



**Consorzio Universitario
della Provincia di Trapani**

Istituto di Biologia Marina



**PO FEAMP 2014/2020, Reg. UE n. 508/2014
misura a titolarità 1.25**

**Progetto SUPERICE:
SUPPORTO E PROMOZIONE DELLA RICERCA E DELL'INNOVAZIONE
NELLA CONSERVAZIONE E COMMERCIALIZZAZIONE DEI PRODOTTI
DELLA PESCA IN SICILIA**

**Valutazione degli effetti dell'utilizzo di "Creamy Ice®" sulla qualità e la
conservabilità dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura**

Responsabile scientifico (Dott. Andrea Santulli)



Indice

Indice.....	1
Indice figure.....	3
Indice tabelle.....	8
METODOLOGIE	12
Campionamento	12
Preparazione del ghiaccio	12
Baiatura e conservazione dei campioni per la <i>shelf life</i>	13
Valutazioni analitiche.....	15
Salatura.....	17
RISULTATI E DISCUSSIONE	18
<i>Sardina pilchardus</i>	18
Temperatura	18
Analisi sensoriale	18
Analisi chimico-fisiche correlate alla <i>shelf life</i>	21
Analisi microbiologiche	30
Conclusione	31
<i>Engraulis encrasicolus</i>	33
Temperatura	33
Analisi sensoriale	33
Analisi chimico-fisiche correlate alla <i>shelf life</i>	36
Analisi microbiologiche	45
Conclusione	46
Salatura di <i>S. pilchardus</i> e di <i>E. encrasicolus</i>	48
<i>Sparus aurata</i>	53
Temperatura	54
Analisi sensoriale	54
Analisi fisico-chimiche correlate alla <i>shelf life</i>	59
Analisi microbiologiche	68
Conclusione	69
<i>Micropterus salmoides</i>	71
Temperatura	71
Analisi sensoriale	71
Analisi fisico-chimiche correlate alla <i>shelf life</i>	76
Analisi microbiologiche	85
Conclusione	86

<i>Parapenaeus longirostris</i>	88
Temperatura	88
Analisi sensoriale	88
Analisi chimico-fisiche correlate alla shelf life	91
Analisi microbiologiche	99
Conclusione	100
<i>Aristaeomorpha foliacea</i>	102
Temperatura	102
Analisi sensoriale	102
Analisi chimico-fisiche correlate alla shelf life	105
Analisi microbiologiche	114
Conclusione	115
BIBLIOGRAFIA	117
Allegato 1: Esame microbiologico <i>S. pilchardus</i> : Conta dei microrganismi a 30 °C	127
Allegato 2: Esame microbiologico <i>E. encrasicolus</i> : Conta dei microrganismi a 30 °C	128
Allegato 3: Analisi del contenuto di Istamina su <i>S. pilchardus</i> e <i>E. encrasicolus</i> salata	129
Allegato 4: Procedura per la determinazione dell'istamina su <i>S. pilchardus</i> e <i>E. encrasicolus</i> salata	130
Allegato 5: Esame microbiologico <i>S. aurata</i> : Conta dei microrganismi a 30 °C.....	131
Allegato 6: Esame microbiologico <i>M. salmoides</i> : Conta dei microrganismi a 30 °C	132
Allegato 7: Esame microbiologico <i>P. longirostris</i> e <i>A. foliacea</i> : Conta dei microrganismi a 30 °C	133
Allegato 8: Relazione finale della Bio&Tec Soc. Coop.....	134

Indice figure

Figura 1. Misurazione della temperatura del Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).	12
Figura 2. Preparazione del Creamy Ice® (CI) a bordo per la baiatura	13
Figura 3. Fasi della pesca e della baiatura del gambero.....	14
Figura 4. Baiatura in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI) delle specie provenienti dall'acquacoltura. a) S. aurata b) M. salmoides	15
Figura 5. Temperatura al core degli esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	18
Figura 6. Valutazione sensoriale degli esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	19
Figura 7. Esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	20
Figura 8. Analisi del colore dei filetti di esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del parametro L*; b) Andamento dei valori del parametro a*; c) Andamento dei valori del parametro b*; d) Andamento dei valori del parametro ΔE.....	22
Figura 9. Analisi della tessitura dei filetti di esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.	24
Figura 10. Valori di pH dei filetti di esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	25
Figura 11. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) dei filetti di esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	26
Figura 12. Contenuto di sodio (g Na ⁺ /100g) dei filetti di esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	27
Figura 13. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) dei filetti di esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	28
Figura 14. Andamento dei valori di TVBN dei filetti di esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).	29
Figura 15. Andamento dei valori di MDA dei filetti di esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).	29
Figura 16. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g degli esemplari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). (Allegato 1: Esame microbiologico S. pilchardus: Conta dei microrganismi a 30 °C). ...	31
Figura 17. Temperatura al core degli esemplari di E. encrasicholus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	33
Figura 18. Valutazione sensoriale degli esemplari di E. encrasicholus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	34
Figura 19. Esemplari di E encrasicholus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	35
Figura 20. Percentuale (%) delle abrasioni rilevate sugli esemplari di E. encrasicholus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI)	36
Figura 21. Analisi del colore dei filetti di esemplari di E. encrasicholus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del parametro L*; b) Andamento dei valori del parametro a*; c) Andamento dei valori del parametro b*; d) Andamento dei valori del parametro ΔE	37
Figura 22. Analisi della tessitura dei filetti di esemplari di E. encrasicholus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.	39
Figura 23. Valori di pH dei filetti di esemplari di E. encrasicholus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	40

Figura 24. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) dei filetti di esemplari di <i>E. encrasicolus</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	41
Figura 25. Contenuto di sodio (g Na+/100g) dei filetti di esemplari di <i>E. encrasicolus</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).	42
Figura 26. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) dei filetti di esemplari di <i>E. encrasicolus</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	42
Figura 27. Andamento dei valori di TVBN dei filetti di esemplari di <i>E. encrasicolus</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).	44
Figura 28. Andamento dei valori di MDA dei filetti di esemplari di <i>E. encrasicolus</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).	45
Figura 29. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g degli esemplari di <i>E. encrasicolus</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). (Allegato 2: Esame microbiologico <i>E. encrasicolus</i> : Conta dei microrganismi a 30 °C).	46
Figura 30. Arbanelle contenenti esemplari di <i>S. pilchardus</i> subito dopo la procedura di salatura. T6_FI esemplari mantenuti in Flake Ice per 6 giorni e T6_CI esemplari mantenuti in Creamy Ice® per 6 giorni.	48
Figura 31. Arbanelle contenenti esemplari di <i>E. encrasicolus</i> subito dopo la procedura di salatura (a) e dopo un giorno dalla procedura di salatura (b). T1_FI esemplari mantenuti in Flake Ice per 1 giorno e T1_CI esemplari mantenuti in Creamy Ice® per 1 giorno.	49
Figura 32. Arbanelle contenenti esemplari di <i>E. encrasicolus</i> subito dopo la procedura di salatura (a) e dopo un giorno dalla procedura di salatura (b). T6_FI esemplari mantenuti in Flake Ice per 6 giorni e T6_CI esemplari mantenuti in Creamy Ice® per 6 giorni.	50
Figura 33. Filetti ottenuti da esemplari di <i>S. pilchardus</i> sottoposti a salatura dopo 11 mesi di maturazione. FI esemplari mantenuti in Flake Ice per e CI esemplari mantenuti in Creamy Ice® per 6 giorni.	50
Figura 34. Filetti ottenuti da esemplari di <i>E. encrasicolus</i> sottoposti a salatura dopo 11 mesi di maturazione. FI esemplari mantenuti in Flake Ice e CI esemplari mantenuti in Creamy Ice®.	51
Figura 35. Contenuto di TVBN determinato sugli esemplari di <i>S. pilchardus</i> sottoposti a salatura dopo 11 mesi di maturazione. T6: esemplari mantenuti in Flake Ice (FI) e in Creamy Ice® (CI) per 6 giorni.....	51
Figura 36. Contenuto di TVBN determinato sugli esemplari di <i>E. encrasicolus</i> sottoposti a salatura dopo 11 mesi di maturazione. T1: esemplari mantenuti in Flake Ice (FI) e in Creamy Ice® (CI) per 1 giorno; T6: esemplari mantenuti in Flake Ice (FI) e in Creamy Ice® (CI) per 6 giorni... ..	52
Figura 37. Fasi della pesca di orate presso l'impianto di allevamento in gabbie galleggianti.	53
Figura 38. Orate pescate presso l'impianto di allevamento in gabbie galleggianti.	53
Figura 39. Temperatura al core degli esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	54
Figura 40. Valutazione sensoriale degli esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	55
Figura 41. Esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).	58
Figura 42. Analisi del colore dei filetti di esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). a) Andamento dei valori del parametro L*; b) Andamento dei valori del parametro a*; c) Andamento dei valori del parametro b*; d) Andamento dei valori del parametro ΔE.....	60
Figura 43. Analisi della tessitura dei filetti di esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.	62

Figura 44. Valori di pH dei filetti di esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	63
Figura 45. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) dei filetti di esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).	64
Figura 46. Contenuto di sodio (g Na ⁺ /100g) dei filetti di esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e Baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	65
Figura 47. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) dei filetti di esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).	66
Figura 48. Andamento dei valori di TVBN dei filetti di esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	67
Figura 49. Andamento dei valori di MDA dei filetti di esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	68
Figura 50. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g dei filetti di esemplari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). (Allegato 5: Esame microbiologico <i>S. aurata</i> : Conta dei microrganismi a 30 °C).....	69
Figura 51. Temperatura al core degli esemplari di <i>M. salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	71
Figura 52. Valutazione sensoriale degli esemplari di <i>M. salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). La linea continua nera (—) indica il limite di accettabilità come riportata da Ju et al. [53].	72
Figura 53. Particolare dell'occhio di esemplari di <i>M. salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	73
Figura 54. Esemplari di <i>M. salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).	75
Figura 55. Analisi del colore dei filetti di esemplari di <i>M. salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). a) Andamento dei valori del parametro L*; b) Andamento dei valori del parametro a*; c) Andamento dei valori del parametro b*; d) Andamento dei valori del parametro ΔE; e) Indice di bianchezza (WI).....	78
Figura 56. Analisi della tessitura dei filetti di esemplari di <i>M. salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.	79
Figura 57. Valori di pH dei filetti di esemplari di <i>M. salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	80
Figura 58. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) dei filetti di esemplari di <i>M. salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).	81
Figura 59. Contenuto di sodio (g Na ⁺ /100g) dei filetti di esemplari di <i>M. salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	82

Figura 60. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) dei filetti di esemplari di <i>M salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).	83
Figura 61. Andamento dei valori di TVBN dei filetti di esemplari di <i>M salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	84
Figura 62. Andamento dei valori di MDA dei filetti di esemplari di <i>M salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).....	85
Figura 63. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g dei filetti di esemplari di <i>M salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). (Allegato 6: Esame microbiologico <i>M. salmoides</i> : Conta dei microorganismi a 30 °C)	86
Figura 64. Temperatura al core degli esemplari di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	88
Figura 65. Valutazione sensoriale degli esemplari di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	89
Figura 66. Valutazione della melanosi degli esemplari di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	90
Figura 67. Esemplari di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	91
Figura 68. Analisi del colore del cefalotorace di esemplari di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del parametro L*; b) Andamento dei valori del parametro a*; c) Andamento dei valori del parametro b*; d) Andamento dei valori del parametro ΔE; e) Indice di bianchezza (WI).	93
Figura 69. Analisi della tessitura di esemplari di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.	94
Figura 70. Valori di pH della parte edibile di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	95
Figura 71. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) della parte edibile di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).	96
Figura 72. Contenuto di sodio (g Na ⁺ /100g) della parte edibile di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	96
Figura 73. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) della parte edibile di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).	97
Figura 74. Andamento dei valori di TVBN della parte edibile di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	98
Figura 75. Andamento dei valori di MDA della parte edibile di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	99
Figura 76. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g degli esemplari di <i>P. longirostris</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). (Allegato 7: Esame microbiologico <i>P. longirostris</i> e <i>A. foliacea</i> : Conta dei microorganismi a 30 °C).....	100
Figura 77. Temperatura al core degli esemplari di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	102
Figura 78. Valutazione sensoriale degli esemplari di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	103
Figura 79. Valutazione della melanosi degli esemplari di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	104

Figura 80. Esemplari di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	105
Figura 81. Analisi del colore del cefalotorace di esemplari di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del parametro L*; b) Andamento dei valori del parametro a*; c) Andamento dei valori del parametro b*; d) Andamento dei valori del parametro ΔE; e) Indice di bianchezza (WI).	106
Figura 82. Analisi della tessitura di esemplari di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.	108
Figura 83. Valori di pH della parte edibile di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).	109
Figura 84. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) della parte edibile di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	110
Figura 85. Contenuto di sodio (g Na+/100g) della parte edibile di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	111
Figura 86. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) della parte edibile di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	112
Figura 87. Andamento dei valori di TVBN della parte edibile di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	113
Figura 88. Andamento dei valori di MDA della parte edibile di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).....	114
Figura 89. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g degli esemplari di <i>A. foliacea</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). (Allegato 7: Esame microbiologico <i>P. longirostris</i> e <i>A. foliacea</i> : Conta dei microorganismi a 30 °C).....	115

Indice tabelle

Tabella 1. Specie target del progetto.....	13
Tabella 2. Metodologia analitiche.....	16
Tabella 3. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 5.....	18
Tabella 4. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi sensoriale mostrati in Figura 6	19
Tabella 5. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 8	21
Tabella 6. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della tessitura mostrati in Figura 9	24
Tabella 7. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 10	25
Tabella 8. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati di Water Holding Capacity mostrati in Figura 11	26
Tabella 9. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del Sodio mostrati in Figura 12.....	27
Tabella 10. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'aw mostrati in Figura 13	28
Tabella 11. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 14.	29
Tabella 12. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 15.....	30
Tabella 13. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologiche mostrati in Figura 16.....	31
Tabella 14. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 17.	33
Tabella 15. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi sensoriale mostrati in Figura 18	34
Tabella 16. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 21	36
Tabella 17. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della tessitura mostrati in Figura 22	38
Tabella 18. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 23	40
Tabella 19. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del Sodio mostrati in Figura 25	41
Tabella 20. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'aw mostrati in Figura 26.	43
Tabella 21. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 27	44
Tabella 22. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 28.....	45
Tabella 23. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologica mostrati in Figura 29.....	46
Tabella 24. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 39.	54
Tabella 25. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della analisi sensoriale mostrati in Figura 39.....	55
Tabella 26. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 42	59
Tabella 27. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della tessitura mostrati in Figura 43	62
Tabella 28. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 44	63
Tabella 29. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della WHC mostrati in Figura 45	64
Tabella 30. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del Sodio mostrati in Figura 46.....	65
Tabella 31. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 48	67
Tabella 32. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 49.....	68
Tabella 33. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologiche mostrati in Figura 50.....	69
Tabella 34. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 51.	71
Tabella 35. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della analisi sensoriale mostrati in Figura 52.....	72
Tabella 36. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 55	76
Tabella 37. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'Hardness mostrati in Figura 56b	79
Tabella 38. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 57	80
Tabella 39. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della WHC mostrati in Figura 58	81
Tabella 40. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del sodio mostrati in Figura 59.....	82
Tabella 41. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati di aw mostrati in Figura 60	83
Tabella 42. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 61	84

Tabella 43. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 62.....	85
Tabella 44. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologiche mostrati in Figura 63.....	86
Tabella 45. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 64.	88
Tabella 46. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi sensoriale mostrati in Figura 65	89
Tabella 47. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi sensoriale mostrati in Figura 66	90
Tabella 48. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 68	93
Tabella 49. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della tessitura mostrati in Figura 69	94
Tabella 50. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 70	95
Tabella 51. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del Sodio mostrati in Figura 72.....	97
Tabella 52. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'aw mostrati in Figura 73.....	97
Tabella 53. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 74	98
Tabella 54. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 75.....	99
Tabella 55. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologica mostrati in Figura 76.....	100
Tabella 56. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 77	102
Tabella 57. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi sensoriale mostrati in Figura 78	103
Tabella 58. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della melanosi mostrati in Figura 79 ...	104
Tabella 59. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 81	107
Tabella 60. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della tessitura mostrati in Figura 82	108
Tabella 61. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 83	109
Tabella 62. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della WHC mostrati in Figura 84	110
Tabella 63. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del Sodio mostrati in Figura 85.....	111
Tabella 64. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'aw mostrati in Figura 86.....	112
Tabella 65. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 87	113
Tabella 66. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 88.....	114
Tabella 67. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologica mostrati in Figura 89.....	115

In accordo con la Convenzione di collaborazione stipulata tra il Distretto della Pesca e Crescita Blu di Mazara del Vallo e il Consorzio Universitario della Provincia di Trapani, nell'ambito delle attività e degli obiettivi del progetto SUPER ICE, Misura 1.25 del PO FEAMP 2014/2020, l'Istituto di Biologia Marina ha effettuato la valutazione degli effetti dell'utilizzo di "Creamy Ice®" sulla qualità e la conservabilità dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura, rispetto ai controlli conservati con ghiaccio a scaglie.

I risultati ottenuti dall'attività di ricerca intendono dare un contributo all'incremento della competitività e sostenibilità della pesca Siciliana e della qualità e sicurezza dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura.

Il consumo dei prodotti ittici è in continuo aumento, sia per la loro appetibilità sia per le loro caratteristiche nutrizionali, tuttavia i prodotti della pesca e dell'acquacoltura sono, notoriamente, altamente deperibili [1].

I prodotti ittici sono caratterizzati da un elevato contenuto di acqua e di azoto non proteico, pH neutro, una struttura muscolare poco soda, un basso contenuto di collagene, con un notevole contenuto di acidi grassi polinsaturi, particolarmente sensibili all'ossidazione. Queste caratteristiche determinano la deperibilità di questi prodotti che, se non controllata, causa la perdita di qualità sensoriale e nutrizionale [2–4]. Il deterioramento ha inizio immediatamente dopo la cattura o la macellazione e prosegue, con una velocità che dipende direttamente dalle condizioni di conservazione e lavorazione. Il processo di deterioramento *post mortem* è dovuto all'azione combinata di enzimi endogeni e microbici e a reazioni chimiche che determinano il declino della qualità del prodotto. I cambiamenti più significativi che inducono la perdita di qualità durante la conservazione *post mortem* includono: la perdita di liquidi, lo scolorimento, la degradazione delle componenti azotate e lipidiche e la perdita della texture della parte edibile. Inoltre, le prime fasi di manipolazione e conservazione, immediatamente dopo la cattura, e le tecniche di mattazione influenzano significativamente la conservabilità dei prodotti ittici, la loro qualità dal punto di vista organolettico, nutrizionale e della sicurezza dei consumatori [1].

In questo contesto, il controllo della temperatura di conservazione è uno dei parametri più importanti per il controllo della qualità e della sicurezza degli alimenti ittici freschi. Infatti una bassa temperatura di conservazione inibisce efficacemente il loro deterioramento [1,2].

Per ridurre il deterioramento e la degradazione biochimica e mantenere le proprietà organolettiche è necessario intervenire immediatamente dopo la cattura, impiegando diversi metodi di conservazione, basati sulla bassa temperatura. I metodi più usati includono, oltre alla tradizionale conservazione con ghiaccio a scaglie, tecnologie più moderne ed efficienti quali il superchilling, lo *slurry ice* o ghiaccio fluido, l'uso di camere refrigerate senza ghiaccio (refrigerazione passiva), il congelamento e la surgelazione.

Tra queste tecnologie di conservazione a freddo la produzione dello *slurry ice* (ghiaccio fluido) addizionato con ozono e anidride carbonica è quella su cui si basa il ghiaccio innovativo prodotto dalla Medic Air Industry e registrato con il nome di "Creamy Ice®".

Sin dagli anni 30 del '900, con il primo brevetto di Öman E. del 1935 (citato in [5]), è nota la potenzialità dell'uso dello *slurry ice* per la conservazione di alimenti.

Nel 1982 è stato pubblicato il primo articolo scientifico che descriveva l'uso di questo ghiaccio per la conservazione di prodotti ittici [6], confermato, successivamente dai lavori di Chapman *et al.* [7] e di Thomas *et al.* [8], negli anni 90 del '900. Nel 1981 è stato brevettato il primo sistema di distribuzione meccanizzato dello *slurry ice* nelle cassette di pesce [9]. A questo proposito Ma *et al.* [10], nel 2011, presentano una review relativa ai brevetti depositati riguardo le tecnologie di produzione di questa tipologia di ghiaccio.

Oggi la letteratura scientifica relativa all'uso dello *slurry ice* per la conservazione di prodotti ittici è molto vasta riguardo sia ad impianti a terra [5,11–32] che all'utilizzo di impianti di produzione installati a bordo di imbarcazioni da pesca [33–38].

Successivamente, sfruttando i ben noti effetti dell'utilizzazione dell'ozono nei processi di conservazione di queste referenze alimentari, il cui uso per applicazioni alimentari è stato approvato nel 1997 dalla *US Food and Drug Administration* (FDA) [39,40], nel 2005 è stato riportato che l'effetto positivo dell'uso di *slurry ice* può essere ampliato attraverso l'uso, contemporaneo di Ozono. Infatti, Campos et al.[12] hanno dimostrato, che addizionando l'ozono allo *slurry ice*, durante la sua produzione, si incrementano positivamente gli effetti sulle qualità sensoriali, microbiologiche e biochimiche di *Sardina pilchardus* [12].

