

APPLICAZIONE DI UNO SCHEMA QIM PER LO STUDIO DELLA SHELF-LIFE IN ESEMPLARI DI RANA PESCATRICE (*LOPHIUS PISCATORIUS*)

*APPLICATION OF QUALITY INDEX METHOD (QIM) SCHEME IN SHELF-LIFE STUDY OF ANGLERFISH (*Lophius piscatorius*)*

Pennisi L.¹, Olivieri V.², D'Aurelio R.³, Piscione I.³

¹Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università degli Studi di Teramo; ²Dirigente Veterinario AUSL, Pescara; ³Medico Veterinario Libero Professionista.

SUMMARY

The aim was to evaluate a Quality Index Method (QIM) scheme for fresh Anglerfish (*Lophius piscatorius*). Anglerfish were stored at 0±2 °C on ice up to 9 days. Total Mesophilic Counts (TMC), Total Psychrophilic Counts (TPC) and counts of Specific Spoilage Organisms (SSOs) were done. An high correlation between the Quality Index (QI) and storage time on ice and between the Quality Index (QI) and H₂S-producing bacteria counts was found. The remaining storage time could be estimated with accuracy of ±1.5 days when the Anglerfish were evaluated with QIM.

KEYWORDS

Anglerfish, *Lophius piscatorius*, sensorial analysis, Quality Index Method, Specific Spoilage Organisms

INTRODUZIONE

In Italia, delle 266 specie presenti in Mediterraneo, solo il 10% (20-30 specie), tra cui la rana pescatrice, sono presenti giornalmente sui banchi di vendita. La rana pescatrice è una delle specie che spuntano una più alta valutazione di mercato, in particolare nelle regioni adriatiche e tirreniche. Gli ultimi dati, relativi alla produzione nazionale e ai consumi, riportati dall'ISMEA indicano che la produzione annua è stata di oltre 2.200 tonnellate (1).

Il concetto di qualità è stato tecnicamente definito, attraverso la norma internazionale UNI EN ISO 8402, come: "l'insieme delle proprietà e delle caratteristiche che conferiscono ad un prodotto, ad un processo di lavorazione o ad un servizio, la capacità di soddisfare esigenze espresse ed implicite" (2). La qualità, nei prodotti della pesca, è indissolubilmente legata alla valutazione della freschezza. In Europa, il metodo ufficialmente utilizzato per la valutazione della freschezza è quello previsto dal Reg. CE 2406/1996 che stabilisce norme comuni di commercializzazione per taluni prodotti della pesca (3). Il Regolamento prevede

tre livelli di qualità, E (Extra, la più alta qualità), A (buona qualità) e B (discreta qualità). Sotto il livello B (a volte chiamata non idoneo o C), la partita non è accettabile per il consumo umano, quindi è scartata o respinta. All'interno dello stesso gruppo di prodotto, tuttavia, il Legislatore pone animali con importanti differenze anatomiche, provenienti da habitat totalmente diversi. Il Reg. (CE) n.2406/1996, quindi, potrebbe in alcuni casi risultare troppo generico, in quanto non tiene sempre conto delle differenze inter ed intraspecifiche (4, 5, 6). Da tempo, quindi, si avverte la necessità di avere a disposizione un metodo di valutazione che prenda in esame le singole specie e che tenga conto delle possibili differenze all'interno della stessa specie. È in quest'ottica che è stato creato il *Quality Index Method* (QIM). Il QIM, inizialmente elaborato dalla *Tasmanian Food Research Unit*, si basa sulla valutazione oggettiva, sistematica, ed affidabile dei parametri più significativi del pesce, attraverso l'uso di un punteggio a demerito compreso tra valori di 0-3 (7). La somma dei punti attribuiti ai singoli parametri assegna un punteggio totale (c.d. *Quality Index*).

