scarsa) versus tesi 2 (ghiacciatura ottimale). * Significatività non valutabile in quanto il valore della Tesi 2 al T6 è risultato costante.

Giorni di conservazione	T1		T3		T6		T10	
Rapporto tra le medie (=diff)	1,000		1,882		4,528		13,727	
IC95% (min;max)	0,040	24,940	0,108	32,713	-*	-*	0,188	1004,923
p-value	1,000		0,572		-*		0,166	

Tabella 4. Analisi statistica relativa alla CBT su PCA a 20°C in naselli del Tirreno. Tesi 1 (ghiacciatura scarsa) versus tesi 2 (ghiacciatura ottimale).

Giorni di conservazione	T1		T3		T6		T10	
Rapporto tra le medie (=diff)	1,960		0,981		1,831		2,727	
IC95% (min;max)	0,276	13,925	0,040	24,024	0,067	49,943	0,004	1942,128
p-value	0,433		0,989		0,638		0,579	

Tabella 5. Analisi statistica relativa alla CBT su LYA a 20°C in naselli del Tirreno. Tesi 1 (ghiacciatura scarsa) versus tesi 2 (ghiacciatura ottimale).

Giorni di conservazione	T1		T3		T6		T10	
Rapporto tra le medie (=diff)	3,030		1,723		1,974		2,959	
IC95% (min;max)	0,242	37,880	0,173	17,115	0,085	45,809	0,001	8223,249
p-value	0,324		0,583		0,581		0,616	

Tabella 6. Analisi statistica relativa ai BPS su LYA a 20°C in naselli del Tirreno. Tesi 1 (ghiacciatura scarsa) versus tesi 2 (ghiacciatura ottimale). * Significatività non valutabile in quanto il valore è risultato costante in entrambe le tesi.

Giorni di conservazione	T1		T3		T6		T10	
Rapporto tra le medie (=diff)	1,000		1,520		1,582		0,182	
IC95% (min;max)	-*	-*	0,131	17,592	0,002	1547,554	1,495	221058,47
p-value	-*		0,690		0,862		0,653	

I risultati della elaborazione statistica dei dati per il confronto fra il prodotto dell'Adriatico e quello del Tirreno mostrano differenze significative relativamente alla CBT per la tesi 2, come riportato nelle tabelle 7 e 8. In particolare risulta significativamente diverso

(maggiore) il valore medio della CBT dei naselli dell'Adriatico al T1 rispetto a quello dei naselli del Tirreno al T2, e tale differenza risulta ancora discretamente rilevabile al T3. Si omettono per brevità i confronti che non hanno mostrato differenze significative.

Tabella 7. Analisi statistica relativa alla CBT su PCA a 20°C in naselli dell'Adriatico rispetto ai naselli del Tirreno, tesi 2 (ghiacciatura ottimale).

Giorni di conservazione	T1vsT2	T3	T6	T10
Rapporto tra le medie (=diff)	30,577	6,163	0,312	6,792
IC95% (min;max)	2,652 352,565	0,642 59,130	0,021 4,677	0,004 12085,635
p-value	0,016	0,094	0,298	0,475

Tabella 8. Analisi statistica relativa alla CBT su LYA a 20°C in naselli dell'Adriatico rispetto ai naselli del Tirreno, tesi 2 (ghiacciatura ottimale).

Giorni di conservazione	T1vsT2	T3	T6	T10
Rapporto tra le medie (=diff)	25,995	5,218	0,487	7,514
IC95% (min;max)	2,624 257,538	0,404 67,400	0,021 11,392	0,008 6796,388
p-value	0,015	0,158	0,561	0,415