Anche per questa tipologia innovativa di conservazione delle referenze ittiche è presente un'ampia produzione scientifica [12,13,28,30,31,41–45], tra cui sono riportate anche esperienze di impianti di produzione installati su imbarcazioni da pesca [43]. Esperienze basate sull'uso di questa tipologia innovativa di ghiaccio e ozono, su *Engraulis encrasicolus* e *S. pilchardus*, sono già state effettuate in collaborazione con la Marineria Siciliana [30].

Come ampiamente dimostrato, l'uso del ghiaccio fluido consente un raffreddamento più veloce, minori danni fisici sulla superficie del pesce, una migliore protezione per i prodotti acquatici contro l'azione dell'ossigeno, grazie alla completa copertura della superficie del pesce, e una gestione più igienica del prodotto, come conseguenza del processo di automazione della produzione del ghiaccio. Questa tecnologia di conservazione a bassa temperatura, quindi, può presentare il vantaggio di preservare le caratteristiche nutrizionali e inibire la crescita microbica ed essere considerata, per tali motivi, una tecnica potenzialmente promettente [27,28,31].

I risultati della validazione dell'uso del "Creamy Ice®", in accordo con quanto riportato da Conficoni et al., [45] di seguito riportati confermano l'utilità e l'efficacia di questa tecnologia, che consente di aumentare la shelf life dei prodotti ittici considerati.

METODOLOGIE

Campionamento

Lo studio ha riguardato le seguenti specie ittiche provenienti dalla pesca e dall'acquacoltura:

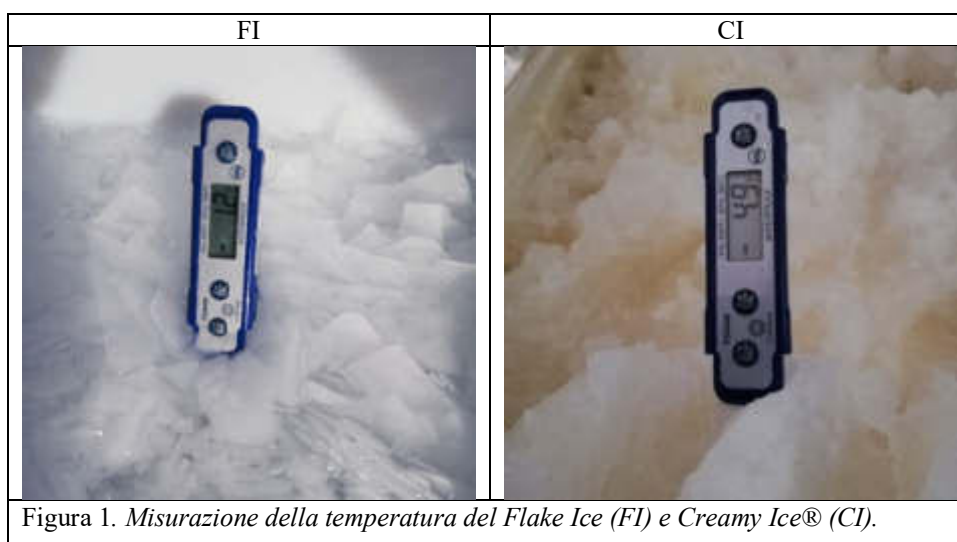
- *Sardina pilchardus*
- *Engraulis encrasicolus*
- *Sparus aurata*
- *Micropterus salmoides*
- *Parapenaeus longirostris*
- *Aristaeomorpha foliacea*

I campioni, sono stati baiati e mantenuti durante la *shelf life* con due diverse tipologie di ghiaccio: ghiaccio a scaglie (*Flake Ice*, FI) o *slurry ice*, con la denominazione commerciale registrata *Creamy Ice®* (CI).

Preparazione del ghiaccio

Il FI utilizzato era di origine commerciale, preparato con acqua dolce potabile (Figura 1).

Il CI è stato prodotto dall'impianto di Mazara del Vallo, gestito dal Distretto della Pesca e delle Crescita Blue, sotto la supervisione tecnica di personale della Medic Air Industry srl. Per la sua produzione è stata utilizzata acqua ad una salinità del 35 ‰ (Figura 1).



Dopo la produzione, entrambe le tipologie di ghiaccio (FI e CI) sono state trasportate sulle imbarcazioni, utilizzando per il FI dei contenitori coibentati, mentre per il CI è stata utilizzata una procedura suggerita dai tecnici della Medic Air. Il CI prodotto è stato stoccato in freezer portatili (Mobicoool da 38 litri, forniti dalla Medic Air) ad una temperatura di $-15,0^{\circ}\text{C}$.

Quest'ultima procedura di trasporto, tuttavia, è stata utilizzata soltanto per il primo campionamento, perché il CI così trasportato ha raggiunto temperature molto basse, che ne causavano la solidificazione e quindi anche la perdita del caratteristico aspetto cremoso e dei vantaggi dell'utilizzo di tale ghiaccio. Per tali motivi si rendeva necessario aggiungere al CI acqua e procedere ad una rottura manuale, per permetterne l'uso per la baiatura a bordo (Figura 2).



Figura 2. Preparazione del Creamy Ice® (CI) a bordo per la baiatura

Dopo il primo campionamento, anche il CI è stato trasportato in contenitori coibentati, che hanno però causato la liquefazione del CI.

Baiatura e conservazione dei campioni per la *shelf life*

Per la baiatura, sono stati utilizzati il FI e il CI in un rapporto pesce ghiaccio di 1:1.

Tutte le specie sono state baiate con FI e CI (Figura 3 e Figura 4) e mantenute durante la *shelf life* in cassette con la stessa tipologia di ghiaccio (Tabella 1).

Inoltre per le specie provenienti dall'acquacoltura è stato introdotto un terzo trattamento che ha previsto, dopo la baiatura in CI, il mantenimento in cassette con FI (CI+FI) (Tabella 1). Questa procedura, come dimostrato per altre specie allevate, presenta notevoli vantaggi sia in termini di conservabilità della qualità dei prodotti che in termini logistici [27,29].

Tabella 1. Specie target del progetto.

Specie	Data campionamento	Provenienza	Trattamenti	Campionamenti <i>shelf life</i>
<i>S. pilchardus</i>	04/11/2020	Pesca	FI e CI	Giorni 0, 1, 3, 6, 9 e 12
<i>E. encrasicolus</i>	12/11/2020	Pesca	FI e CI	Giorni 0, 1, 3, 6, 9, 12
<i>S. aurata</i>	1/12/2020	Acquacoltura	FI, CI e CI+FI	Giorni 1, 3, 6, 9, 12 e 15
<i>M. salmoides</i>	22/02/2021	Acquacoltura	FI, CI e CI+FI	Giorni 1, 3, 6, 9, 12 e 15
<i>P. longirostris</i>	19/10/2021	Pesca	FI e CI	Giorni 1, 3, 5 e 7
<i>A. foliacea</i>	19/10/2021	Pesca	FI e CI	Giorni 1, 3, 5 e 7



Figura 3. Fasi della pesca e della baiatura del gambero



Le cassette contenenti gli esemplari delle specie oggetto di studio sono state conservate, durante il periodo della valutazione della *shelf life*, in celle frigorifere a 0 °C per gli esemplari in FI e in CF+FI e a -1,5 °C per gli esemplari in CI.

Il ghiaccio (FI o CI), durante le prove di *shelf life*, veniva opportunamente rabboccato, quando necessario.

Valutazioni analitiche

La valutazione analitica dell'evoluzione della qualità organolettica e nutrizionale e della conservabilità è stata effettuata sulle specie target (Tabella 1) con le metodiche analitiche indicate in Tabella 2.

Per ciascun tempo di campionamento sono state utilizzate due repliche. Per ridurre le manipolazioni del prodotto ogni replica era rappresentata da una singola cassetta.

Tabella 2. Metodologia analitiche.

Rilevazione della temperatura	Temperatura al <i>core</i> rilevata manualmente con l'uso di un termometro digitale COMARK C 28, con sonda in acciaio (152x58x27 mm) risoluzione 0,1 °C
Analisi biometriche	Sono stati rilevati peso, lunghezza totale e lunghezza standard
Analisi sensoriale	Quality Index Method (QIM) Secondo schema specifico per la specie: analisi condotta indipendentemente da quattro tecnici dello staff di ricerca dell'istituto, assegnando a ciascun attributo dei parametri analizzati, un punteggio di demerito da 0 (migliore qualità) a 3 (qualità inferiore). Per ciascuna specie è stata riportata la somma dei punti di demerito ottenuta <i>S. pilchardus</i> [46]. <i>E. encrasicolus</i> [47]. <i>S. aurata</i> [48]. <i>P. longirostris</i> [49]. La melanosi è stata valutata su una scala a cinque punti, con 0 che rappresenta la colorazione naturale del prodotto o comunque l'assenza di decolorazione; 1 l'ingiallimento e 2, 3 e 4 si riferiscono rispettivamente a macchie nere leggere, moderate e intense [50]. <i>A. foliacea</i> [51]. La valutazione della melanosi è stata effettuata attribuendo un punteggio di demerito da 0 (assenza di macchie o di variazione del colore naturale) a 4 (presenza di numerose macchie nere) [52]. <i>M. salmoides</i> [53]. Analisi condotta indipendentemente da quattro tecnici dello staff di ricerca dell'istituto assegnando a ciascun attributo dei parametri analizzati, un punteggio da 10 (migliore qualità) a 0 (qualità inferiore). Per calcolare il punteggio è stato utilizzato il metodo dell'indice ponderato. 5 punti è stato fissato come limite di freschezza accettabile per il consumo umano.
Analisi strumentale del colore	L'analisi è stata effettuata utilizzando un colorimetro Konica Minolta (Osaka, Giappone). Le letture del colore sono state effettuate nello spazio di colore L*, a* e b* (spazio di colore CIELAB, illuminazione standard D65 e un osservatore di 2°) I parametri di colore valutati sono stati la luminosità (L*), la cromaticità rosso-verde (a*), la cromaticità giallo-blu (b*), la variazione di colore (ΔE) e la bianchezza Whiteness (WI) come raccomandato dalla Commissione internazionale per l'illuminazione [54]. La valutazione del colore è stata eseguita: Nei pesci, sul filetto, in due punti dorsali lungo la direzione cefalo-caudale. Nei gamberi, sul cefalotorace e sulla parte edibile
Lipidi totali	Estrazione e determinazione gravimetrica secondo Folch <i>et al.</i> [55]
Acidi grassi	Transesterificazione dell'estratto lipidico secondo Lepage e Roy [56] e Gascromatografia-FID
Acqua e ceneri	Metodo gravimetrico AOAC (1990) [58]
Proteine totali	Mineralizzazione e titolazione, metodo Kjeldhal [59]
Contenuto di sale	Metodo ionometrico in accordo con REGOLAMENTO (UE) N. 1169/2011 [60]
MDA	Metodo enzimatico colorimetrico all'acido tiobarbiturico secondo Botsoglou <i>et al.</i> [61]
TVBN (Azoto totale volatile basico)	Distillazione diretta sul campione omogenato, secondo protocollo specificato nel Regolamento CE n. 2074/2005. [62]
Attività dell'acqua	Determinazione strumentale igrometrica misurata con HP23-AW Rotronic (AG, Bassersdorf, Svizzera).
WHC	Metodo gravimetrico secondo Gómez-Guillén <i>et al.</i> [63]
Analisi microbiologica	Conta microbica dei microorganismi a 30 °C. Metodo: UNI EN ISO 4833-1:2013. Idrolab Consult s.a.s. accreditato (ACCREDIA). Vedi allegati 1-2 e 5-7
Analisi Istamina	Metodo cromatografico: Metodo interno MP-1 rev. 6: 2019- (Allegato 4) Centro Scaglione s.r.l.s. accreditato (ACCREDIA) Vedi allegati 3 e 4

Salatura

Allo scopo di verificare gli effetti del trattamento con *CI* su eventuali successivi processi di trasformazione, campioni di *S. pilchardus* e *E. encrasicolus* sono stati sottoposti a salatura.

I pesci sono stati posti in salamoia (NaCl 15 % rapporto 1:2 v/w) per 30'; successivamente sono stati scolati, decapitati, eviscerati e cosparsi con un piccolo quantitativo di sale (increscatura).

In seguito i pesci sono stati disposti nelle arbanelle alternando uno strato di sale e uno strato di pesci.

Il processo di maturazione è durato 11 mesi.

Dopo tale periodo è stato valutato l'istamina, il TVBN e il pH come descritto in Tabella 2.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Sardina pilchardus

Le analisi sono state condotte su esemplari di *S. pilchardus* che presentavano una lunghezza totale media di $28,64 \pm 7,6$ cm e un peso totale corporeo umido medio pari a $15,25 \pm 1,35$ g.

Temperatura

La temperatura al core rilevata negli esemplari di sardina (Figura 5) si è mantenuta costante nel corso del periodo di conservazione, sia in FI che in CI, e non ha mostrato differenze statisticamente significative tra i diversi intervalli di tempo considerati (Figura 5).

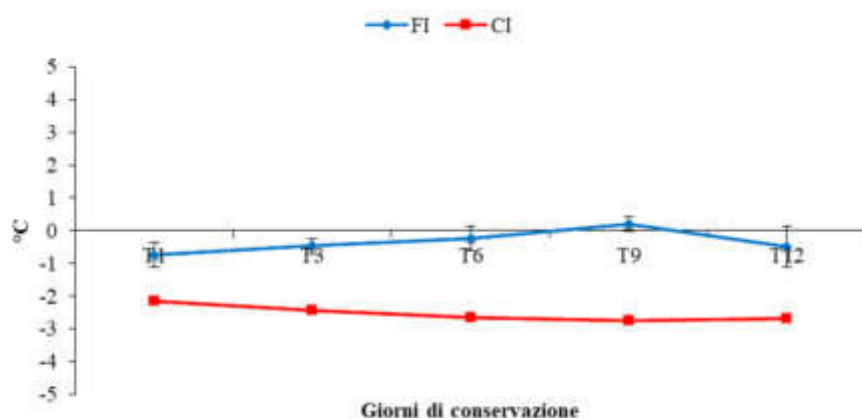


Figura 5. Temperatura al core degli esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 3. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 5

	T1	T3	T6	T9	T12
FI	A	A	A	A	A
CI	B	B	B	B	B

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

Differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) dei valori di temperatura al core sono state invece rilevate tra i pesci conservati in FI e rispetto a quelli conservati in CI lungo tutto il periodo di *shelf life* considerato (Figura 5 e Tabella 3), con valori di temperatura significativamente più bassi in CI. In particolare, il CI ha consentito di mantenere la temperatura tra $-2,1$ e $-2,7$ °C, a differenza di quanto osservato per gli esemplari conservati in FI, che hanno presentato temperature comprese tra $-0,75$ °C (T1) e $0,2$ °C (T9).

Analisi sensoriale

Durante la prova di *shelf life*, sono stati esaminati i cambiamenti degli attributi sensoriali degli esemplari di sardina, conservati con FI e CI, con il QIM, un metodo di analisi sensoriale affidabile per valutare la freschezza del pesce, utilizzando, un sistema di punteggio di demerito da 0 a 28 [46]. La Figura 6 mostra il punteggio medio di demerito assegnato dai giudici agli esemplari conservati in FI e in CI nei diversi giorni di campionamento.

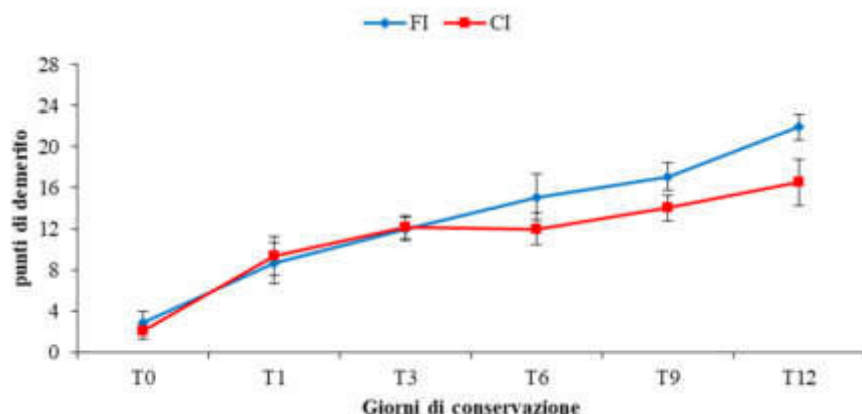


Figura 6. Valutazione sensoriale degli esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 4. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi sensoriale mostrati in Figura 6

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	b	c	d/B	d/B	e/B
CI	a	b	c	cd/A	de/A	e/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c...e) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Nel corso della valutazione della *shelf life*, agli esemplari analizzati non è mai stato attribuito un punteggio di demerito superiore a 22, indicato in letteratura come limite di accettabilità del prodotto [46]. Tuttavia, va sottolineato che i valutatori hanno assegnato ai campioni trattati con CI un punteggio totale di demerito significativamente inferiore rispetto a quello assegnato ai campioni in FI, dopo sei giorni di conservazione ($p < 0,05$) (Figura 6 e Tabella 4): questo conferma che i pesci conservati in CI hanno mantenuto, al termine del periodo di *shelf life*, caratteristiche sensoriali più tipiche del prodotto fresco.

Le variazioni più significative, per entrambe le tipologie di campioni (FI e CI), già al primo giorno di conservazione, hanno riguardato l'aspetto generale, la consistenza dell'addome, gli occhi, il colore e l'odore delle branchie. A sei giorni di conservazione, le differenze significative ($p < 0,05$) tra le due diverse tipologie di conservazione, in termini di punteggio totale di demerito, sono state determinate principalmente da attributi quali chiarezza e forma della cornea, aspetto generale, che negli esemplari in CI, hanno mostrato caratteristiche migliori. Allo stesso modo, gli esemplari in CI hanno mostrato migliori caratteristiche sensoriali dal sesto giorno di conservazione in poi (Tabella 4), con particolare riguardo all'odore ed al colore delle branchie. Tali osservazioni trovano conferma con quanto riportato in letteratura per la stessa specie [13].

I risultati dell'analisi sensoriale hanno, in definitiva, consentito di osservare come il trattamento in CI abbia consentito il mantenimento di migliori caratteristiche di qualità lungo il periodo di conservazione fino a 12 giorni, a differenza di quanto osservato per il FI.

Tali osservazioni risultano paragonabili a quanto descritto da Campos *et al.* [13] che hanno osservato che esemplari di *S. pilchardus*, conservati in ghiaccio tradizionale a scaglie, non potessero più essere considerati accettabili, già ad otto giorni di conservazione, a differenza degli esemplari mantenuti in *slurry ice* con ozono.

In Figura 7 sono mostrate le foto degli esemplari utilizzati per l'analisi sensoriale.

	FI	CI
T0		
T1		
T3		
T6		
T9		
T12		
<i>Figura 7. Esempolari di S. pilchardus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).</i>		

Analisi chimico-fisiche correlate alla shelf life

Colore

Il colore dei filetti è legato alla percezione dei consumatori ed è un parametro chiave per il grado di accettabilità sia per i prodotti ittici freschi che trasformati. Tuttavia, le informazioni su come la refrigerazione influenzi il colore dei filetti sono ancora limitate [64,65].

In Figura 8 sono riportati i risultati dell'analisi strumentale del colore dei filetti di *S. pilchardus*

Tabella 5. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 8

		L*				
	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	d	bc	ab	a/A	a/A	c/A
CI	b	a	a	a/B	a/B	b/B
		a*				
	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	b	b	b	c	a
CI	a	b	b	b	b	a
		b*				
	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	a	a	a	b	c/B
CI	a	a	a	a	a	b/A
		ΔE				
	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	bc	bc	c/B	c/B	b
CI	a	c	bc	bc/A	bc/A	b

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

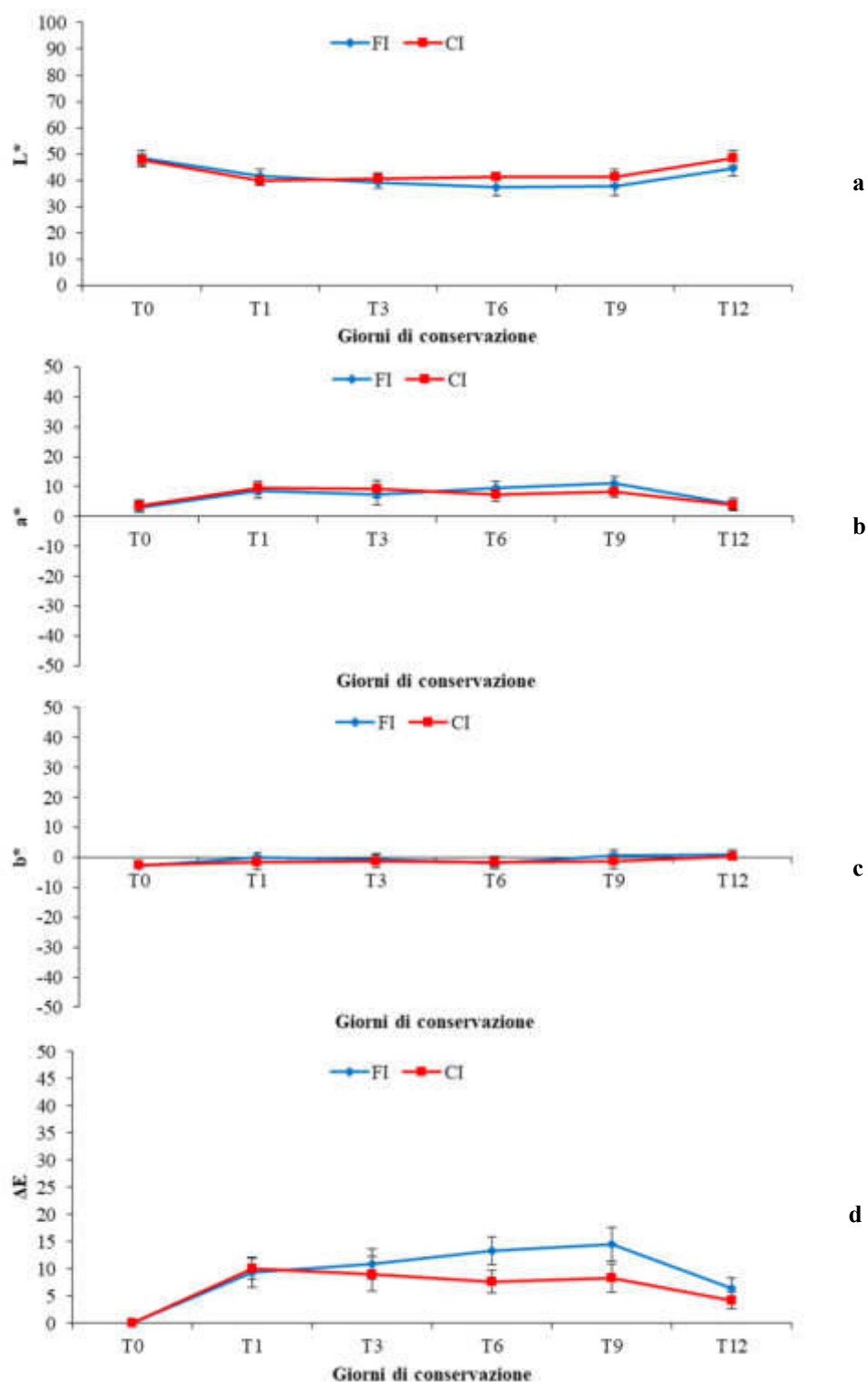


Figura 8. Analisi del colore dei filetti di esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del parametro L^* ; b) Andamento dei valori del parametro a^* ; c) Andamento dei valori del parametro b^* ; d) Andamento dei valori del parametro ΔE .