Piccole differenze di valutazione non sembrano possano influenzare eccessivamente il punteggio finale. Con questo sistema di valutazione non si attribuisce eccessiva importanza ai singoli attributi, evitando così che un campione possa essere scartato sulla base di una singola caratteristica negativa (4). La somma dei punti attribuiti potrebbe, in questo modo, essere correlata allo stato di conservazione del pesce al momento della valutazione. Alla luce di ciò gli sforzi dei ricercatori sull'implementazione di questo sistema potrebbe portare a breve ad una attendibile predizione della shelf-life residua (8, 9, 10). Questo sistema è stato finora applicato, con buoni risultati, a 39 specie ed altre sono in via di sviluppo. Veloce e più accurato dei metodi precedenti, il vantaggio chiave del QIM è che il metodo fornisce agli utilizzatori una misura attendibile ma soprattutto standardizzata della freschezza di un prodotto. Inoltre le misurazioni possono essere effettuate non solo in qualunque momento della filiera, ma anche durante le prime fasi di conservazione dove altre metodiche potrebbero risultare inappropriate (11, 6). Viste le carenze della normativa attualmente in vigore, che specifica criteri extra unicamente per la rana pescatrice senza testa e l'importanza commerciale che questa specie riveste, in particolare nelle regioni adriatiche e tirreniche, scopo del presente lavoro, in considerazione della assoluta mancanza di dati bibliografici, è stato quello di sviluppare e valutare un sistema di qualità a punteggio, basato sul *Quality Index Method*, da applicare su campioni di rana pescatrice freschi conservati sotto ghiaccio.

MATERIALI E METODI

Ai fini del presente lavoro sono stati raccolti n° 5 lotti per un totale di n° 78 esemplari di rane pescatrici (*Lophius piscatorius*). Tutti gli esemplari erano stati pescati entro le 24 h precedenti la valutazione. Subito dopo l'acquisto i pesci, con un peso medio di 400±50 gr. ed una lunghezza di 25±10 cm, sono stati posti all'interno di una cassetta di polistirolo, coperti da un sottile film plastico sul quale è stato poi disposto uno strato di ghiaccio a scaglie. Una volta arrivata in laboratorio la cassetta è stata posta all'interno di un frigorifero e mantenuta a temperatura di 0°±2° C. Quotidianamente si provvedeva a rinnovare il ghiaccio a scaglie per poter mantenere costante la temperatura. Le analisi sensoriali e microbiologiche sono state condotte a partire dall'arrivo in laboratorio (ora 0) e successivamente ogni 24 h fino al raggiungimento del rifiuto sensoriale. La valutazione organolettica è stata effettuata

mediante uno schema basato sul QIM ideato ed organizzato specificatamente per la rana pescatrice da un panel costituito da n. 6 medici veterinari preventivamente addestrati alla valutazione dei caratteri sensoriali dei prodotti ittici (Tab. 1).

Tabella 1. Schema QIM per rana pescatrice (*Lophius piscatorius*)

PARAMETRI DI QUALITA'	CARATTERISTICHE	PUNTI DI DEMERITO	
ASPETTO	PELLE	Molto brillante	0
		Brillante	1
		Opaca/Decolorata	2
	MUCO	Chiaro trasparente	0
		Leggermente torbido	1
MUSCOLATURA	CONSISTENZA	Torbido/lattiginoso	2
		Elastica	0
		Poco elastica	1
ODORE		Fovea alla pressione	2
		Di fresco/Alga marina	0
		Neutro	1
		Di pesce	2
		Cattivi odori	3
OCCHIO	CORNEA	Chiaro traslucida	0
		Leggermente opaca/opaca	1
		Opaca	2
	COLORE DELLA PUPILLA	Nera brillante	0
		Nera - Grigia, Brillante	1
		Opaca/Lattescente	2
		Convessa	0
FORMA	Piatta	1	
	Concava	2	
SUP. VENTRALE	COLORE	Bianco lattescente/colore roseo diffuso	0
		Bianco spento/colore roseo diffuso	1
		Bianco spento/colore roseo diffuso/ macchie scure	2
REG. ANALE	FORMA	Trattenuto	0
		Leggermente incavato/beante	1
	COLORE	Bianco/grigio	0
		Rosa/rossastro	1
PINNE	ASPETTO	Rosa/rossastro+macchie scure	2
		Idratate	0
		Parti apicali leggermente disidratate	1
	COLORE	Disidratate	2
		Pigmentate	0
		Alone rossastro sui margini	1
PUNTI DI DEMERITO			0-23