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Lo studio preliminare qui presentato consente di trarre alcune interessanti indicazioni sulla qualità microbiologica delle carni di nasello, in relazione alle modalità di manipolazione effettuate a bordo del peschereccio. Per quanto riguarda l'indice di contaminazione generica (CBT) sembrano non emergere differenze significative tra le tesi a confronto, ovvero i valori medi di CBT rilevati nel prodotto sottoposto a ghiacciatura scarsa sono risultati dello stesso ordine di grandezza o di poco superiori a quelli rilevati nel prodotto con ghiacciatura ottimale, sia nei naselli dell'Adriatico che nei naselli del Tirreno. Per contro sono risultate significative le differenze fra i valori medi della CBT nel prodotto dell'Adriatico rispetto a quello del Tirreno nella tesi 2 (ghiacciatura ottimale), in quanto il primo ha mostrato una contaminazione dell'ordine di grandezza di 3 log già al T1, mentre il secondo ha raggiunto tale entità di contaminazione solo al T6. Le differenze sono risultate pressoché nulle al T10, con valori di CBT pari a 4-5 log per entrambe le tesi ed entrambi i luoghi di produzione. I valori medi relativi ai BPS non sono risultati significativamente diversi nelle tesi a confronto e neppure in relazione alla provenienza.

Pur nella consapevolezza che il numero delle osservazioni effettuate è abbastanza limitato, sembra di poter dire che almeno fino a 3 giorni di appropriata refrigerazione post landing, la qualità microbiologica dei filetti di nasello non eviscerato (come d'uso in Tirreno) è sensibilmente migliore di quella del prodotto eviscerato (come d'uso in Adriatico), anche quando questo viene confezionato a bordo con

ghiacciatura ottimale. L'utilizzo di due terreni per la valutazione della CBT, mostra che i valori rilevati su PCA e LYA sono sostanzialmente sovrapponibili. Il LYA, indicato anche come Iron Agar, consente di valutare simultaneamente la CBT e la quota specifica di BPS, in quanto contiene Tiosolfato di sodio e L-cisteina (11). Tenuto conto che la stima dei BPS risulta utile non solo per avere indicazioni rispetto allo stato attuale di spoilage, ma anche per valutare la rimanente shelflife del prodotto (12,13), il suo utilizzo risulta raccomandabile rispetto al comune PCA.

BIBLIOGRAFIA

1. Bremner H.A. 2002. Safety and Quality issues in Fish processing. Woodhead Publishing.
http://knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=655&verticalID=0
2. Mukundan M.K., Antony P.D., Nair M.R. (1986). A review on autolysis in fish. Fisheries Research 4 (3-4), 259-269.
3. Shewan J. M. (1977). The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. In: Proceedings of the conference on handling, processing and marketing of tropical fish. Tropical products institute, London, 51-66.
4. Johnston W. A., Nicholson F. J., Roger A., Stroud G.D. (1994). Freezing and Refrigerated Storage in Fisheries. Stroud Series, FAO Fisheries Technical Paper 340, 143.
5. Hus H.H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fishery Technical Paper 348.
<http://www.fao.org/docrep/v7180e/v7180e00.htm>

6. Shawyer M., Medina Pizzali A. F. (2003). The use of ice on small vessels. FAO Fishery Technical Paper 436, 43.
7. Serratore P., Trentini M. (2005). *Sardina pilchardus* destinata al consumo di marinata crude: evoluzione della componente batterica durante la refrigerazione. XV Convegno Nazionale AIVI 16–18 giugno, Tirrenia, Italy, 411.
8. Lagrange F., Jark U., Etzel V., Feldhusen F. (2003). Einfluss des Ausnehmens auf die Qualität von frischem Seefisch. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 54, 65–70.
9. Oehlenschläger J., Rehbein H. (2001). Shelf life of gutted and ungutted ocean perch (*Sebastes marinus* and *S. mentella*) during ice-storage. In: Gudjonsson, A. and Niclasen, O. (eds.) *Annales Societatis Scientiarum Faeroensis, Supplementum XXVIII*, Torshaven, 51–61.
10. Skjerdal O.T, Lorentzen G., Tryland I., Berg J.D. (2004). New method for rapid and sensitive quantification of sulphide-producing bacteria in fish from arctic and temperate waters. *International Journal of Food Microbiology* 93, 325–333.
11. Gram L., Trolle G., Huss H.H. (1987). Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. *International Journal of Food Microbiology* 4, 65–72.
12. Dalgaard P., Buch P., Silberg S. (2002). Seafood spoilage predictor-development and distribution of product specific application software. *International Journal of Food Microbiology* 73, 343–349.
13. Jørgensen B.R., Gibson D.M., Huss H.H. (1988). Microbiological quality and shelf life prediction of chilled fish. *International Journal of Food Microbiology* 6, 295–307.