I valori di *Lightness* (L^*) sono stati significativamente ($p < 0,05$) più bassi dopo 6 giorni di conservazione nei campioni conservati in FI rispetto ai campioni mantenuti in CI (Figura 8; Tabella 5). Questo dato può essere correlato al maggior contenuto di acqua (dati non mostrati) nei campioni in CI rispetto agli esemplari in FI (dati non mostrati) che contribuisce alla creazione di fenomeni di rifrazione nel filetto e la percezione di un colore più chiaro [66]. Allo stesso modo l'aumento dei valori di *Lightness* (L^*), nei campioni conservati in CI, può essere determinato dallo stato di congelamento dei filetti; come osservato in altre specie ittiche, dove il congelamento dei filetti determina un incremento di L^* [67–69].

Per quanto riguarda il parametro *redness* (a^*) (valori positivi per colore tendente al rosso e negativi per colori tendenti al verde) i risultati sono mostrati in Figura 8b. Differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) sono state osservate per entrambi i trattamenti con incrementi rispetto al T0 dopo un giorno di conservazione e lungo tutto il periodo di conservazione fino al T9 ($p < 0,05$) (Tabella 5). Un decremento di a^* è stato osservato al T12 in entrambi i trattamenti, in cui i valori di a^* differivano in modo statisticamente significativo rispetto agli intervalli di tempo precedenti ($p < 0,05$) tranne che dal T0 (Tabella 5). Questo andamento, in entrambe le tipologie di conservazione in ghiaccio, potrebbe essere correlato inizialmente all'imbrunimento del muscolo, causato dall'ossidazione della mioglobina, con conseguente formazione di metamioglobina, mentre, successivamente, come osservato anche in letteratura, la conservazione prolungata in ghiaccio può aver determinato uno scolorimento della carne, attribuito principalmente alla denaturazione della metamioglobina [70].

I valori di *yellowness* (b^*), (valori positivi per colore tendente al giallo e negativi per colori tendenti al blu) sono mostrati in Figura 8c. Sono stati osservati valori significativamente più alti nei campioni in FI rispetto al CI al T12 ($p < 0,05$) (Figura 8c; Tabella 5) e ciò ha evidenziato una maggiore tendenza all'ingiallimento dei filetti degli esemplari conservati in ghiaccio a scaglie, come osservato precedentemente da altri autori sulla stessa specie [71]. In letteratura è stato dimostrato, su altre specie che l'aumento della b^* è associato a reazioni di deterioramento e alla formazione prodotti di ossidazione lipidica [72]. Questa tendenza, unitamente a una maggiore opacità dei campioni in FI, induce a ritenere che, nella fase finale della conservazione in ghiaccio, il trattamento in CI abbia determinato una minore perdita di qualità del prodotto, in termini di colore e aspetto dei filetti.

Tessitura

La valutazione della tessitura delle carni esercita un ruolo fondamentale nella determinazione della qualità dei prodotti ittici [73]. Diversi fattori, come tempo e temperatura di conservazione, congelamento, refrigerazione, conservazione in ghiaccio, ecc., possono influenzare la consistenza delle carni dei prodotti ittici [73]. I risultati dell'analisi della tessitura degli esemplari di *S. pilchardus*, effettuata con la valutazione dei parametri modulo di Young e *Hardness*, è mostrata in Figura 9.

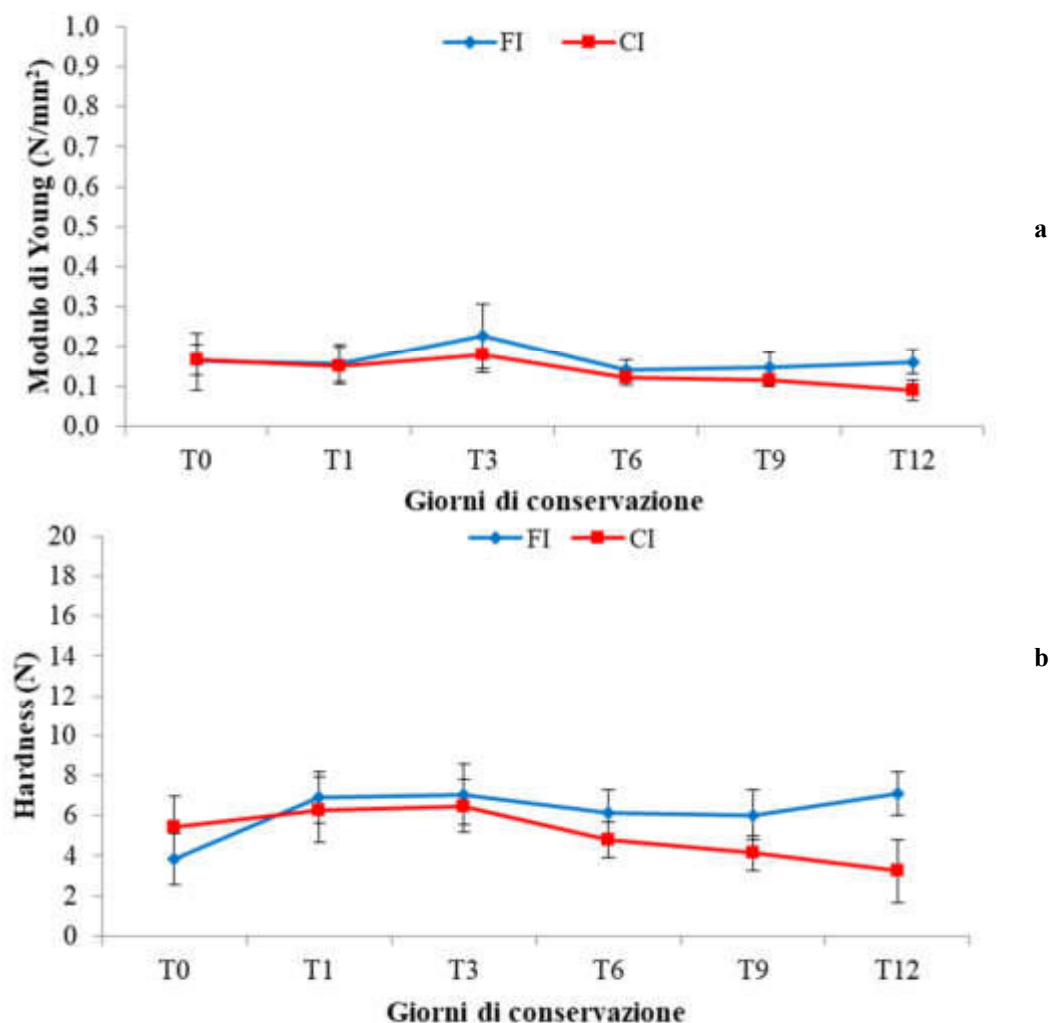


Figura 9. Analisi della tessitura dei filetti di esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.

Tabella 6. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della tessitura mostrati in Figura 9

Modulo di Young						
	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI						B
CI	b	b	b	b	b	a/A
Hardness						
	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	b	b	b	b/B	b/B
CI	bc	c	c	bc	b/A	a/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

La valutazione analitica ha consentito di osservare come il modulo di Young (valore che descrive la deformabilità) si riduca durante il periodo di *shelf life*, nei campioni CI (Figura 9). Infatti è stata osservata una differenza statisticamente significativa ($p < 0,05$) tra i campioni analizzati subito dopo la pesca (T0) e quelli analizzati dopo 12 giorni di conservazione (T12) (Tabella 6), con valori più bassi al T12 rispetto al T0 (Figura 9). Tale riduzione indica una minore compattezza del tessuto muscolare al termine del periodo di *shelf life*, ed è indicativa di un incremento dei processi degradativi

strutturali [74]. Questo risultato potrebbe essere conseguente, come discusso successivamente a proposito della variazione dei valori di WHC e come osservato da altri autori in altre specie ittiche [66,75], collegato ai fenomeni di congelamento dei tessuti cui sono andate incontro le sardine conservate in CI, ad una temperatura inferiore al punto di congelamento (Figura 5).

Non sono state osservate differenze significative nel corso della valutazione della *shelf life* nei campioni mantenuti in FI (Tabella 6).

Per quanto riguarda i valori di *Hardness* nei campioni in FI tende ad aumentare lungo il periodo di *shelf life*, con differenze statisticamente significative rispetto al T1 ($p < 0,05$) (Tabella 6). È stato osservato invece un decremento significativo dei valori di *Hardness* nei campioni in CI con valori significativamente inferiori al T12 rispetto al T0. Differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) sono state inoltre osservate tra i due diversi trattamenti alla fine del periodo di *shelf life* in termini sia di compattezza (Modulo di Young) che di durezza (*Hardness*) dei filetti, con valori significativamente più alti nei campioni conservati in FI (Tabella 6).

pH

I valori di pH dei filetti di esemplari di *S. pilchardus* sono mostrati in Figura 10. Il pH è incrementato significativamente ($p < 0,05$) (Figura 10 e Tabella 7) durante il periodo di conservazione in FI, in accordo con quanto mostrato in letteratura [71].

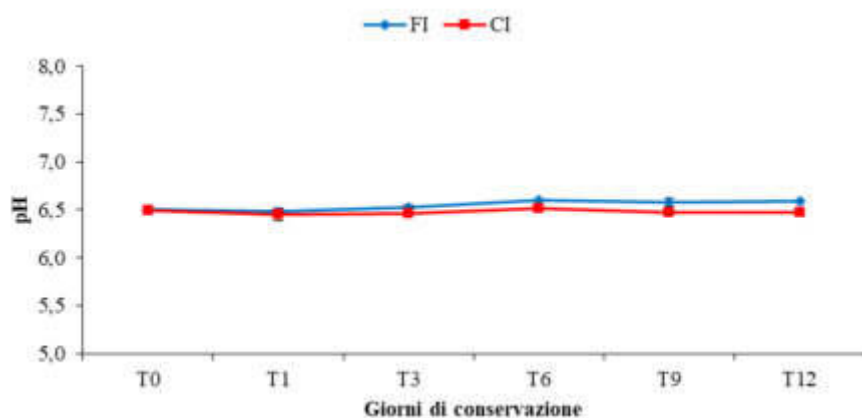


Figura 10. Valori di pH dei filetti di esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 7. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 10

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	ab	a	bc/A	d/B	cd/B	d/B
CI	ab	a	a/B	b/A	a/A	a/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

A differenza di quanto osservato per il trattamento tradizionale (FI), i campioni conservati in CI non hanno mostrato un incremento significativo del pH durante il periodo di conservazione (Tabella 7). Il pH nei campioni mantenuti in CI è stato significativamente più basso rispetto ai campioni mantenuti in FI ($p < 0,05$) (Figura 10) evidenziando un probabile effetto inibente del ghiaccio fluido sull'accumulo di composti ammoniacali basici e quindi sulla crescita microbica [13].

Water Holding Capacity (WHC)

Le analisi di laboratorio condotte sugli esemplari di *S. pilchardus*, per la valutazione della WHC, nel corso della prova di *shelf life*, in FI e in CI, sono mostrati in Figura 11.

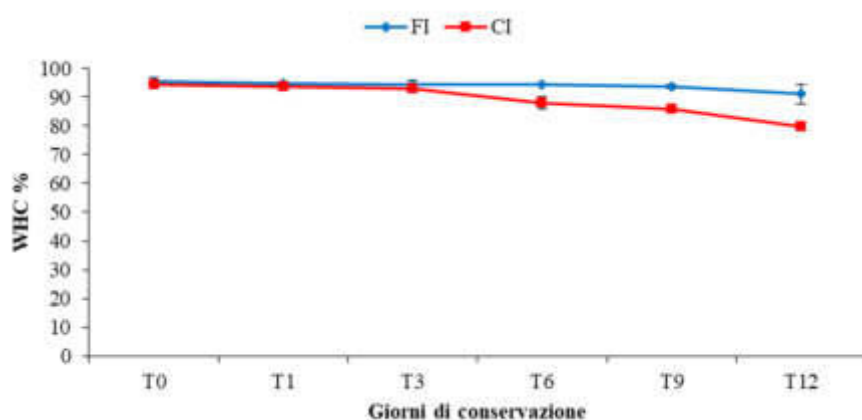


Figura 11. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) dei filetti di esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 8. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati di Water Holding Capacity mostrati in Figura 11

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI				B	B	B
CI	d	d	d	c/A	b/A	a/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

I campioni mantenuti in FI hanno mostrato un andamento costante della WHC (Figura 11) con valori che non hanno presentato differenze statisticamente significative nel corso dei 12 giorni di conservazione in ghiaccio (Tabella 8). Al contrario, nei campioni mantenuti in CI la WHC ha mostrato un decremento significativo ($p < 0,05$). Allo stesso modo, differenze significative sono state osservate tra i due diversi trattamenti a partire dal T6 con valori di WHC dei campioni FI significativamente ($p < 0,05$) più elevati (Figura 11 e Tabella 8).

Queste osservazioni inoltre, sono confermate dall'analisi della tessitura che ha mostrato una riduzione della compattezza e durezza del tessuto negli esemplari mantenuti in CI al termine della *shelf life* (Figura 9). A conferma di queste osservazioni, in letteratura viene riportato come la formazione e la distribuzione irregolare di grandi cristalli di ghiaccio in prodotti ittici sottoposti a congelamento determini danni nella struttura cellulare e nei tessuti che si traducono ad esempio nella riduzione della WHC in seguito allo scongelamento, la disidratazione, il rammollimento dei tessuti e denaturazione delle proteine [66,75].

Contenuto di Sodio

I risultati delle analisi del contenuto di sodio dei filetti degli esemplari di *S. pilchardus* oggetto di studio, sono mostrati in Figura 12.

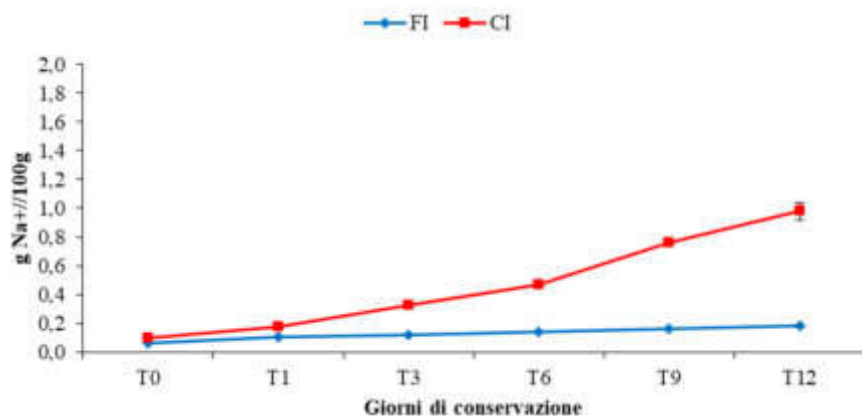


Figura 12. Contenuto di sodio (g Na⁺/100g) dei filetti di esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 9. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del Sodio mostrati in Figura 12

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a/A	b/A	b/A	c/A	d/A	d/A
CI	a/B	b/B	c/B	d/B	e/B	f/B

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*. Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Nei campioni mantenuti in CI, il contenuto di sodio è aumentato significativamente ($p < 0,05$) durante il periodo di conservazione (Tabella 9) con valori pari a $0,1 \pm 0,00$ g Na⁺/100 g al T0 e pari a $0,98 \pm 0,06$ g Na⁺/100 g al T12 (Figura 12). Lo stesso andamento è stato osservato nei campioni conservati in FI, con un incremento del contenuto di sodio significativo ($p < 0,05$) durante il periodo di conservazione, ma con valori significativamente più bassi rispetto al CI ($p < 0,05$) rispetto ai valori rilevati nei campioni mantenuti in CI (Figura 12). Tali osservazioni sono paragonabili con quanto riportato in letteratura [76–80]. Allo stesso modo, un aumento del contenuto di sodio è stato osservato in esemplari di *Sardinella brasiliensis* immersi in acqua di mare refrigerata, utilizzata come sistema di refrigerazione a bordo, con una evidente correlazione tra il tempo di immersione degli esemplari nel sistema di refrigerazione, contenente cloruro di sodio, e il contenuto di sodio stesso [78].

Attività dell'acqua (aw)

I risultati relativi alla valutazione del parametro attività dell'acqua sono mostrati in (Figura 13).

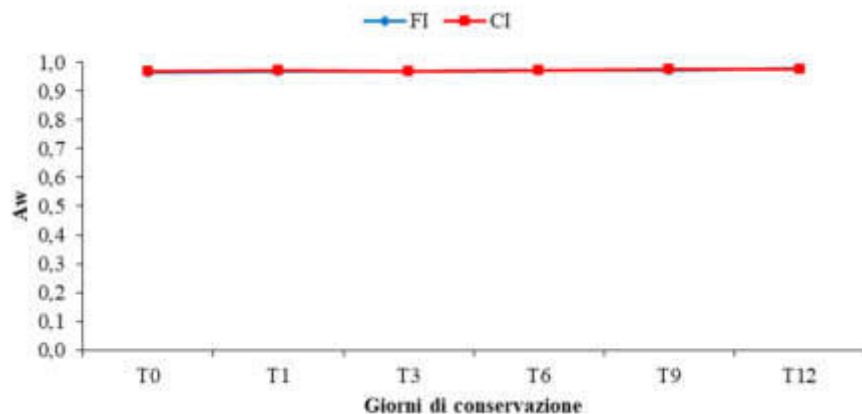


Figura 13. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) dei filetti di esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 10. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'aw mostrati in Figura 13

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	a	a	ab	b	c/B
CI	a	bc	b	bc	c	c/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

È stato osservato un incremento significativo ($p < 0,05$) dell'attività dell'acqua rispetto al T0 durante il periodo di conservazione e al termine della prova di *shelf life* sia per gli esemplari conservati in FI che in CI (Figura 13). Inoltre, differenze significative ($p < 0,05$) sono state osservate dopo 12 giorni di conservazione, tra i campioni mantenuti in FI e i campioni mantenuti in CI (Tabella 10).

Tale parametro, indicativo della disponibilità di acqua di un alimento durante la sua conservazione, viene ormai considerato il principale responsabile della modulazione della risposta microbica, influenzando anche la tipologia di microrganismi che possono svilupparsi negli alimenti [81,82].

Pertanto i dati ottenuti, alla luce delle precedenti considerazioni, inducono a ritenere che nella fase finale della *shelf life* la conservazione in CI ha avuto un effetto positivo nel controllo di tale parametro correlato con la crescita batterica e, per tali motivi, utilizzato in molti casi, come strumento per valutare la qualità e la sicurezza di un alimento [83].

TVBN

I risultati relativi alla valutazione del TVBN sono mostrati in Figura 14.

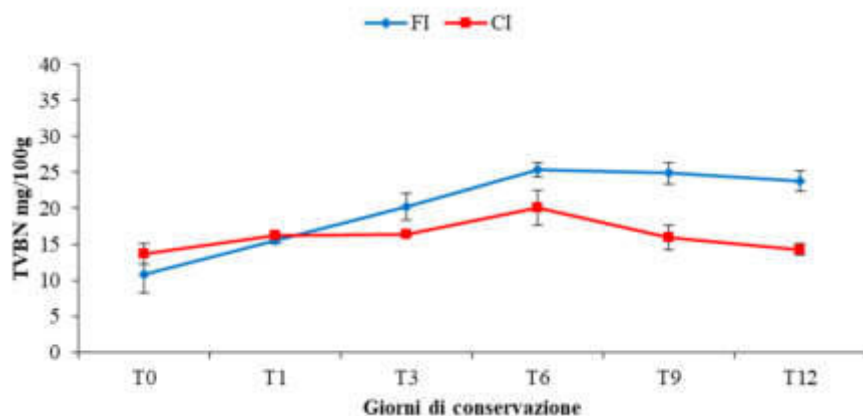


Figura 14. Andamento dei valori di TVBN dei filetti di esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 11. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 14.