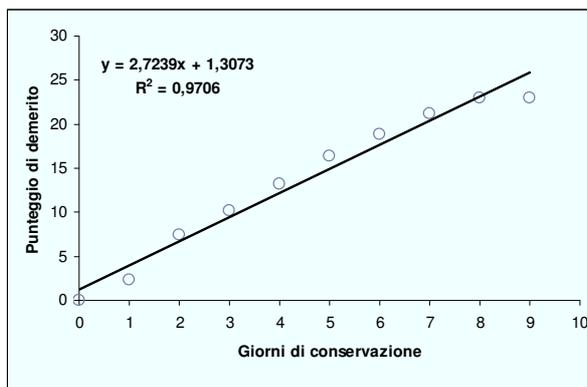
La costruzione dello schema è stata effettuata contemporaneamente ed alle medesime condizioni di conservazione presso il laboratorio della Unità di ricerca e presso un deposito di prodotti della pesca. Si è lavorato su un totale di 40 soggetti, ugualmente ripartiti tra le due sedi. Sono state eseguite sulla muscolatura epiaassiale le seguenti determinazioni microbiologiche: Carica Mesofila Totale (CMT) (PCA, Oxoid 30° x 48 h), Conta Psicrofila Totale (CPT) (PCA, Oxoid 4° x 7 gg.) e Batteri alteranti specifici (SSOs) (Iron Agar, Oxoid allo 0,5% di NaCl, incubato a 25° x 2-5 gg.). Successivamente alcune colonie nere (microrganismi produttori di H₂S) ed alcune colonie bianche, cresciute in Iron Agar, sono state sottoposte a test di screening quali colorazione Gram, la prova della catalasi e dell'ossidasi e, quindi, identificate in micrometodo con API 20 NE (bioMèrieux) ed in micrometodo automatizzato con il sistema Vitek Jr. (bioMèrieux). I dati ottenuti dalle conte batteriche sono stati espressi in log ufc/g. **Analisi statistica:** i valori medi del *Quality Index* (QI) e delle conte microbiche sono stati correlati ai giorni di conservazione in ghiaccio ed ai valori di QI, rispettivamente, mediante software Microsoft® Excel 2007 (Microsoft Corporation). Per valutare la precisione dei

risultati relativi al QI è stato, inoltre, calcolato l'Errore Standard di Predizione che fornisce l'errore di previsione in unità originaria, cioè in giorni.

RISULTATI

I risultati della valutazione sensoriale ottenuti presso il deposito di prodotti della pesca sono stati sovrapponibili a quelli ottenuti presso il laboratorio della Sezione, sebbene nel primo caso non fosse stato possibile garantire le condizioni ideali (isolamento olfattivo e presenza costante di luce naturale) per ovvi motivi. I risultati medi relativi alla valutazione sensoriale e microbiologica di *Lophius piscatorius* sono illustrati nei Grafici 1 e 2 e in Tabella 2. Il Grafico n. 1 mostra i valori medi calcolati relativi allo scadimento dei caratteri organolettici durante lo stoccaggio con raggiungimento del punteggio massimo (23) a 8 giorni. Le modifiche più precoci e più pronunciate dei caratteri organolettici sono state l'aspetto della pelle, la consistenza muscolare e l'aspetto della superficie dorsale, che hanno presentato il punteggio massimo al 5° giorno di conservazione. I caratteri organolettici che hanno mostrato un'alterazione più lenta sono stati, invece, la cornea e la forma dell'occhio.