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a/	b/B	c/B	d/B	e/B	e/B
CI	a/	b/A	c/A	cd/A	d/A	d/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c...e) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Le analisi condotte hanno consentito di osservare come i valori di TVBN si siano mantenuti al di sotto del limite di accettabilità di 35 mg N/100 g [62] in entrambe le tipologie di ghiaccio (Figura 14). Differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) sono state osservate durante il periodo di conservazione sia in FI che in CI (Tabella 11), con i primi che hanno mostrato valori di TVBN significativamente più alti ($p < 0,05$) rispetto ai valori osservati nei secondi, già dopo un giorno di conservazione (Figura 14). Tale osservazione consente di affermare che la tipologia di ghiaccio fluido possa aver rallentato in modo significativo la formazione di TVBN.

MDA

In Figura 15 è possibile osservare i risultati delle analisi del contenuto di MDA (mg/kg).

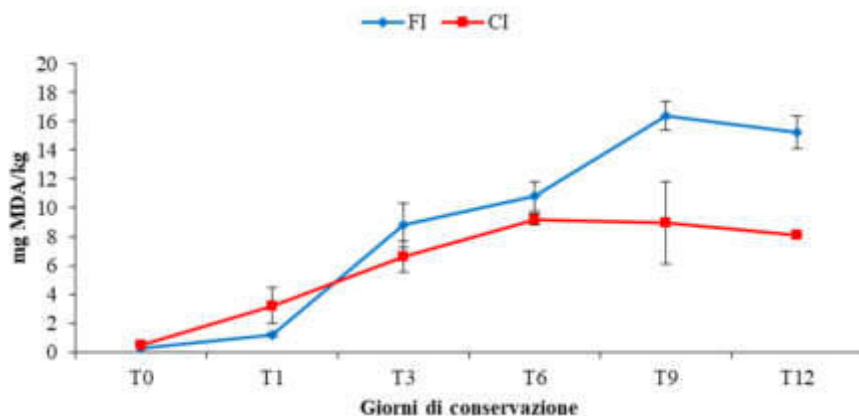


Figura 15. Andamento dei valori di MDA dei filetti di esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 12. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 15

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	b	c	c	d/B	d/B
CI	a	b	c	d	cd/A	cd/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

I valori di MDA sono aumentati significativamente ($p < 0,05$) sia nei campioni in FI che in CI, nel corso della *shelf life* (Tabella 12 e Figura 15). Inoltre, sono state rilevate differenze statisticamente significative nel contenuto di MDA, tra i campioni in FI e quelli in CI ($p < 0,05$) dopo nove giorni di conservazione, con valori più elevati nei primi rispetto ai secondi (Tabella 12).

L'incremento del contenuto di MDA nei prodotti ittici, nel corso della loro conservazione, indica la formazione di prodotti di ossidazione lipidica secondaria, mentre la successiva diminuzione può indicare un processo di degradazione della malondialdeide (MDA) con la formazione di prodotti di degradazione terziaria [84].

Nunes *et al.* [85] indicano come limite di accettabilità, per il pesce conservato in ghiaccio, valori di 5-8 mg MDA/kg di prodotto. Il valore di MDA dei campioni conservati in FI ha superato il valore di 8 mg MDA/kg già al terzo giorno di conservazione, ciò non è invece accaduto per i campioni conservati in CI. Tale osservazione induce a ritenere che l'uso del CI sia stato efficace nel mantenere più bassi i valori di MDA nella sardina, contribuendo a ritardare la perossidazione lipidica e determinando quindi una minore concentrazione di MDA.

Analisi microbiologiche

Le analisi microbiologiche sono state condotte dal Laboratorio Idrolab Consult s.a.s, a cui venivano consegnati, da parte di operatori della Bio&Tec Soc. Coop. arl, durante la valutazione della *shelf life* i campioni di pesce opportunamente prelevati e conservati. I risultati delle valutazioni microbiologiche, condotte con metodologie accreditate, sono riportati nel rapporto di prova corrispondente all'allegato 1.

L'evoluzione della crescita microbica nel muscolo di *S. pilchardus* lungo la *shelf life* in FI e CI è mostrata in Figura 16.

Dalle analisi microbiologiche si evidenzia una crescita microbica che ha presentato differenze statisticamente significative lungo il periodo di *shelf life*, sia negli esemplari conservati in FI che in quelli in CI ($p < 0,05$) (Figura 16 e Tabella 13).

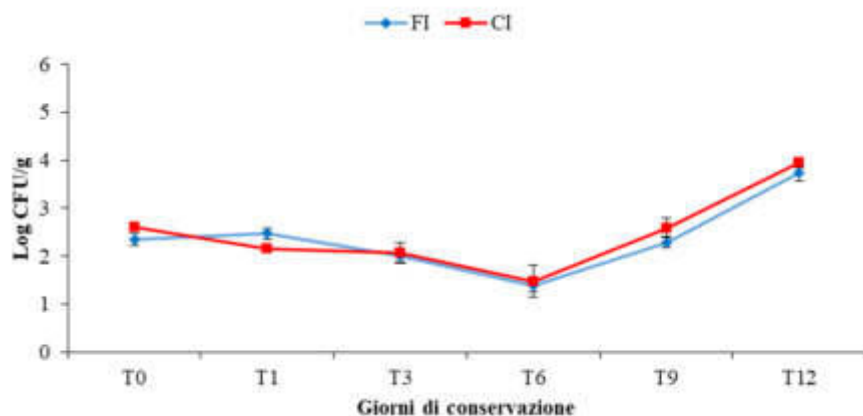


Figura 16. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g degli esemplari di *S. pilchardus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). (Allegato 1: Esame microbiologico *S. pilchardus*: Conta dei microorganismi a 30 °C).

Tabella 13. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologiche mostrati in Figura 16

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	b	b	b	a	b	c
CI	c	b	b	a	c	d

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Non sono state osservate differenze significative tra i due trattamenti. Le conte microbiche non hanno superato i 4 log CFU/g (Figura 16) fino a 12 giorni di conservazione, mostrando per entrambe le tipologie di ghiaccio, il mantenimento lungo il periodo di *shelf life* di una qualità accettabile del pesce. Difatti, tale valore relativo ai batteri mesofili, è risultato essere inferiore al limite di accettabilità indicato in letteratura per il pesce fresco [86]. Per quanto riguarda i batteri mesofili, la cui crescita è stata analizzata nel presente lavoro, altri autori, per la stessa specie [13] hanno messo in evidenza un effetto significativo del ghiaccio fluido, combinato con ozono, solo dopo 15 giorni di conservazione. I dati in letteratura confermano, quindi, quanto osservato nel corso della nostra attività analitica: fino a 12 giorni di conservazione in regime refrigerato, non è stata evidenziata alcuna differenza significativa tra i due trattamenti in ghiaccio.

Conclusione

I campioni di *S. pilchardus* sottoposti a trattamento con CI hanno mantenuto caratteristiche sensoriali più tipiche del prodotto fresco rispetto a quelli in FI. In modo analogo, la valutazione strumentale del colore ha messo in evidenza come al termine del periodo di conservazione in ghiaccio, i filetti mantenuti in FI presentavano valori di b^* (tendenza al giallo) significativamente maggiori rispetto a quelli in CI, evidenziando come nei primi possano essersi verificati processi di ossidazione lipidica con conseguente ingiallimento del filetto, che non è stato osservato, invece, nei campioni in CI, come confermato anche dall'andamento dei valori di MDA. Infatti, il trattamento in CI ha avuto un effetto positivo nel prevenire la formazione di prodotti di degradazione lipidica secondaria, come mostrato dal contenuto di MDA, nel periodo finale di conservazione in ghiaccio.

Tuttavia, la valutazione strumentale della luminosità dei filetti ha messo in evidenza che il trattamento con CI ha determinato differenze significative con i campioni conservati in FI che potrebbero dipendere dal congelamento degli esemplari conservati con CI [67–69].

Inoltre, una conseguenza del congelamento del prodotto nel trattamento in CI potrebbero essere i risultati osservati relativamente all'analisi della tessitura e della WHC. Questi hanno, infatti, messo in evidenza la riduzione della compattezza (Modulo di Young) e della durezza (*Hardness*) del filetto

e una riduzione della WHC, a differenza di quanto visto per i campioni in FI. Infatti, in letteratura [66,75] viene riportato come la formazione e la distribuzione irregolare di cristalli di ghiaccio in prodotti ittici sottoposti a congelamento determini danni irreversibili della struttura cellulare e dei tessuti portando a una riduzione della qualità dei prodotti, rappresentati ad esempio dalla riduzione della WHC in seguito allo scongelamento, la disidratazione, il rammollimento dei tessuti e denaturazione delle proteine.

I risultati ottenuti in termini di contenuto di TVBN e valori di pH, lungo il periodo di *shelf life* considerato, inducono a ritenere che la refrigerazione e la conservazione delle sardine in CI potrebbe avere rallentato la formazione di TVBN e determinato, quindi, valori di pH inferiori, rispetto alla conservazione in FI. È possibile quindi ipotizzare un effetto inibente del trattamento CI sulla proliferazione microbica e quindi sulla formazione di composti alcalinizzanti. Va comunque sottolineato come, in entrambi i trattamenti, il contenuto di TVBN e la conta microbica si siano sempre mantenuti al di sotto dei limiti di accettabilità normativi [62,86].

In conclusione è possibile affermare che il trattamento in ghiaccio innovativo ha mostrato effetti positivi sul mantenimento della qualità e della freschezza della sardina, prodotto di grande rilevanza dal punto di vista commerciale. Tuttavia, dovrebbe essere condotta un'ottimizzazione del processo di produzione a temperature leggermente più elevate, in considerazione del fatto che il prodotto in CI si presentava congelato, con conseguenti effetti negativi su alcune caratteristiche di qualità. A ciò si aggiunge che il trattamento in CI ha determinato un aumento del contenuto di sodio nel periodo di *shelf life*, dovuto, come anche evidenziato in letteratura [76–80], alla presenza di NaCl, con lo scopo di abbassare il punto di congelamento.

Engraulis encrasicolus

Gli esemplari di *E. encrasicolus* analizzati presentavano un peso corporeo umido medio di $19,39 \pm 0,71$ g e una lunghezza totale pari a $14,52 \pm 0,02$ cm.

Temperatura

Nel corso dello studio è stata monitorata la temperatura al core degli esemplari di *E. encrasicolus*, durante i giorni di conservazione in FI e in CI e i valori rilevati sono mostrati in Figura 17

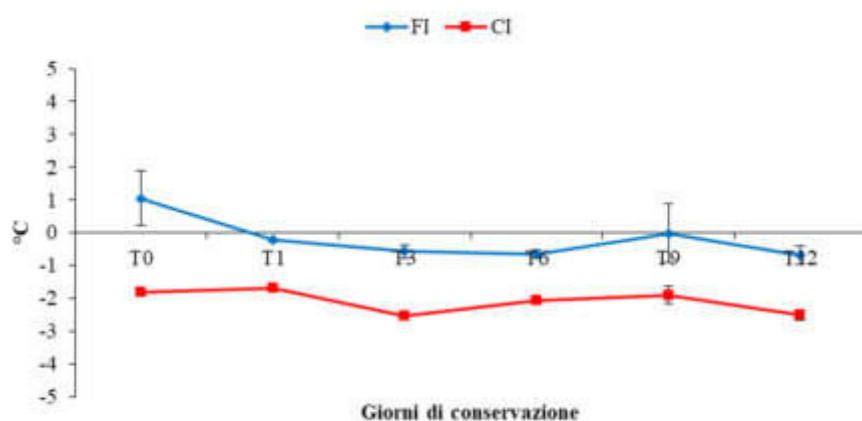


Figura 17. Temperatura al core degli esemplari di *E. encrasicolus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI)

Tabella 14. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 17

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	b/B	a/B	a/B	a/B	a/B	a/B
CI	c/A	c/A	b/A	a/A	a/A	a/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

È possibile osservare come gli esemplari posti in CI abbiano mantenuto temperature al core significativamente più basse ($p < 0,05$) (Figura 17 e Tabella 14) rispetto agli esemplari posti in FI, in accordo con quanto osservato in letteratura anche per altre specie ittiche [12].

Analisi sensoriale

Durante la prova di *shelf life*, sono stati esaminati i cambiamenti degli attributi sensoriali degli esemplari di acciuga, conservati in FI e CI con il QIM, un metodo di analisi sensoriale affidabile per valutare la freschezza del pesce, utilizzando, un sistema di punteggio di demerito da 0 a 23 [47]. L'utilizzo di almeno tre descrittori per ciascun attributo valutato ha consentito di osservare che le variazioni più significative, che hanno determinato il punteggio di demerito, fino a tre giorni di conservazione, hanno riguardato l'aspetto generale, gli occhi, il colore e l'odore delle branchie, per entrambe le tipologie di conservazione. Successivamente sono stati osservati rilevanti cambiamenti nel tessuto muscolare e nella consistenza dell'addome.

I valutatori hanno assegnato agli esemplari conservati in CI un punteggio di demerito significativamente maggiore ($p < 0,05$) negli esemplari analizzati dopo un giorno di conservazione (Figura 18 e Tabella 15).

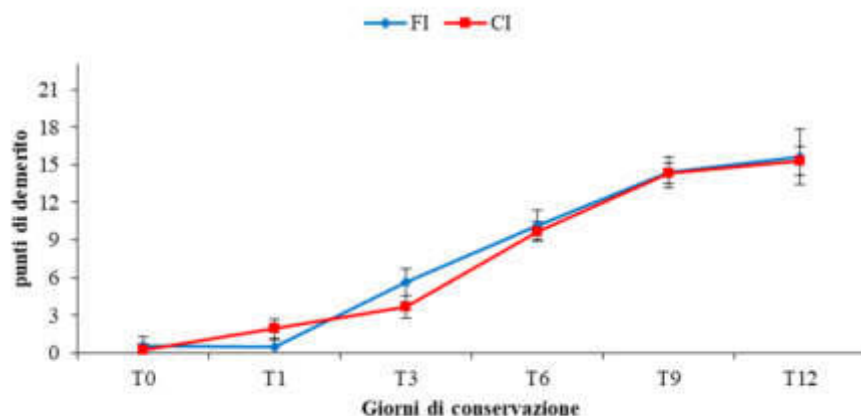


Figura 18. Valutazione sensoriale degli esemplari di *E. encrasicolus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI)

Tabella 15. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi sensoriale mostrati in Figura 18

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	a/A	b/B	c	d	d
CI	a	b/B	c/A	d	e	f

Le lettere diverse minuscole (a, b, c...f) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione

Al terzo giorno di conservazione è stata invece osservata una inversione di tendenza: gli esemplari conservati in FI hanno infatti mostrato un decremento delle caratteristiche più tipiche di freschezza, totalizzando un punteggio di demerito significativamente superiore ($p < 0,05$) agli esemplari conservati in CI (Figura 18) (Tabella 15).

I dati ottenuti, in linea con quanto suggerito in letteratura [87] relativamente al QIM, confermano che, per entrambi i tipi di conservazione in ghiaccio, gli esemplari di acciuga hanno mantenuto lo stato di freschezza fino al terzo giorno di conservazione (con un totale di punti di demerito inferiore a 10) mantenendosi in buono stato fino a 6 giorni (Figura 18). Dopo 9 giorni di conservazione, sia i campioni mantenuti in FI che gli esemplari mantenuti in CI hanno superato il limite di accettabilità suggerito in letteratura ($QI \geq 0,51$) [47] corrispondente al rapporto tra il totale dei punti di demerito assegnati (Figura 18) e il punteggio massimo di demerito che può essere assegnato (23). Tuttavia le differenze significative osservate tra i due diversi tipi di trattamento (Tabella 15), riguardanti in particolare i campioni mantenuti in CI, che presentavano caratteristiche sensoriali migliori (Figura 18) dopo tre giorni di conservazione, sono in accordo con quanto osservato per altri prodotti ittici con la conservazione in ghiaccio fluido [14].

In Figura 19 sono mostrate le foto degli esemplari utilizzati per l'analisi sensoriale. Come è possibile osservare, gli esemplari di *E. encrasicolus*, in particolare a partire dal sesto giorno di conservazione, si presentavano con abrasioni superiori al 95% del totale degli esemplari analizzati (Figura 18)

	FI	CI
T0		
T1		
T3		
T6		
T9		
T12		

Figura 19. Esempari di E encrasicolus durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

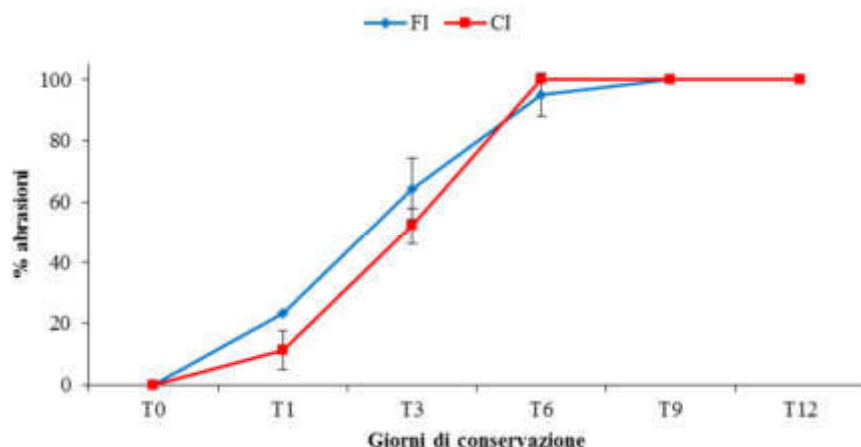


Figura 20. Percentuale (%) delle abrasioni rilevate sugli esemplari di *E. encrasicholus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI)

Analisi chimico-fisiche correlate alla shelf life

Colore

Per quanto concerne l'analisi del colore, i cui risultati sono mostrati in Figura 21, differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) sono state osservate in termini di luminosità (L^*) tra i due trattamenti nel periodo iniziale di conservazione (T0 e T1) con valori più bassi nel CI e più alti nel FI mentre nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata successivamente (Tabella 16 e Figura 21).

Tabella 16. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 21

		L^*					
		T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI		B	B				
CI		A	A				
		a^*					
		T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI			A			A	
CI		b	b/B	ab	a	b/B	b
		ΔE					
		T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI		a	b	b	b	b	b
CI		a	b	b	b	b	b

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la shelf life.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione

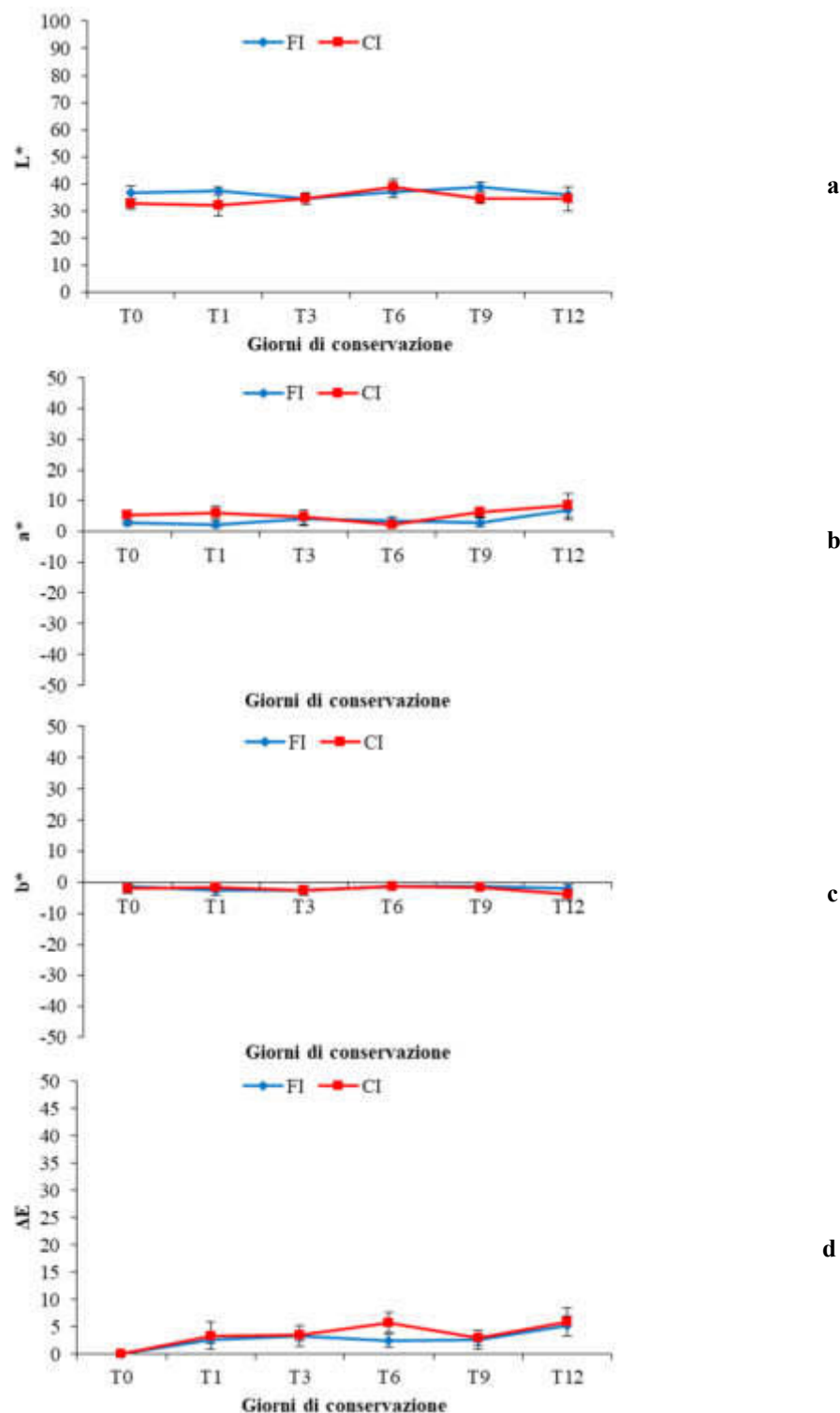


Figura 21. Analisi del colore dei filetti di esemplari di *E. encrasicholus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del parametro L^* ; b) Andamento dei valori del parametro a^* ; c) Andamento dei valori del parametro b^* ; d) Andamento dei valori del parametro ΔE

Non sono state osservate differenze significative in entrambe le tipologie di conservazione durante la valutazione della *shelf life* (Tabella 16).

Relativamente al parametro a^* , che nei valori positivi indica l'intensità del colore rosso, nei campioni CI sono stati registrati i valori più elevati, con differenze statisticamente significative tra i due trattamenti al T1 e al T9 ($p < 0,05$) (Tabella 16). Questi dati sono in accordo con quanto osservato in

altre specie ittiche [65] relativamente a valori di a^* più elevati in campioni conservati in ghiaccio fluido che presentano quindi una maggiore intensità di rosso. Inoltre, durante la *shelf life* i valori di a^* per i campioni FI non hanno mostrato differenze significative (Figura 21). Nei campioni CI soltanto a sei giorni di conservazione è stata osservata una riduzione di a^* statisticamente significativa rispetto agli intervalli di tempo precedenti ($p < 0,05$) (Tabella 16).

Infine, nessuna differenza statisticamente significativa dei valori relativi al parametro b^* (valori positivi intensità di giallo e valori negativi intensità di blu) è stata osservata tra i due trattamenti e lungo il periodo di conservazione, per quanto riguarda entrambi i trattamenti (Tabella 16); Questo dato consente di ipotizzare che non si sia verificato alcun deterioramento del prodotto in termini di qualità dovuto al processo di ossidazione lipidica, di cui l'incremento di b^* è indicativo [72].

In considerazione dei risultati ottenuti, anche alla luce dell'assenza di differenze del parametro ΔE , che indica la variazione totale del colore dei filetti analizzati, è possibile affermare quanto già riscontrato in letteratura [65], ovvero che la scelta dei diversi regimi di refrigerazione non produce differenze significative nel colore dei filetti

Tessitura

I dati analitici relativi alla tessitura degli esemplari di *E. encrasicolus*, valutata attraverso lo studio di due parametri, modulo di Young o modulo di deformabilità e *Hardness* o durezza del tessuto, sono mostrati in Figura 22.

Tabella 17. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della tessitura mostrati in Figura 22

Modulo di Young						
	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	ab	c	bc	c	bc
CI	a	ab	cd	bd	c	cd
Hardness						
	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	acd	b	cd	b	bd
CI	a	ab	bc	bc	c	c

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

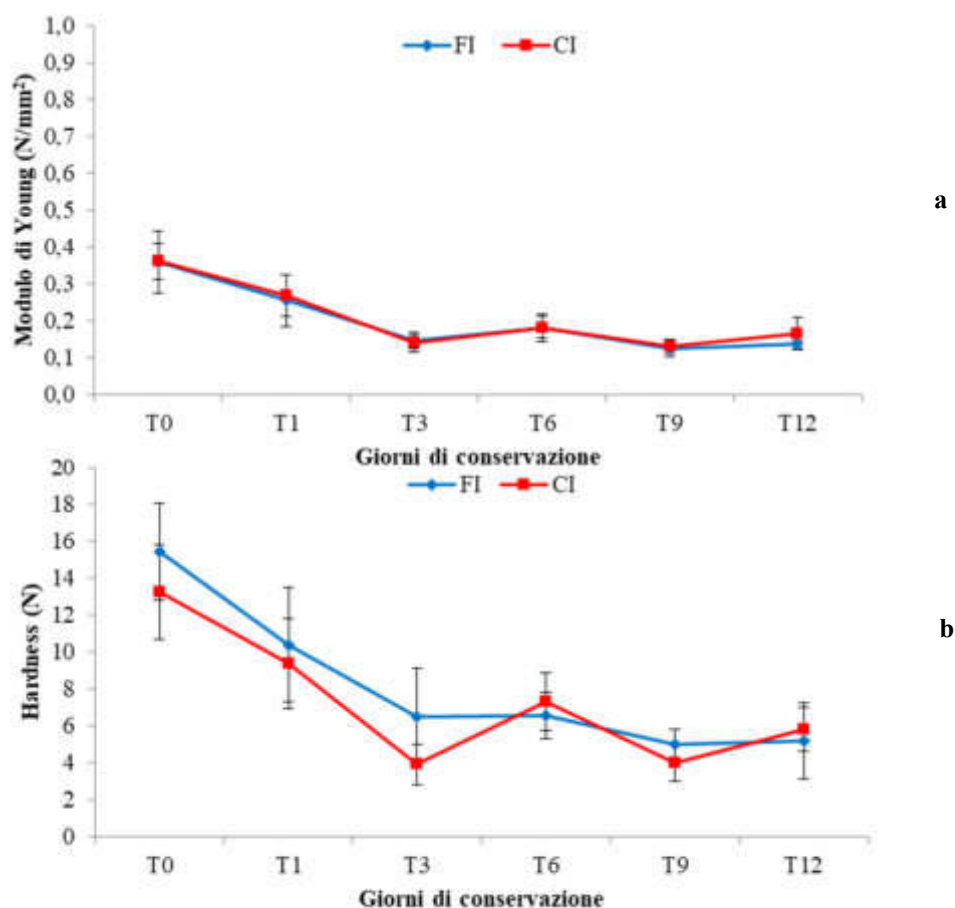


Figura 22. Analisi della tessitura dei filetti di esemplari di *E. encrasicolus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.

I valori relativi al modulo di Young non hanno mostrato differenze statisticamente significative tra i due trattamenti mostrando quindi che le due diverse metodiche di conservazione in ghiaccio non hanno influito sulla deformabilità e quindi sulla compattezza del tessuto muscolare. Inoltre i dati analitici hanno mostrato un andamento simile nei due diversi trattamenti nel corso del periodo di *shelf life* (Tabella 17 e Figura 22). Infatti sia nei campioni in CI che quelli in FI i valori del Modulo di Young sono diminuiti dopo tre giorni di conservazione, differendo in modo statisticamente significativo dal tempo 0 ($p < 0,05$) (Tabella 17 e Figura 22) e si sono mantenuti costanti in seguito, non mostrando differenze statisticamente significative in entrambi i trattamenti (Tabella 17 e Figura 22).

Anche per quanto riguarda i valori di *Hardness* non sono state osservate differenze statisticamente significative tra campioni mantenuti in FI rispetto a quelli in CI (Tabella 17). Tale parametro in entrambi i trattamenti tende a diminuire lungo il periodo di *shelf life* con differenze statisticamente significative dopo il T3 rispetto al T0 ($p < 0,05$) (Figura 22 e Tabella 17). Come evidenziato anche dalla valutazione strumentale della tessitura qui condotta, durante la conservazione in ghiaccio possono verificarsi dei processi degradativi nel muscolo del pesce che tendono a rendere il tessuto più soffice e meno compatto [74]. Tali valutazioni sono da tenere in considerazione poiché la *texture* della carne dei prodotti ittici è un importante indicatore di freschezza oltre che un attributo rilevante per le industrie di trasformazione ittica poiché influisce sulla lavorazione dei filetti [3].

pH

I valori di pH registrati durante i 12 giorni di conservazione in ghiaccio degli esemplari di acciuga sono mostrati in Figura 23.

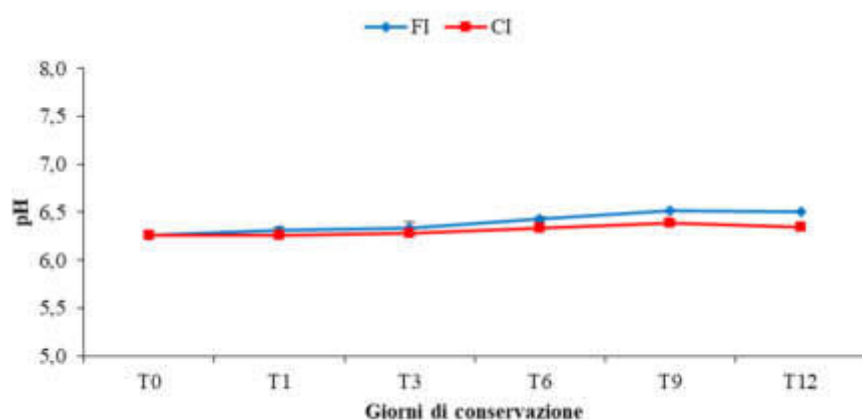


Figura 23. Valori di pH dei filetti di esemplari di *E. encrasicolus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 18. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 23

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	a	a	b/B	c/B	c/B
CI	a	a	a	b/A	c/A	b/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione

I dati ottenuti nel corso di questo studio hanno mostrato, a partire dal T6, sia nei campioni mantenuti in FI che nei campioni mantenuti in CI, un incremento significativo dei valori di pH ($p < 0,05$) (Tabella 18). Nelle acciughe conservate in ghiaccio tradizionale il pH aumenta significativamente con il tempo di conservazione [86] e l'aumento del pH durante la refrigerazione può essere correlato all'accumulo di basi volatili per azione di enzimi endogeni o microbici [88]. Inoltre, il valore del pH è considerato un parametro importante per valutare il deterioramento del pesce durante la conservazione in ghiaccio e in letteratura viene riportato che variazioni di pH superiori a 0,2 unità suggeriscono un deterioramento del pesce [3]. Nel corso del presente studio, un incremento del valore di pH superiore a 0,2 unità è stato registrato soltanto per i campioni conservati in FI, in confronto al T0, dopo 9 giorni di conservazione. Inoltre, il confronto tra le due diverse tipologie di trattamento ha mostrato che a partire dal T6, il pH dei campioni mantenuti in CI è risultato significativamente più basso ($p < 0,05$) dei campioni mantenuti in FI (Tabella 18). Risultati simili sono stati riportati per altre specie ittiche conservate in *slurry ice* e valori più bassi di pH indicano quindi un migliore controllo dell'attività endogena e microbica negli esemplari conservati in *slurry ice* rispetto a quelli conservati in ghiaccio a scaglie [12,14,89,90].

Water Holding Capacity

I risultati delle analisi volte alla valutazione del parametro WHC sono mostrati in Figura 24 e hanno mostrato come i valori registrati non abbiano presentato differenze significative nel corso della conservazione in CI e in FI. Allo stesso modo non sono state osservate differenze significative tra i campioni conservati con le due diverse tipologie di ghiaccio (Figura 24).

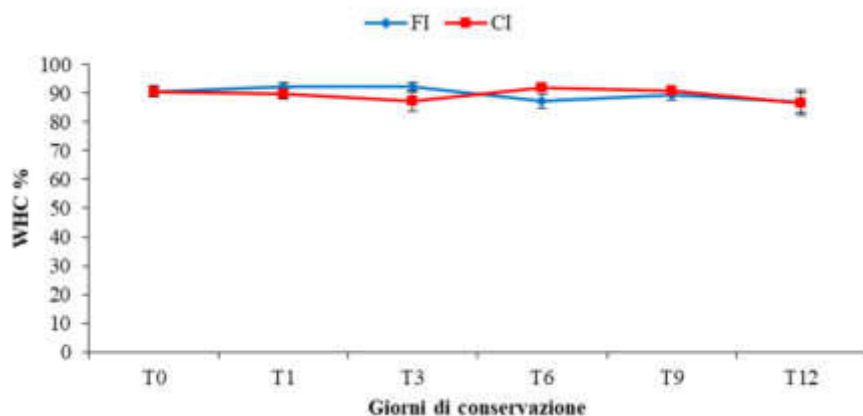


Figura 24. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) dei filetti di esemplari di *E. encrasicolus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

La capacità di trattenere l'acqua (WHC) è un parametro di qualità importante dal punto di vista commerciale poiché influisce sull'aspetto e la consistenza del pesce e quindi sul grado di accettabilità da parte del consumatore. Un basso valore di WHC è spesso legato a cambiamenti strutturali *post mortem* nel muscolo che includono principalmente la degradazione del reticolo dei miofilamenti, la denaturazione della miosina e l'aumento dello spazio extracellulare, con effetti negativi sulla tessitura del pesce [65,91].

L'andamento di tale parametro dipende dalle modalità di conservazione e dalla specie. In generale, la conservazione dei prodotti ittici a basse temperature consente di ridurre la perdita di acqua, tuttavia, la formazione di cristalli di ghiaccio durante la conservazione accelera la distruzione della struttura del tessuto, con conseguente riduzione della WHC [1]. In letteratura vengono riportati dati diversi relativamente all'effetto del CI sulla WHC: Nel salmone ad esempio è stato osservato che la conservazione in CI, rispetto al ghiaccio tradizionale, con il trascorrere dei giorni, ha l'effetto di ridurre la WHC, viceversa nel salmerino alpino è stato osservato un effetto opposto [65]. Quindi, poiché la capacità di trattenere l'acqua è strettamente correlata alle proprietà strutturali del tessuto muscolare, i dati ottenuti nel corso di questo studio suggeriscono che entrambe le tipologie di ghiaccio non abbiano determinato cambiamenti significativi nella microstruttura del muscolo negli esemplari di *E. encrasicolus* durante i 12 giorni di conservazione.

Contenuto di Sodio

Le analisi del contenuto di sodio dei filetti di esemplari di *E. encrasicolus* hanno consentito di osservare un aumento statisticamente significativa ($p < 0,05$) durante l'intero periodo di conservazione nei campioni mantenuti in CI rispetto ai campioni mantenuti in FI ($p < 0,05$) (Figura 25 e Tabella 19)

Tabella 19. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del Sodio mostrati in Figura 25

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a/A	b/A	c/A	d/A	d/A	d/A
CI	a/A	b/B	c/B	d/B	e/B	f/B

Le lettere diverse minuscole (a, b, c...f) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione.

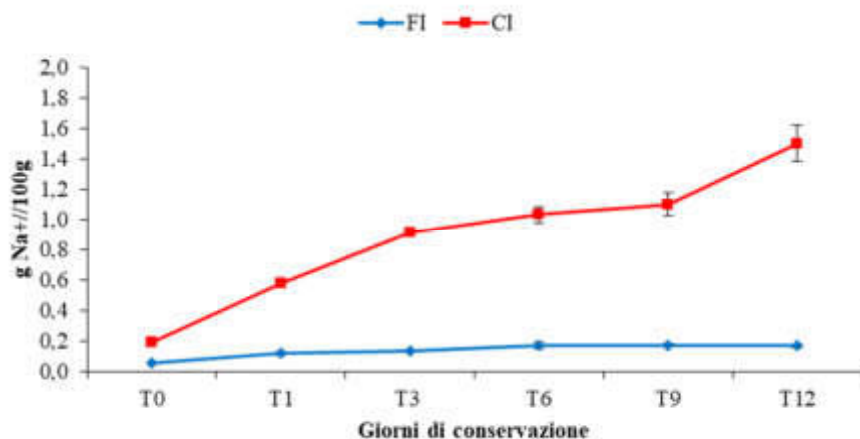


Figura 25. Contenuto di sodio (g Na+/100g) dei filetti di esemplari di *E. encrasicolus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Anche in quest'ultimi, in realtà, il contenuto di sodio aumenta significativamente ($p < 0,05$) durante il periodo di conservazione, mantenendo tuttavia valori inferiori ($p < 0,05$) rispetto ai campioni mantenuti in CI (Figura 25). L'effetto del ghiaccio fluido, contenente NaCl, sull'incremento del contenuto di sodio, osservato nel corso del presente studio, trova riscontro con quanto osservato in letteratura [76–80].

Attività dell'acqua (a_w)

I risultati delle analisi relative all'attività dell'acqua sono mostrati in Figura 26.

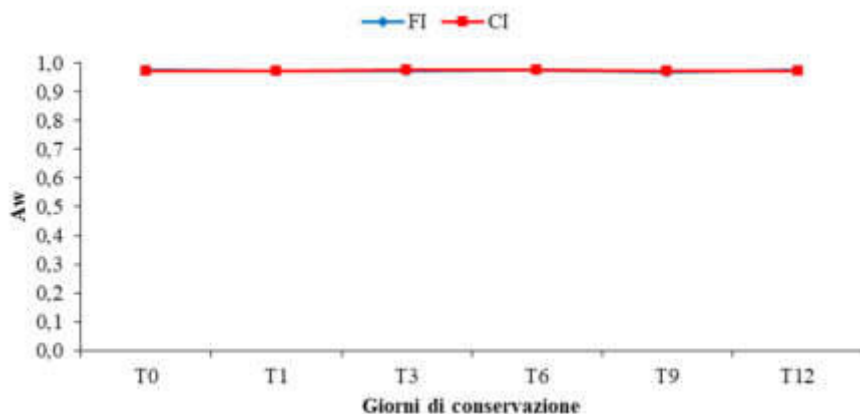


Figura 26. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) dei filetti di esemplari di *E. encrasicolus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 20. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'aw mostrati in Figura 26.

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	b	b	ab	b	a/A	b/B
CI	ab	ab	a	a	b/B	b/A

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione

I valori osservati nel corso della prova di *shelf life*, per entrambe le tipologie di conservazione, sono confrontabili con dati riportati in letteratura per la stessa specie oggetto di studio [92,93]. Relativamente ai valori rilevati subito dopo la cattura, l'attività dell'acqua ha mostrato un decremento significativo soltanto dopo 9 giorni di conservazione nei campioni conservati in FI (Tabella 20), mentre i valori rilevati nei campioni conservati in CI si sono mantenuti costanti (Figura 26 e Tabella 20). Inoltre, le due diverse tipologie di conservazione in ghiaccio non sembrano aver influenzato l'evoluzione del parametro attività dell'acqua, considerato che l'andamento di tale parametro ha mostrato differenze significative soltanto dopo 9 giorni di conservazione con un valore significativamente inferiore ($p < 0,05$) nei campioni FI, e dopo 12 giorni, con un valore significativamente inferiore ($p < 0,05$) nei campioni CI (Figura 26 e Tabella 20).

Tali osservazioni, risultano rilevanti considerato che la valutazione dell'attività dell'acqua, indice di disponibilità di acqua di un alimento durante la sua conservazione, è indicativa della stabilità chimica, microbiologica ed enzimatica, che consente di predire reazioni di degradazione che potrebbero verificarsi con il proseguire della conservazione; tale parametro, infatti, è il principale responsabile della modulazione della risposta microbica, interferendo anche sulla tipologia di microrganismi che possono svilupparsi negli alimenti [81,82]. È ormai certo infatti come l'attività dell'acqua, non il contenuto d'acqua degli alimenti, sia correlata con la crescita batterica e, per tali motivi, viene utilizzata in molti casi, dalle industrie alimentari, come punto critico di controllo per i programmi di analisi dei rischi e dei punti critici di controllo (HACCP) rappresentando, quindi, un utile strumento per valutare la qualità e la sicurezza di un alimento [83].

TVBN

I risultati delle analisi volte alla valutazione delle componenti di degradazione della frazione azotata hanno mostrato come in entrambe le tipologie di conservazione in ghiaccio, nell'arco del periodo di conservazione oggetto di studio, i valori di TVBN (Figura 27 e Tabella 21) si siano mantenuti al di sotto del limite di accettabilità di 35 mg TVBN/100 g [62] (Figura 27).

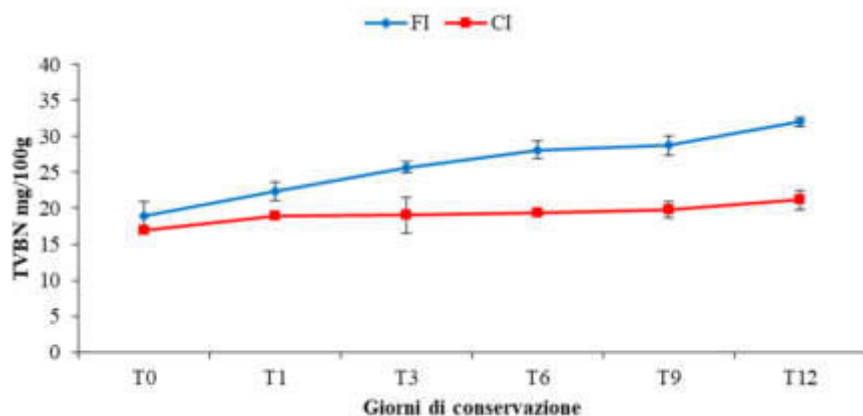


Figura 27. Andamento dei valori di TVBN dei filetti di esemplari di *E. encrasicolus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 21. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 27

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a/A	b/B	c/B	d/B	d/B	e/B
CI	a/A	b/A	b/A	b/A	b/A	b/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c...e) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione

Nei campioni conservati in FI il contenuto di TVBN ha mostrato incrementi significativi ($p < 0,05$) a partire dal T1, mentre nei campioni conservati in CI il contenuto di TVBN non ha mostrato differenze significative fino al termine della prova (Figura 27 e Tabella 21).