Grafico 1. Indice di Qualità di rana pescatrice. Valori medi correlati ai giorni di conservazione in ghiaccio



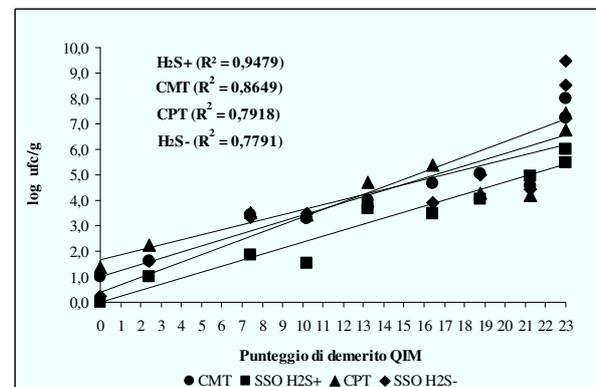
La prima, pigmentata, si presentava completamente opaca in tempi più lunghi, per quanto riguarda la forma bisogna ricordare che la rana pescatrice, caratterizzata da occhi piccoli posti all'interno di un'orbita spinosa, risente degli effetti della conservazione con meno enfasi rispetto ad altre specie. L'indice di qualità ha presentato un'ottima correlazione con i giorni di conservazione in ghiaccio. Il coefficiente di determinazione (R^2), che misura la validità dell'adattamento (*fitting*) della regressione lineare stimata ai dati osservati, ha

presentato, infatti, valori di 0,9706. Poiché il valore di R^2 è posto tra 0 ed 1, quanto più tale valore si avvicina ad 1 tanto più la correlazione sussiste. Mediante il software di calcolo è stato possibile, inoltre, calcolare anche l'Errore Standard di Predizione (ESP). Tramite questa analisi si può affermare che la somma dei punti di demerito che costituiscono l'indice di qualità potrebbe predire il tempo rimanente di conservazione con un errore di 1,5 giorni.

Gli andamenti delle cariche microbiche, durante il periodo di conservazione, sono illustrati in Tabella 2 e nel Grafico n. 2.

Come si può vedere dai risultati espressi in tabella, i campioni analizzati mostravano valori di 7,00 log ufc/g., che è considerato, per la CMT e CPT, il limite massimo di accettabilità per le specie marine e di acqua dolce, così come stabilito dall'International Commission on Microbiological Specification for Food (12), al settimo giorno di conservazione quando, ormai, le condizioni del pesce erano prossime al raggiungimento del valore massimo previsto per il *Quality Index*. L'iniziale popolazione dei batteri produttori di H_2S del muscolo (colonie nere) era oscillante tra valori inferiori al limite di rilevabilità del metodo in piastra e 1,85 log ufc/g. fino a raggiungere, all'ottavo giorno di conservazione valori compresi tra 4,00 e 8,00 log ufc/g.

Grafico 2. Analisi microbiologiche. Valori medi correlati all'indice di qualità



I valori iniziali dei batteri non produttori di H_2S (colonie bianche) erano compresi tra 1,60 e 4,40 log ufc/g. Alla fine del periodo di conservazione le cariche presentavano valori compresi tra 6,70 e 10,47 log ufc/g. Così come riportato da altri Autori (13, 14) le colonie nere isolate dalle piastre di Iron Agar sono state identificate principalmente come *Shewanella algae* e *Shewanella putrefaciens*, invece le colonie bianche sono state identificate come *Pseudomonas* spp. e *Pseudomonas fluorescens*. Tali risultati sono concordi con quanto riportato in bibliografia, infatti è abbastanza noto come

Pseudomonas spp. e *Shewanella* spp., siano tra i maggiori responsabili di alterazione nei pesci marini e d'acqua dolce (13, 15).

L'analisi statistica ha mostrato un'ottima correlazione tra i valori medi dei batteri produttori di idrogeno solforato e il punteggio QIM ottenuto. Questa osservazione

rafforzerebbe ulteriormente quanto già sostenuto da Ianieri *et al.*, (16), cioè che solo una piccola parte della microflora totale partecipa al processo di alterazione dei prodotti della pesca, cioè quei microrganismi definiti come SSOs (*Specific Spoilage Organisms*).