Inoltre il confronto tra le due tipologie di trattamento ha rivelato che nei campioni conservati in FI i valori di TVBN sono risultati significativamente più alti ($p < 0,05$) rispetto ai valori osservati nei campioni in CI già dopo 1 giorno di conservazione (Tabella 21), evidenziando come la tipologia di ghiaccio innovativo abbia rallentato in modo significativo la formazione di TVBN con valori significativamente più bassi nei campioni in CI. Tali informazioni risultano rilevanti considerato che il TVBN è ritenuto un parametro importante per la valutazione della qualità dei prodotti ittici, strettamente correlato all'attività microbica, e il controllo di tale parametro è importante per garantire la sicurezza e prolungare la durata di conservazione dei prodotti della pesca [1]. Un contenuto significativamente più elevato di TVBN nei campioni conservati in FI rispetto alla conservazione in CI è stato riportato in letteratura anche per altre specie ittiche delle quali è stata studiata la *shelf life* in modo comparativo con le due tipologie di ghiaccio (FI e CI) [12,31,89].

MDA

Le analisi volte alla valutazione del contenuto di malondialdeide (MDA) parametro correlato alla degradazione della componente lipidica, hanno mostrato un andamento differente negli esemplari conservati nelle due diverse tipologie di ghiaccio. In particolare, nei campioni in FI è stato osservato un aumento del contenuto di MDA fino a sei giorni di conservazione, con valori di MDA che differivano in modo statisticamente significativo rispetto al T1 ($p < 0,05$). Dopo sei giorni di conservazione è stata osservata una progressiva diminuzione significativa ($p < 0,05$) (Figura 28 e Tabella 22).

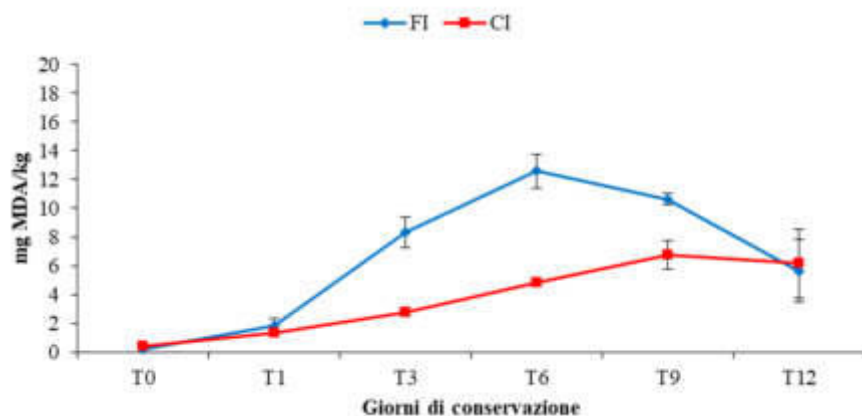


Figura 28. Andamento dei valori di MDA dei filetti di esemplari di *E. encrasicolus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 22. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 28.

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	a	a	bd/A	c/A	bc/A	d
CI	a	a	b/B	bc/B	c/B	bc

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione

I campioni mantenuti in CI hanno presentato un progressivo aumento dei valori di MDA lungo il periodo di conservazione con differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) (Figura 28 e Tabella 22), mentre è stata osservata una diminuzione del contenuto di MDA soltanto al termine del periodo di conservazione (T12) (Figura 28 e Tabella 22).

L'incremento del contenuto di MDA indica la formazione di prodotti di ossidazione lipidica secondaria, mentre la diminuzione può indicare un processo di degradazione della malondialdeide con formazione di prodotti di degradazione terziaria [84]. Differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) sono state osservate tra i campioni conservati in ghiaccio tradizionale e quelli in ghiaccio innovativo, con valori inferiori in quest'ultimi, a partire dal terzo giorno di conservazione, tranne che al termine della valutazione della *shelf life* (T12) (Tabella 22). Nunes *et al.* [85] indicano come limite di accettabilità del valore di MDA per il pesce conservato in ghiaccio valori di 5-8 mg MDA/kg di prodotto. I valori di MDA osservati negli esemplari mantenuti in FI hanno superato il limite di 8 mg MDA/kg il terzo giorno di conservazione (Figura 28), a differenza di quanto osservato nei campioni in CI, in cui tale valore non è stato superato lungo tutto il periodo di conservazione (Figura 28). Dai risultati ottenuti dall'analisi del contenuto di MDA, si potrebbe affermare che l'uso del CI sia stato efficace nel mantenere più bassi i valori di MDA nell'acciuga, contribuendo a ritardare la perossidazione lipidica e determinando quindi una più bassa concentrazione di MDA.

Analisi microbiologiche

Le analisi microbiologiche sono state condotte dal Laboratorio Idrolab Consult s.a.s, a cui venivano consegnati, da parte di operatori della Bio&Tec Soc. Coop. arl, durante la valutazione della *shelf life* i campioni di pesce opportunamente prelevati e conservati. I risultati delle valutazioni microbiologiche, condotte con metodologie accreditate, sono riportati nel rapporto di prova corrispondente all'allegato 2.

I risultati delle analisi microbiologiche mettono in evidenza come, in entrambi i trattamenti di refrigerazione, a partire dal sesto giorno di conservazione, si sia osservato un costante e significativo incremento della conta microbica (Figura 29 e Tabella 23).

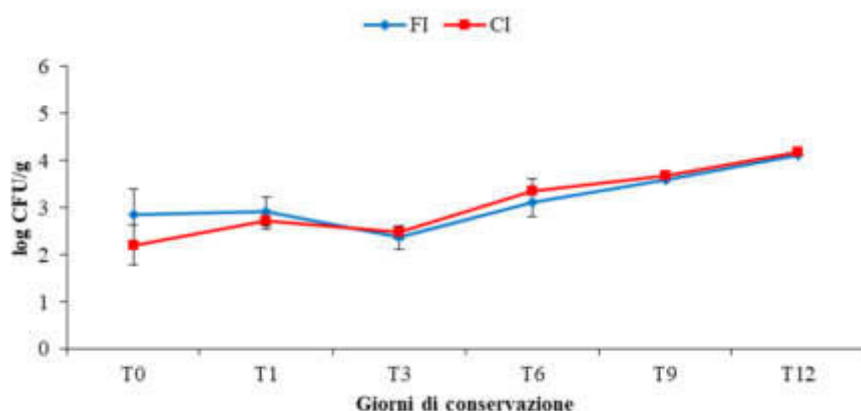


Figura 29. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g degli esemplari di *E. encrasicolus* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). (Allegato 2: Esame microbiologico *E. encrasicolus*: Conta dei microorganismi a 30 °C)

Tabella 23. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologica mostrati in Figura 29

	T0	T1	T3	T6	T9	T12
FI	b	b	a	bc	c	d
CI	a	a	a	b	b	c

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

I risultati ottenuti sono confrontabili con quanto riportato in letteratura sulla stessa specie conservata in *slurry ice* [30]. Per l'intero periodo di *shelf life*, nessuno dei campioni analizzati, ha presentato valori superiori al limite normativo della conta dei microorganismi a 30 °C, indicato in 10^6 cfu/g (6 log cfu/g) nel Regolamento CE 2073/2005 e ss.mm (Figura 29) [94].

In letteratura viene suggerito come limite di accettabilità, relativamente alla conta dei batteri mesofili, nei prodotti della pesca, il valore di 10^7 cfu/g (7 log cfu/g), mentre valori nell'intervallo di 2-4 log CFU/g vengono suggeriti come tipici dei prodotti ittici freschi, e una carica microbica iniziale più elevata riduce la durata di conservazione del pesce [1]. Infine, non si sono osservate differenze significative tra i campioni conservati nelle due diverse tipologie di ghiaccio (Tabella 23).

Conclusione

Nel corso dei 12 giorni di valutazione della *shelf life* dei campioni di *E. encrasicolus*, conservati in ghiaccio a scaglie e Creamy Ice® l'analisi sensoriale degli esemplari di *E. encrasicolus*, ha evidenziato che, per entrambe le tipologie di conservazioni in ghiaccio, dopo 9 giorni di conservazione sono stati superati i limiti di accettabilità suggeriti in letteratura [47], sebbene gli esemplari conservati in CI abbiano presentato, a tre giorni dalla cattura, caratteristiche sensoriali significativamente migliori, in confronto agli esemplari conservati in FI.

La valutazione delle caratteristiche di qualità del prodotto, in termini di analisi strumentale del colore, e tessitura del filetto ha consentito di osservare che le due diverse metodiche di conservazione in ghiaccio non hanno influito su tali parametri che, tuttavia, influiscono notevolmente sulle scelte dei consumatori.

Relativamente ai parametri biochimici correlati alla *shelf life*, nel presente studio è stato osservato che i campioni mantenuti in CI presentavano un contenuto di TVBN significativamente più basso nel periodo di *shelf life* rispetto ai campioni mantenuti in FI. Tali risultati, come anche evidenziato dai valori di pH, indicano presumibilmente un effetto inibente del trattamento CI nel processo di sintesi dei composti azotati di base, derivanti dalla degradazione delle molecole proteiche e non proteiche, che influenzano le caratteristiche sensoriali e di sicurezza dei prodotti della pesca [1]. Va comunque sottolineato che sebbene il TVBN sia strettamente correlato all'attività microbica, le analisi microbiologiche hanno evidenziato come, per entrambe le tipologie di conservazioni in ghiaccio non siano stati superati i limiti normativi [94] e la conservazione in CI non abbia mostrato effetti positivi per l'inibizione dello sviluppo microbico. Allo stesso modo, il trattamento in CI ha avuto un effetto positivo nel prevenire la formazione di prodotti di degradazione lipidica secondaria, come mostrato dal contenuto di MDA.

In conclusione, è possibile affermare che il trattamento in CI degli esemplari di *E. encrasicolus*, ha mostrato alcuni effetti positivi sul mantenimento della qualità e della freschezza. La conservazione in CI di tale specie, di grande rilevanza dal punto di vista commerciale, può essere considerata quindi una tecnica potenzialmente promettente; tuttavia può essere valutata una ottimizzazione del processo, in considerazione del fatto gli esemplari trattati con CI si presentavano congelati al momento del prelievo ed hanno mostrato un aumento del contenuto di sodio nel periodo di *shelf life*, dovuto, come anche evidenziato in letteratura [76–80], alla natura stessa del ghiaccio utilizzato, contenente cloruro di sodio.

Salatura di *S. pilchardus* e di *E. encrasicolus*

Esemplari di *S. pilchardus* e di *E. encrasicolus*, mantenuti in FI e CI, sono stati sottoposti a salatura, sebbene tale procedura non fosse prevista nella pianificazione iniziale delle attività del progetto. Tale trattamento è stato realizzato tenuto conto sia della grande importanza assunta dall'industria di trasformazione dei prodotti ittici in Sicilia, in particolare per la produzione di acciughe e sarde salate [95] sia di quanto riscontrato in letteratura sul possibile effetto migliorativo di un pretrattamento con *slurry ice* sulla qualità della specie *E. encrasicolus* sottoposta a salatura [96], con effetti positivi sulla qualità e la resa del prodotto finale trasformato [96].

La salatura è un'antica tecnologia applicata per conservare i pesci. Una volta a contatto con i tessuti dei pesci, il NaCl induce diversi cambiamenti fisico-chimici. Inoltre, in questa condizione, si verifica la selezione di una comunità microbica e le loro attività enzimatiche influenzano la componente lipidica e proteica dei tessuti del pesce durante il processo di maturazione. Questo processo determina cambiamenti di colore, succosità, consistenza, odore e sapore [97].

I risultati ottenuti indicano che la conservazione di sarde e acciughe con in FI e con CI influenza il processo di salatura e la qualità dei prodotti.

Come è possibile osservare in Figura 30, i liquidi corporei (essenzialmente sangue) rilasciati durante il processo di salatura dagli esemplari di *S. pilchardus* mantenuti in FI per 6 giorni e sottoposti a salatura (T6_FI), assumono una colorazione brunastra, riconducibile ad un'ossidazione più rapida, rispetto a quelli rilasciati dagli esemplari di *S. pilchardus*, mantenuti in CI e sottoposti a salatura (T6_CI), che conservano più a lungo una colorazione più rossa (Figura 30).

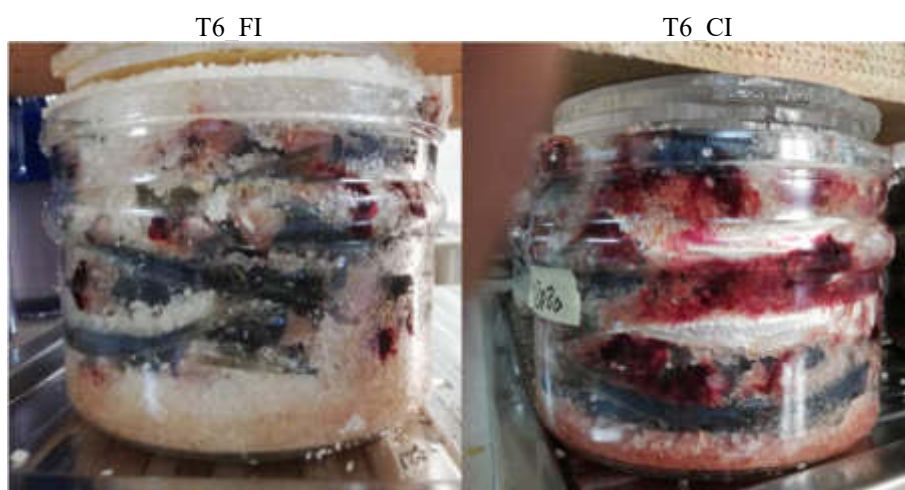


Figura 30. Arbanelle contenenti esemplari di *S. pilchardus* subito dopo la procedura di salatura. T6_FI esemplari mantenuti in Flake Ice per 6 giorni e T6_CI esemplari mantenuti in Creamy Ice® per 6 giorni.

Quanto riscontrato sugli esemplari di *S. pilchardus* è osservabile anche negli esemplari di *E. encrasicolus* (Figura 31 e Figura 32). Inoltre nella Figura 31b e Figura 32b, che mostrano le arbanelle contenenti esemplari di *E. encrasicolus*, dopo un giorno dalla procedura di salatura, si evidenzia come i pesci mantenuti in CI rilascino un maggiore contenuto d'acqua, che potrebbe essere causata dal congelamento degli esemplari conservati in CI.

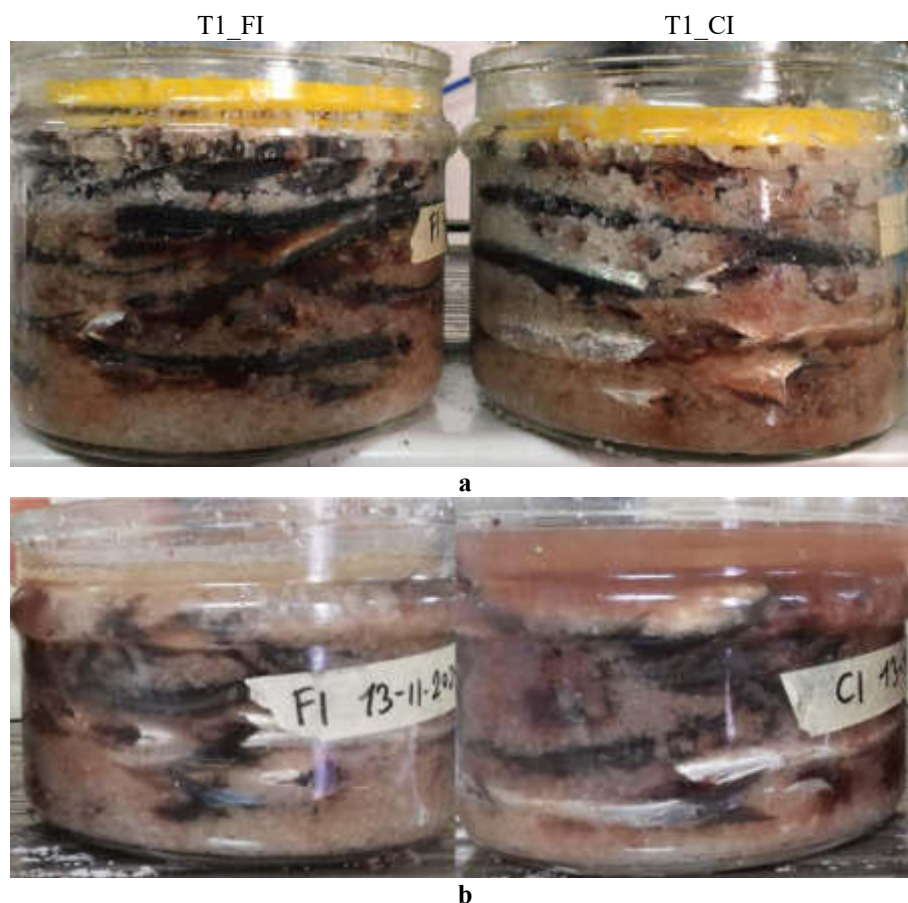


Figura 31. Arbanelle contenenti esemplari di *E. encrasicolus* subito dopo la procedura di salatura (a) e dopo un giorno dalla procedura di salatura (b). T1_FI esemplari mantenuti in Flake Ice per 1 giorno e T1_CI esemplari mantenuti in Creamy Ice® per 1 giorno.

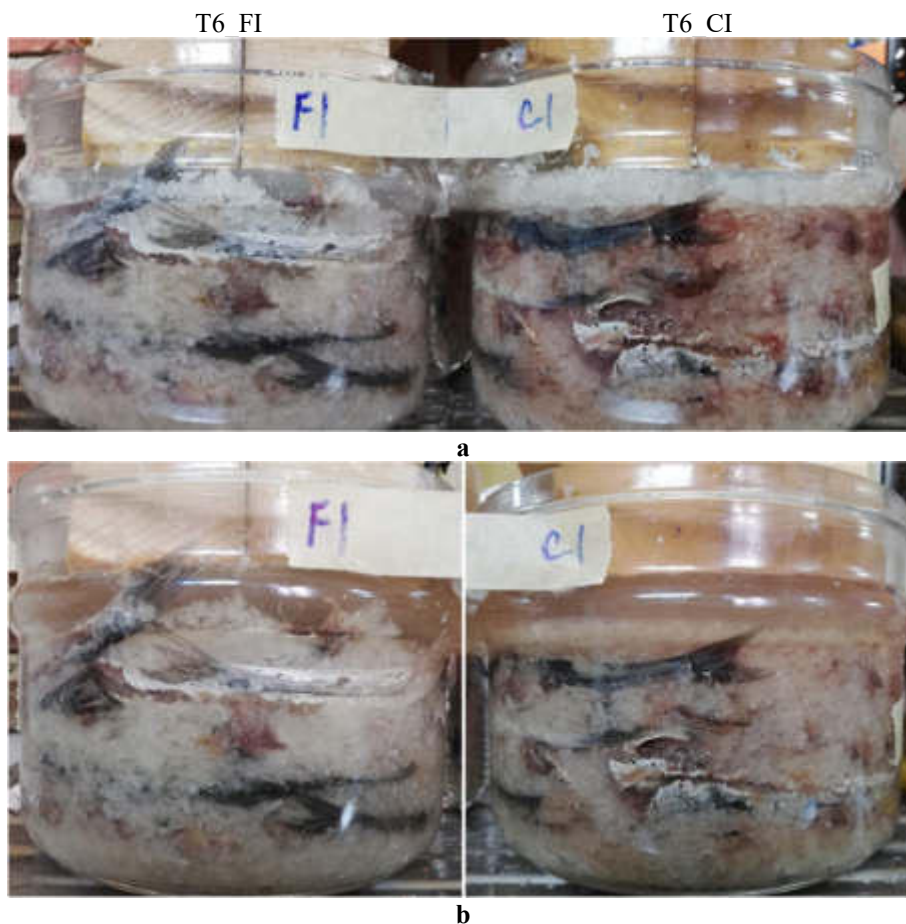


Figura 32. Arbanelle contenenti esemplari di *E. encrasicolus* subito dopo la procedura di salatura (a) e dopo un giorno dalla procedura di salatura (b). T6 FI esemplari mantenuti in Flake Ice per 6 giorni e T6 CI esemplari mantenuti in Creamy Ice® per 6 giorni.

Al termine del processo di maturazione, dopo 11 mesi, sono state osservate alcune differenze anche nei filetti salati (Figura 33 e Figura 34). Infatti si può osservare sia per i filetti di *S. pilchardus* (Figura 33) che per i filetti di *E. encrasicolus* (Figura 34) la presenza di una striatura più scura nei campioni conservati in CI, questo dovuto al congelamento che hanno subito i campioni prima del trattamento (Comunicazione personale N. Carlino).



Figura 33. Filetti ottenuti da esemplari di *S. pilchardus* sottoposti a salatura dopo 11 mesi di maturazione. FI esemplari mantenuti in Flake Ice per e CI esemplari mantenuti in Creamy Ice® per 6 giorni.

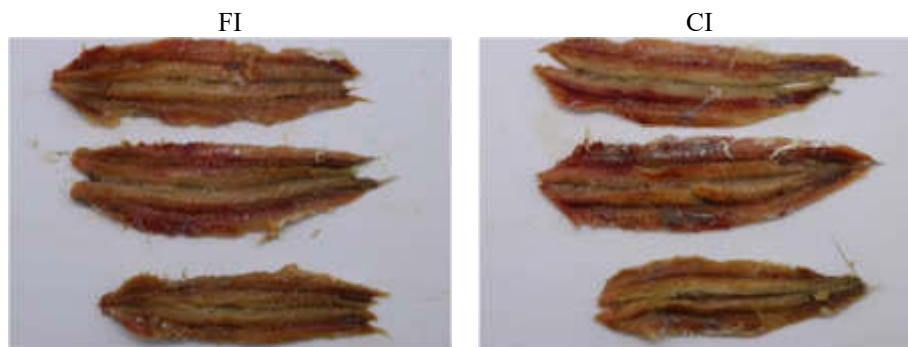


Figura 34. Filetti ottenuti da esemplari di *E. encrasicolus* sottoposti a salatura dopo 11 mesi di maturazione. FI esemplari mantenuti in Flake Ice e CI esemplari mantenuti in Creamy Ice®.

Sugli esemplari sottoposti a salatura è stato valutato il contenuto di TVBN (Figura 35 e Figura 36) e istamina (Allegato 3: Analisi del contenuto di Istamina su *S. pilchardus* e *E. encrasicolus* salata).

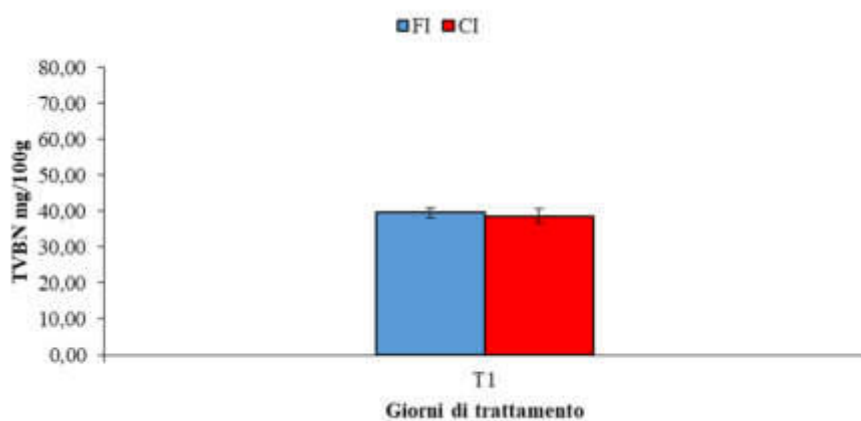


Figura 35. Contenuto di TVBN determinato sugli esemplari di *S. pilchardus* sottoposti a salatura dopo 11 mesi di maturazione. T6: esemplari mantenuti in Flake Ice (FI) e in Creamy Ice® (CI) per 6 giorni.

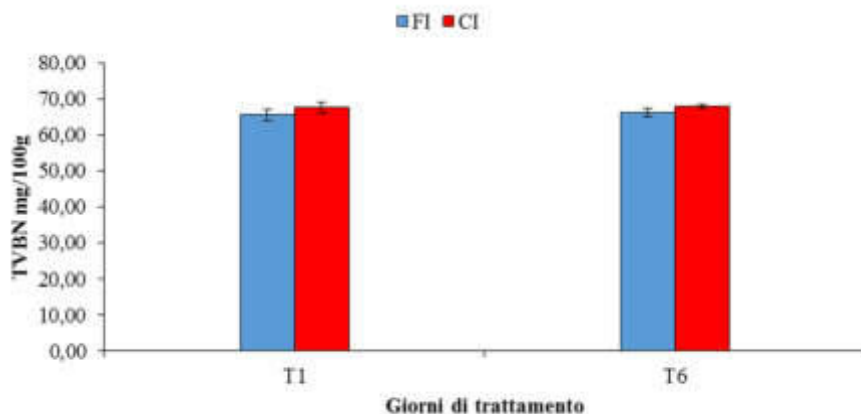


Figura 36. Contenuto di TVBN determinato sugli esemplari di *E. encrasicolus* sottoposti a salatura dopo 11 mesi di maturazione. T1: esemplari mantenuti in Flake Ice (FI) e in Creamy Ice® (CI) per 1 giorno; T6: esemplari mantenuti in Flake Ice (FI) e in Creamy Ice® (CI) per 6 giorni.

I risultati del TVBN (Figura 35 e Figura 36) non hanno mostrato differenze significative tra i due tipi di trattamento e i risultati sono confrontabili con quanto presente in letteratura [98–100]. In entrambe le specie analizzate, il contenuto di TVBN, ha presentato valori ben al di sotto dei valori soglia indicati in letteratura come ammissibili per il consumo umano in 100 mg/100 g [101] e in 200 mg/100 g [100]. Al termine del periodo di maturazione, esemplari di *S. pilchardus* e *E. encrasicolus*, sono stati utilizzati per la determinazione dei contenuti di istamina con la metodica cromatografica: Metodo interno MP-1 rev. 6: 2019, dal laboratorio accreditato Centro Scaglione s.r.l.s. (ACCREDIA). I risultati sono riportati nell'allegato 3. Tutti campioni di *S. pilchardus* mostravano valori compresi <3 e 6 mg/kg, mentre una maggiore variabilità è stata riscontrata nei campioni di *E. encrasicolus*, ma in entrambe le specie non è stato superato il valore limite di 200 mg/kg (Allegato 3: Analisi del contenuto di Istamina su *S. pilchardus* e *E. encrasicolus* salata).

Sparus aurata

Le analisi sono state condotte su esemplari di *S. aurata*, pescati presso un impianto di allevamento in gabbie galleggianti (Figura 37 e Figura 38). Gli esemplari utilizzati presentavano un peso corporeo umido totale pari a $690 \pm 1,85$ g e una lunghezza media totale pari a $34,12 \pm 0,34$ cm.

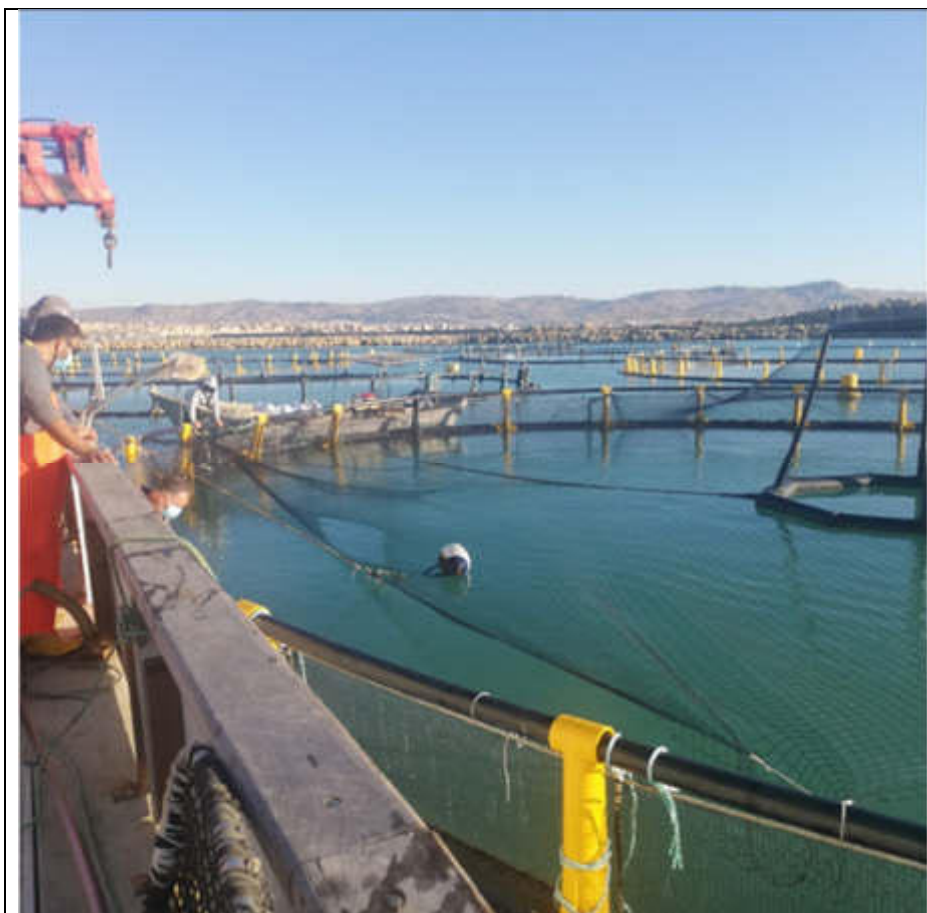


Figura 37. Fasi della pesca di orate presso l'impianto di allevamento in gabbie galleggianti.



Figura 38. Orate pescate presso l'impianto di allevamento in gabbie galleggianti.

Temperatura

Durante la *shelf life* è stata monitorata la temperatura al core sugli esemplari di *S. aurata* conservati con diversa tipologia di ghiaccio (Figura 39).

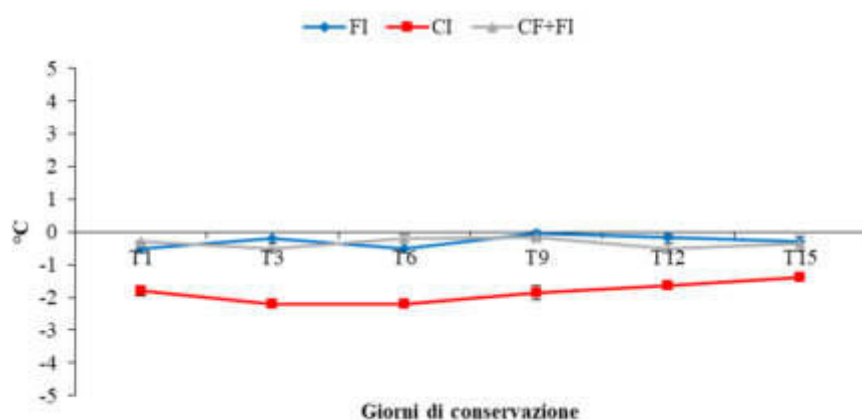


Figura 39. Temperatura al core degli esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 24. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 39

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a/B	bc/C	a/B	d/B	cd/C	b/B
CI	bc/A	a/A	a/A	b/A	c/A	d/A
CF+FI	ab/C	a/B	b/C	b/B	a/B	ab/B

Lettere diverse minuscole (a, b, c, d per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Lettere diverse maiuscole (A, B, C) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

È stato osservato che gli esemplari posti in CI hanno mantenuto temperature al core significativamente più basse ($p < 0,05$) rispetto agli esemplari conservati in FI e gli esemplari in CF+FI durante tutta la *shelf life*. Tale differenza significativa ($p < 0,05$) di temperatura trova giustificazione nelle caratteristiche del CI che, rispetto al FI, raggiunge temperature più basse e consente un rapido raffreddamento a causa di uno scambio di calore più rapido [21,25,102]. Infine, tra gli esemplari FI e CF+FI non sono state osservate differenze significative.

Analisi sensoriale

Durante la prova di *shelf life*, sono stati esaminati i cambiamenti degli attributi sensoriali degli esemplari di *S. aurata*, conservati con FI, CI e CI+FI con il QIM, assegnando un punteggio di demerito da 0 a 15 [48].

I risultati dell'analisi sensoriale, condotta sugli esemplari di *S. aurata* FI, CI e CF+FI, sono mostrati in Figura 40.

Tabella 25. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della analisi sensoriale mostrati in Figura 39

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a	b/A	c/A	d/A	e/A	f/C
CI	a	b/B	c/C	d/B	e/B	f/A
CF+FI	a	b/B	c/B	d/A	e/B	f/B

Lettere diverse minuscole (a, b, c...f) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Lettere diverse maiuscole (A, B, C) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

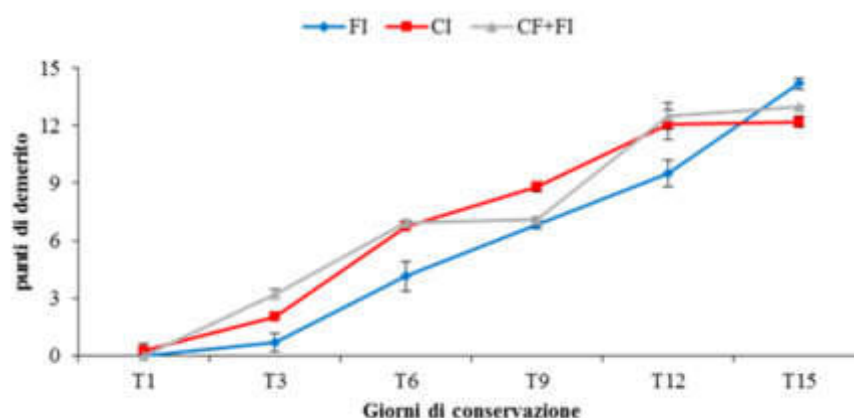


Figura 40. Valutazione sensoriale degli esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baitura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

La valutazione sensoriale dei principali parametri indicativi del deterioramento della specie in esame (aspetto della pelle, elasticità della carne, odore, trasparenza e forma degli occhi, colore e odore delle branchie [48]) ha indicato una variazione delle caratteristiche sensoriali degli esemplari di *S. aurata* durante la conservazione a freddo (Figura 40).

Nelle tre diverse tipologie di trattamento, è stato rilevato un incremento significativo ($p < 0,05$), nel corso del tempo, del punteggio totale di demerito e quindi una progressiva perdita delle caratteristiche sensoriali tipiche del prodotto fresco, riscontrate al T1, negli esemplari di *S. aurata* (totale punti di demerito 0) (Figura 40 e Tabella 25). Inoltre la valutazione sensoriale ha consentito di rilevare come gli esemplari conservati in CI, nel corso dei 15 giorni di valutazione della *shelf life*, al momento del prelievo, si presentassero congelati.

Gli esemplari conservati in FI hanno mostrato le migliori caratteristiche sensoriali rispetto agli esemplari CI e CF+FI ($p < 0,05$) fino a 12 giorni di conservazione. In letteratura viene riportato che orate uccise per immersione in *slurry ice* presentavano caratteristiche sensoriali peggiori in confronto agli esemplari in ghiaccio a scaglie, principalmente a causa dei maggiori punti di demerito assegnati alla chiarezza della cornea e al colore della pupilla, dovuti al congelamento parziale degli esemplari esaminati [24].

I dati da noi ottenuti, in termini di punti di demerito dei campioni FI, sono confrontabili con i dati in letteratura relativi a campioni di orata conservati in ghiaccio [48]. Dopo 15 giorni di conservazione, è stata osservata un'inversione di tendenza: i campioni CI hanno infatti presentato un punteggio di demerito significativamente più basso ($p < 0,05$) rispetto a FI e CF+FI (Figura 40 e Tabella 25). Queste osservazioni sono comunque paragonabili con i dati riportati da altri autori per la stessa specie che suggeriscono, per questa specie, 15 giorni come tempo massimo di conservazione in ghiaccio, oltre il quale le caratteristiche sensoriali non risultano più accettabili [48].

Infine, sembra che i diversi trattamenti non abbiano influito sulla durata della *shelf life*, a conferma di quanto riportato da altri autori, che hanno messo in evidenza che il trattamento in *Slurry ice* di

esemplari di orata, dal punto di vista sensoriale, non determina un'estensione della durata di conservazione in ghiaccio, che viene indicata in 13 giorni [103].

In Figura 41 sono mostrate le foto degli esemplari utilizzati per l'analisi sensoriale.

	FI	CI	CF+FI
T1			
T3			
T6			
T9			

T12			
T15			
Figura 41. Esempolari di <i>S. aurata</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).			

Analisi fisico-chimiche correlate alla shelf life

Colore

I risultati dell'analisi strumentale del colore, espressa in termini di coordinate L*, a*, b* e ΔE, rilevate sui filetti degli esemplari di *S. aurata* sono mostrati in Figura 42.

Tabella 26. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 42

L*						
	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	b/B	d	a/A	cd/B	c/A	d/A
CI	a/B	bc	b/B	bc/C	b/B	c/C
CF+FI	ab/A	c	a/A	bc/A	d/A	d/B
b*						
	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a	c	b	b	a	a
CI	a	b	b	b	b	b
CF+FI	a	bc	b	b	c	b
ΔE						
	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a	c	b	b	b/A	b/A
CI	a	b	b	b	b/B	b/B
CF+FI	a	b	b	b	c/B	bc/B

Lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Lettere diverse maiuscole (A, B, C) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

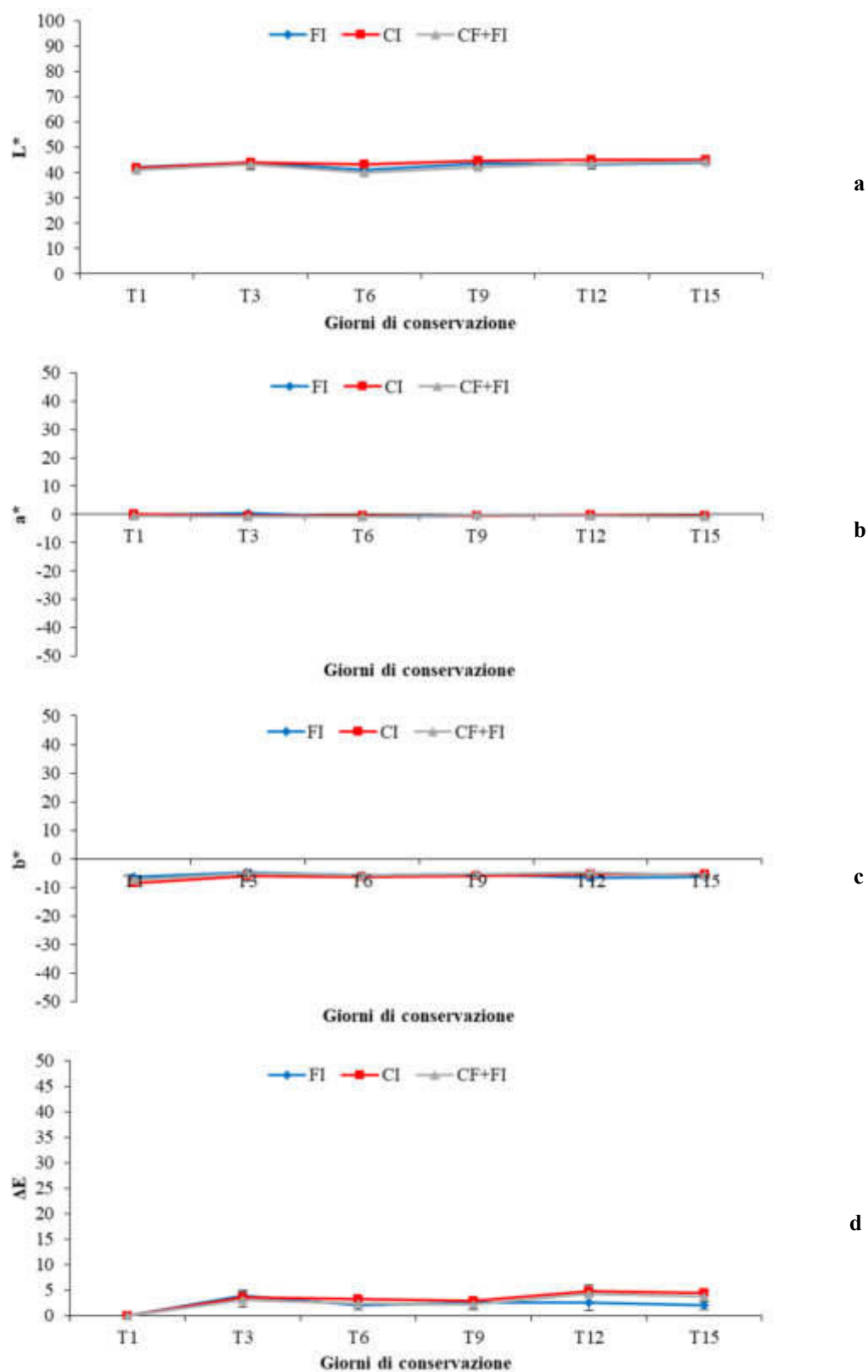


Figura 42. Analisi del colore dei filetti di esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). a) Andamento dei valori del parametro L^* ; b) Andamento dei valori del parametro a^* ; c) Andamento dei valori del parametro b^* ; d) Andamento dei valori del parametro ΔE .

In relazione al parametro L^* (Figura 42a), in tutti e tre i trattamenti (FI, CI, CF+FI), è evidente un aumento significativo ($p<0,05$) della luminosità (L^*) durante la *shelf life*. In letteratura un incremento della luminosità dei filetti di orata, conservati in ghiaccio, viene correlato a un incremento del contenuto di acqua e quindi a una variazione degli indici di rifrazione del tessuto, che comporta la percezione di un colore più chiaro [104,105]. Risultati simili con un incremento dei valori di L^* durante la conservazione di *S. aurata*, in regime di refrigerazione, sono stati osservati anche da altri autori [106]. Sono state osservate differenze significative tra i tre diversi trattamenti nel corso dei 15 giorni oggetto di studio e i filetti degli esemplari di *S. aurata* mantenuti in CI hanno mostrato valori di L^* più elevati ($p<0,05$) rispetto agli altri trattamenti dal T6 (Figura 42a Tabella 26). Questa osservazione può essere motivata dall'effetto del congelamento degli esemplari conservati in CI, come osservato anche in altre specie conservate in ghiaccio, nelle quali il tasso di congelamento dello strato superficiale del filetto ha un impatto significativo sul valore della luminosità, che risulta tanto più alto quanto più piccoli sono i cristalli di ghiaccio presenti sulla superficie del filetto stesso [3,69]. Per quanto riguarda il parametro a^* (Figura 42b), che assume valori positivi per i colori tendenti al rosso e valori negativi per quelli tendenti al verde [107], i valori si sono mantenuti prossimi allo 0 (Figura 42b) non sono state rilevate differenze significative durante la *shelf life* e tra i diversi trattamenti. I dati ottenuti sono confrontabili con quelli relativi ad orate conservate in ghiaccio a scaglie [108].