Tabella 2: Valori medi di CMT, CPT, batteri alteranti specifici (SSOs) e coefficiente di correlazione (R^2) all'indice di qualità medio osservato in rana pescatrice (*Lophius piscatorius*) conservata in ghiaccio.

Giorni conservazione	Conta Mesofila Totale	Conta Psicrofila Totale	Batteri H ₂ S+	Batteri H ₂ S-
0	1,60	2,23	1,00	1,60
1	3,41	3,52	1,85	3,31
2	3,29	3,45	1,52	3,46
3	3,99	4,71	3,67	3,78
4	4,65	5,36	3,47	3,91
5	5,02	4,30	4,07	5,00
6	4,57	4,18	4,97	4,45
7	7,22	6,74	5,48	8,53
8	8,00	7,44	6,00	9,47
Coefficiente di correlazione (R^2) all'indice di qualità	0,8649	0,7918	0,9479	0,7791

* i valori sono espressi in log ufc/g.

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

In ragione dell'estrema deteriorabilità dei prodotti della pesca, la valutazione della freschezza riveste un ruolo particolarmente importante, sia in un ambito puramente commerciale sia a fini igienici.

Le attuali condizioni del mercato dei prodotti della pesca, caratterizzate da una domanda sempre più elevata ed un'offerta sempre più globale, richiedono tecniche di valutazione della freschezza sempre più accurate. A fronte di queste aspettative, le modalità con cui si svolgono i controlli previsti dalla normativa vigente dimostrano di non soddisfare pienamente le esigenze di efficacia ed oggettività. Ciò dipende essenzialmente dall'estrema eterogeneità che questi prodotti esprimono in termini di specie coinvolte, fenomenologie alterative, stato fisiologico, ambienti di provenienza, condizioni di pesca, condizioni di conservazione, ecc.

Il controllo ufficiale pone particolare importanza alla valutazione organolettica, metodo che manca di criteri oggettivi e universalmente validi, poiché affidato all'esperienza ed alla discrezione dell'operatore (17). Il QIM viene oggi considerato il metodo sensoriale più efficace per valutare la

freschezza dei prodotti della pesca. I punti di forza che possiede sono rappresentati dalla praticità, dalla facilità e velocità di esecuzione, dalla non distruttività, dalla capacità di stima della shelf-life del prodotto. Secondo alcuni Autori, con il metodo QIM si può giungere alla valutazione della shelf-life con un errore di 1-2 giorni, peraltro accettabile, rispetto ai classici metodi di laboratorio, che richiedono esami chimici e microbiologici, difficilmente realizzabili di routine (18). L'unico limite del metodo è costituito dal numero ancora esiguo degli schemi di valutazione per le singole specie: attualmente sono disponibili solo per 39 prodotti della pesca. Sarebbe pertanto auspicabile che gli esperti del settore contribuissero a sviluppare nuovi schemi di valutazione applicabili a specie ittiche non ancora prese in considerazione. In quest'ottica lo schema QIM per *Lophius piscatorius*, sviluppato per il presente lavoro, rappresenta un contributo. E' stato possibile, infatti, dimostrare una chiara correlazione con i giorni di conservazione in ghiaccio. Lo schema, prendendo in esame 11 parametri assegna un totale di 23 punti di demerito. Dai risultati ottenuti si potrebbe affermare che il tempo massimo di conservazione in ghiaccio, per questa specie, è stato raggiunto in 8 giorni. L'ulteriore sviluppo del presente lavoro è

rappresentato dalla creazione di un manuale, in cui verranno descritti tutti i termini e le procedure sviluppate corredato di foto a colori che illustrino i differenti gradi di alterazione, rendendo il *Quality Index Method* utile strumento anche per la formazione di personale in sintonia con le previsioni dell'art. 12 del Reg. (CE) 2406/1996 in cui si dispone che "gli operatori del settore della pesca effettuano la classificazione per categoria di freschezza ricorrendo ad esperti designati a tal fine dalle organizzazioni professionali".

BIBLIOGRAFIA

1. Ismea: *il settore ittico in Italia*. Check up 2008. <http://www.ismea.it>
2. UNI EN ISO 8402 (1995). "Gestione per la Qualità ed Assicurazione della Qualità". Termini e definizioni, pag. 16.
3. Regolamento (CE) n. 2406/1996 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 26 novembre 1996 "che stabilisce norme comuni di commercializzazione per taluni prodotti della pesca" GUCE n. L 334 del 23 dicembre 1996.
4. Luten J.B., Martinsdóttir E (1997). *QIM: a European tool for fish freshness evaluation in the fishery chain*. In: Ólafsdóttir G, Luten J, Dalgaard P, Careche M, Verrez-Bagnis V, Martinsdóttir E, Heia K (eds.) *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*. Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action "Evaluation of Fish Freshness", AIR3CT94 2283, Nantes Conference, November 12-14 1997.
5. Nielsen, J. (1995). *Assessment of fish quality*. In: H. H. Huss (Ed.), *Quality and quality changes in fresh fish*. FAO Fisheries Technical Paper 348, pp. 116-124.
6. Nielsen, J. (1997). *Sensory analysis in fish*. In: Ólafsdóttir G, Luten J, Dalgaard P, Careche M, Verrez-Bagnis V, Martinsdóttir E, Heia K (eds.) *Methods to determine the freshness of fish in research and industry*. Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action "Evaluation of Fish Freshness", AIR3CT94 2283, Nantes Conference, November 12-14 1997.
7. Bremner, H. A. (1985). *A convenient, easy to use system for estimating the quality of chilled seafood*. Fish Processing Bulletin, 7, 59-70.
8. Hyldig G., Green-Petersen D.M.B. (2004). *Quality Index Method-An objective tool for determination of sensory quality*. Journal of Aquatic Food Product Technology, 13(4), 71-80.
9. Hyldig G., Nielsen J. (2004). *QIM – a tool for determination of fish freshness*. In F. Shahidi, & B.K.Simpson (Eds.), *Seafood quality and safety. Advances in the new millennium* (pp. 81-89). St. John's, NL. Science Tech Publishing Company.
10. Larsen E, Heldbo J, Jespersen CM, Nielsen J (1992). *Development of a method for quality assessment of fish for human consumption based on sensory evaluation*. In: HH Huss, M Jakobsen, J Liston (eds.) *Quality Assurance in the Fish Industry*. Elsevier Science Publishing, Amsterdam: 351-358.
11. Barbosa A, Vaz-Pires P. (2004). *Quality index method (QIM): development of a sensorial scheme for common octopus (Octopus vulgaris)*. Food Control 15: 161-168.
12. International Commission on Microbiological Specification for Food. (1996) *Sampling planes for fish and shellfish. Microorganisms in foods*. Sampling for microbiological analysis: principles and scientific application, 2nd ed., Vol. 2. pp. 181-196. University of Toronto Press, Toronto.
13. Dalgaard P. (1995) *Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish*. Int. J. Food Microbiol. 26: 319-333.
14. 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*. Int. J. Food Microbiol., 4: 65-72.
15. Gram L., Dalgaard P. (2002) *Fish spoilage bacteria-problems and solution*. Current Opinion in Biotechnology, 13: 262-266.
16. Ianieri A., Vergara A., Colavita G. (2005) *Microbiologia dei prodotti ittici refrigerati*. Atti Conferenza Nazionale OXOID, pp. 47-54.
17. Cianti L., Boccetti M., Pelatti E., Cellesi E., Catalano A., Perico A., Bavazzano P., Colzi A., Gravina M.T., Boddi V. (2007). *L'indice di freschezza del pesce: proposta di un nuovo metodo di valutazione*. Ind. Alim., 46: 9971003
18. Lougovois V.P., Kyranas E.R., Kyranas V.R. (2003) Comparison of selected methods of assessing freshness quality and remaining storage life of iced gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Food Res. Int., 36 (6): 551-560.