Le variazioni del parametro b^* sono mostrate in Figura 42c. Il parametro b^* assume valori positivi per i colori tendenti al giallo e valori negativi per quelli tendenti al blu [107]. In tutti e tre i trattamenti è stato osservato un incremento significativo ($p<0,05$) del parametro b^* dal T1 al T3, mentre i valori si sono successivamente mantenuti costanti o sono diminuiti durante la *shelf life* (Figura 42c) in modo paragonabile a quanto osservato in letteratura sulla stessa specie conservata in ghiaccio [109]. La valutazione statistica dei dati relativi alle tre diverse tipologie di trattamento non ha consentito, invece, di rilevare differenze significative (Tabella 26).

Il parametro ΔE (Figura 42d), che indica la misura della variazione di colore totale [107] ha mostrato differenze significative al termine (T12 e T15) della valutazione della *shelf life*, con le maggiori variazioni di colore dei campioni conservati in CI e CF+FI (Figura 42d Tabella 26).

I risultati dell'analisi colorimetrica degli esemplari di *S. aurata* consentono di fare delle valutazioni sull'influenza delle tre diverse tipologie di trattamento sul colore, che è un indicatore di qualità degli alimenti ed è uno dei principali attributi valutato dai consumatori per la freschezza dei prodotti ittici. [108,110]. In particolare è possibile affermare che il congelamento dello strato superficiale del filetto degli esemplari conservati in CI, come osservato anche in altre specie conservate in ghiaccio, ha avuto un impatto significativo sul valore della luminosità.

Tessitura

La Figura 43 mostra i risultati analitici dei parametri di tessitura (Modulo di Young e *Hardness*) rilevati sul filetto degli esemplari di *S. aurata* durante i 15 giorni di studio della *shelf life*.

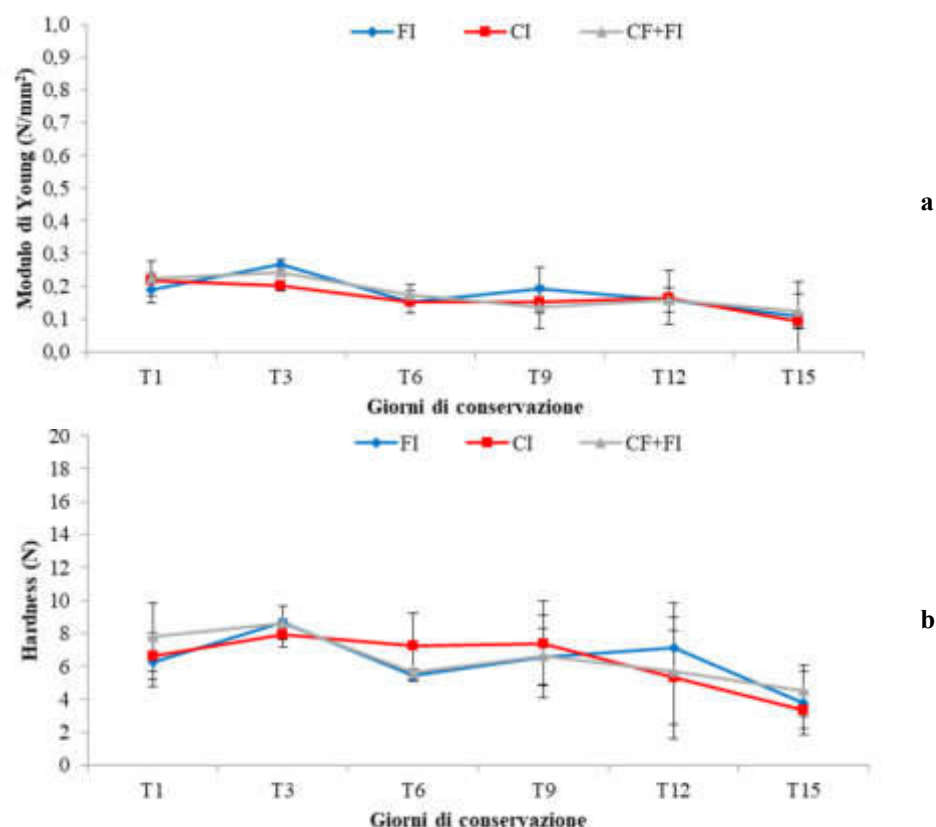


Figura 43. Analisi della tessitura dei filetti di esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baitura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.

Tabella 27. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della tessitura mostrati in Figura 43

Modulo di Young						
	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	ab	b	a	ab	a	a
CI	b	b	ab	ab	ab	a
CF+FI	bc	c	abc	a	ab	abc
Hardness						
	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a	a	a	a	a	a
CI	b	b	b	b	ab	a
CF+FI	ab	b	a	ab	a	a

Lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Il Modulo di Young (Figura 43a), definito anche modulo di deformabilità, ha presentato un decremento significativo ($p < 0,05$), durante la *shelf life* in tutti e tre i trattamenti (Figura 43 e Tabella 27).

Come mostrato in Figura 43b, i valori più elevati relativi al parametro *Hardness* sono stati osservati durante i primi giorni di conservazione. Con il proseguire del tempo di conservazione la durezza (*Hardness* Figura 43b) è invece diminuita significativamente ($p < 0,05$), in accordo con quanto indicato in letteratura in esemplari di *S. aurata* conservati in ghiaccio, per i quali valori di *Hardness*

inferiori a 4,5 N sono stati correlati a caratteristiche sensoriali non più accettabili [103,111]. Non sono state invece osservate differenze significative tra i diversi tipi di conservazione in ghiaccio; ciò induce a ritenere che i cambiamenti strutturali e funzionali, che si verificano nel muscolo dei pesci, durante la loro conservazione in ghiaccio, che hanno effetti sulla consistenza della carne e ripercussioni sulla qualità [112], si siano verificati indipendentemente dalla tipologia di ghiaccio utilizzata per la conservazione.

pH

I valori di pH rilevati nella parte edibile dei campioni analizzati durante la prova di conservazione in ghiaccio sono mostrati in Figura 44. In tutti i tre trattamenti, oggetto di studio, sono state osservate differenze significative ($p > 0,05$) (Tabella 28) nei valori di pH, nel corso dei 15 giorni di conservazione in ghiaccio.

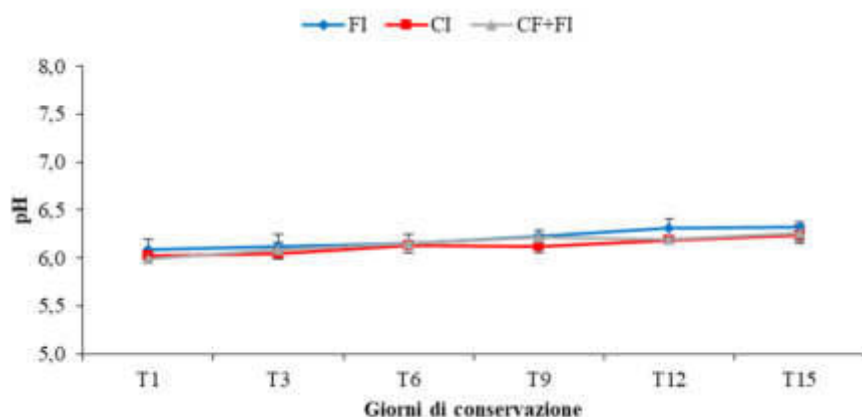


Figura 44. Valori di pH dei filetti di esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 28. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 44

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a	ab	ab	bc	c	c
CI	a	a	b	b	b	c
CF+FI	a	b	bc	c	c	c

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

In particolare, è stato osservato un incremento significativo dei valori di pH, a partire dal sesto giorno di conservazione negli esemplari CI e CF+FI e dal nono giorno di conservazione negli esemplari FI (Tabella 28). Tali incrementi sono correlabili alla produzione di composti basici e potrebbero essere riconducibili alla proliferazione microbica, come osservato anche in altre specie [113]. Infine, la valutazione statistica ($p < 0,05$) dei dati analitici consente di affermare che i diversi trattamenti non abbiano influito su tale parametro di qualità (Tabella 28).

Water Holding Capacity

La capacità di trattenere l'acqua (WHC) insieme all'*Hardness* sono importanti parametri di qualità [114]. In particolare elevati valori tissutali di WHC nei prodotti ittici, sono considerati un requisito di qualità nell'industria di trasformazione, in quanto può influenzare direttamente la redditività dei produttori e la percezione dei consumatori sull'aspetto e la consistenza [115].

Lo studio dell'andamento del parametro WHC del muscolo degli esemplari di *S. aurata*, ha consentito di osservare una tendenza dei campioni conservati in CI, ad una minore capacità di ritenzione dell'acqua tissutale, con valori di WHC significativamente più bassi al T1, T3 e T9 (Figura 45 e Tabella 29). Tuttavia nei tempi finali di *shelf life* (T12 e T15) non sono state osservate differenze significative e tale andamento induce a ritenere che il parametro WHC non sia stato influenzato dal tipo di ghiaccio utilizzato (Figura 45 e Tabella 29).

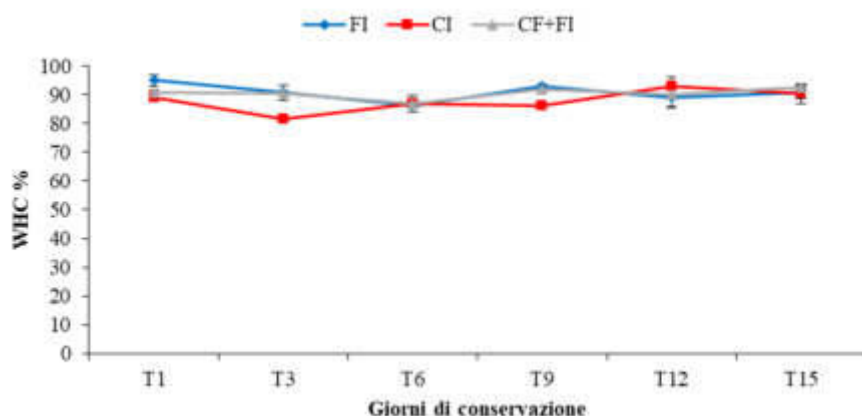


Figura 45. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) dei filetti di esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 29. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della WHC mostrati in Figura 45

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	c/B	b/B	a	b/B	a	b
CI	bc/A	a/A	b	b/A	d	c
CF+FI	b/A	b/B	a	b/B	b	c

Lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Contenuto di Sodio

Il contenuto di Sodio determinato sui filetti di *S. aurata* è mostrato in Figura 46.

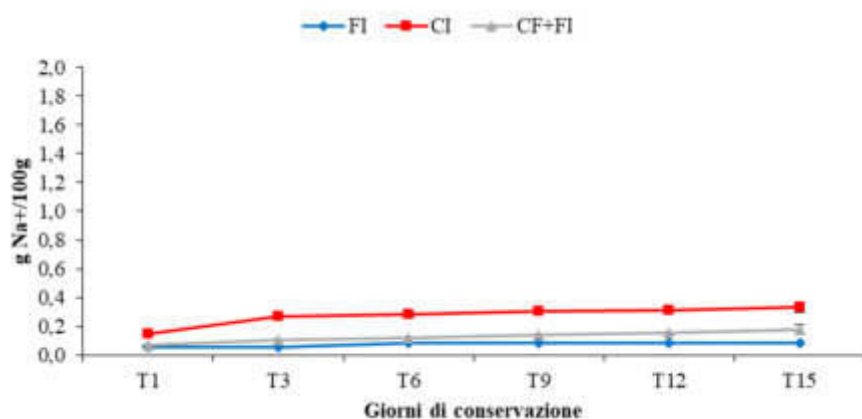


Figura 46. Contenuto di sodio (g Na+/100g) dei filetti di esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e Baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 30. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del Sodio mostrati in Figura 46

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a/A	a/A	b/A	b/A	b/A	b/A
CI	a/C	b/C	bc/C	c/C	cd/C	d/C
CF+FI	a/B	b/B	b/B	c/B	cd/B	d/B

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B, C) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

È possibile osservare come i campioni conservati in CI abbiano mostrato un più elevato contenuto di Sodio, che aumenta, inoltre, significativamente ($p < 0,05$) durante la *shelf life*. Questi dati sembrano trovare una giustificazione nel mezzo di conservazione utilizzato, una miscela omogenea di piccole particelle di ghiaccio e di liquido di trasporto costituito da acqua di mare, la cui funzione è quella di abbassare il punto di congelamento [76–80]. Inoltre trovano riscontro con quanto riportato in letteratura, relativamente agli effetti di questo sistema di conservazione in ghiaccio che favorisce l'assorbimento di sodio da parte del pesce, in quantità fortemente correlata con il tempo totale di immersione nella salamoia refrigerata [78,80]. Proprio la forte penetrazione del sale nel muscolo del pesce conservato in tale tipologia di ghiaccio, per un periodo di tempo, viene indicata da alcuni autori [16] come un effetto limitante della sua applicabilità alla conservazione a breve termine di alcune specie ittiche, tra cui *S. aurata*.

Attività dell'acqua (*aw*)

In Figura 47 sono mostrati i valori relativi al parametro *aw* rilevati sui filetti di orata durante la *shelf life*. Nessuna differenza significativa è stata osservata tra i tre diversi tipi di conservazione in ghiaccio.

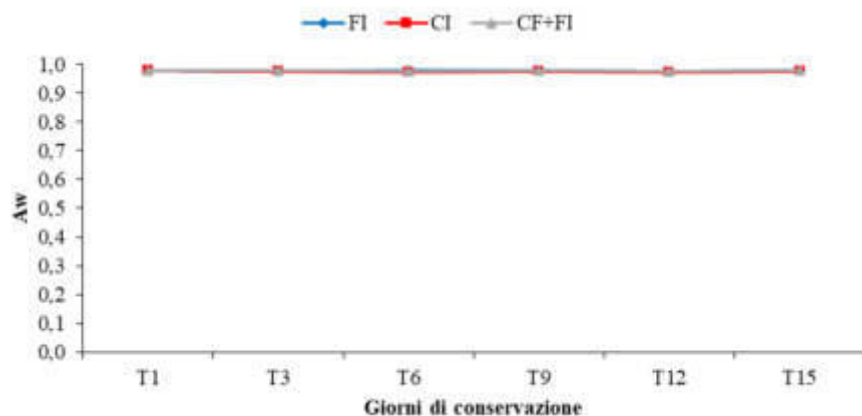


Figura 47. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) dei filetti di esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Allo stesso modo, nel corso dei 15 giorni di valutazione della *shelf life*, non sono state osservate variazioni significative dei dati rilevati nei campioni mantenuti in FI, CI e CF+FI. Tale andamento, così come i valori osservati nel corso del presente studio, risultano confrontabili con quanto riportato in letteratura in esemplari di *S. aurata* conservati in ghiaccio per un periodo di 15 giorni [109,116]. Tale parametro descrive la quantità di acqua disponibile per l'idratazione dei materiali; [109,116]. Il controllo dell'attività dell'acqua (piuttosto che il contenuto d'acqua) nel corso della conservazione dei prodotti ittici è importante, poiché una bassa attività dell'acqua impedisce la crescita microbica (aumentando la durata di conservazione). In diversi casi, l'*aw* è il parametro principale responsabile della stabilità degli alimenti, modulando la risposta microbica sia in termini quantitativi che qualitativi insieme agli altri fattori che influenzano la crescita, la morte e la sopravvivenza microbica nei prodotti alimentari (temperatura, ossigeno, disponibilità di nutrienti, acidità e pH, presenza di inibitori naturali o inibitori aggiunti, ecc.) [117].

TVBN

I risultati ottenuti durante la prova di conservabilità (Figura 48) hanno evidenziato che all'inizio della prova, in tutte e tre le tipologie di conservazione, i valori di TVBN rilevati negli esemplari di *S. aurata* sono confrontabili con quanto osservato, per la stessa specie da Tejada e Huidobro [118]. Il contenuto di TVBN, inoltre non ha mai raggiunto il limite di 30-35 mg/100 g di parte edibile, considerato come il limite di accettabilità [62], a fronte di un contenuto di TVBN tipicamente tra 5 e 20 mg/100 g nei pesci appena pescati [119].

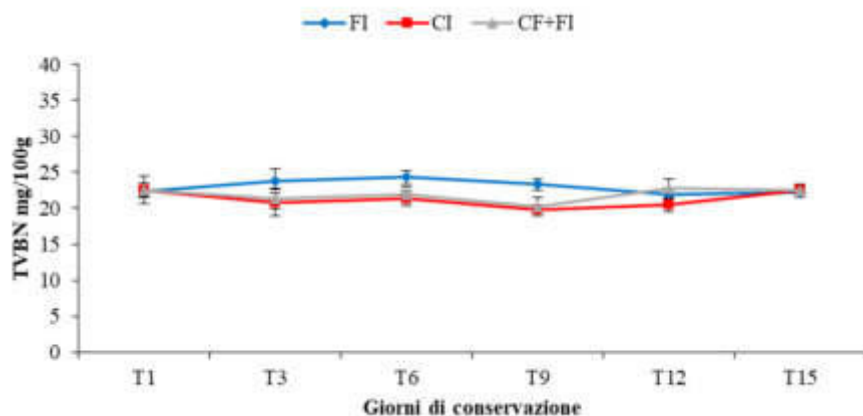


Figura 48. Andamento dei valori di TVBN dei filetti di esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CF+FI).

Tabella 31. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 48

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a	ab	b/B	ab/B	a	ab
CI			A	A		
CF+FI			A	A		

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Il contenuto di TVBN, durante la *shelf life*, non ha mostrato differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) negli esemplari conservati in CI e CF+FI fino al termine della prova (Tabella 31). Mentre gli esemplari conservati in FI dopo 6 e 9 giorni di conservazione hanno presentato i contenuti di TVBN significativamente più elevati (Tabella 31).

MDA

Il contenuto di MDA è un indicatore del processo di ossidazione secondaria della componente lipidica dei prodotti ittici [120,121]. I valori di MDA osservati negli esemplari di *S. aurata* (Figura 49) nella fase iniziale della conservazione (T1) sono stati pari a $0,30 \pm 0,05$ (FI), $0,19 \pm 0,06$ (CI) e $0,29 \pm 0,07$ (CF+FI) mg MDA/kg. Alla fine del periodo di conservazione (T15) i valori di MDA sono aumentati significativamente (Figura 49 e Tabella 32) in ognuna delle tre diverse tipologie di conservazione in ghiaccio e sono risultati pari rispettivamente a $1,32 \pm 0,10$ (FI), $0,73 \pm 0,07$ (CI) e $0,79 \pm 0,25$ (CF+FI) mg MDA/kg. I dati ottenuti sono comunque paragonabili a quanto riportato in letteratura da Cakli *et al.* [109].

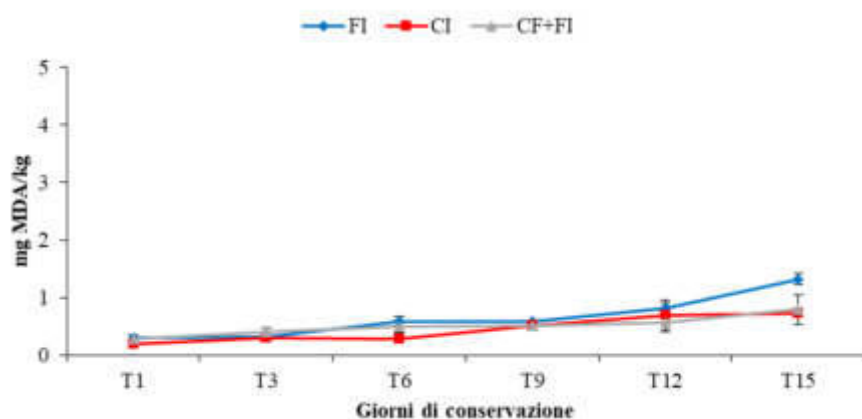


Figura 49. Andamento dei valori di MDA dei filetti di esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 32. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 49

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a/B	a	b/B	b	c	d/B
CI	a/A	a	a/A	b	c	c/A
CF+FI	a/B	ab	ab/B	ab	b	c/A

Lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Al termine del periodo di valutazione della *shelf life*, gli esemplari di *S. aurata* conservati in CI e in CF+FI hanno mostrato valori di MDA significativamente più bassi ($p < 0,05$) rispetto agli esemplari conservati con FI (Figura 49 e Tabella 32).

Tuttavia, i risultati da noi ottenuti, nel corso del presente studio (< 2 mg MDA/kg), non hanno mai superato i limiti di accettabilità suggeriti in letteratura per alcune specie ittiche (da 5 a 8 mg MDA/kg) [122,123], tenuto conto anche che per il pesce fresco, i limiti di MDA, indice della degradazione della componente lipidica, non sono ancora stabiliti da un punto di vista normativo [121,124].

Analisi microbiologiche

Le analisi microbiologiche sono state condotte dal Laboratorio Idrolab Consult s.a.s, a cui venivano consegnati, da parte di operatori della Bio&Tec Soc. Coop. arl, durante la valutazione della *shelf life* i campioni di pesce opportunamente prelevati e conservati. I risultati delle valutazioni microbiologiche, condotte con metodologie accreditate, sono riportati nel rapporto di prova corrispondente all'allegato 5.

I risultati delle analisi microbiologiche sono mostrati in Figura 50 e mettono in evidenza come, negli esemplari mantenuti in CI la conta microbica abbia presentato valori significativamente inferiori rispetto agli esemplari sottoposti al trattamento FI e CI+FI fino a 12 giorni di conservazione. Tuttavia per l'intero periodo di *shelf life*, nessuno dei campioni analizzati, ha presentato valori superiori al limite normativo della conta dei microorganismi a 30 °C, indicato in 10^6 cfu/g (6 log cfu/g) nel Regolamento CE 2073/2005 e ss.mm (Figura 50) [94].

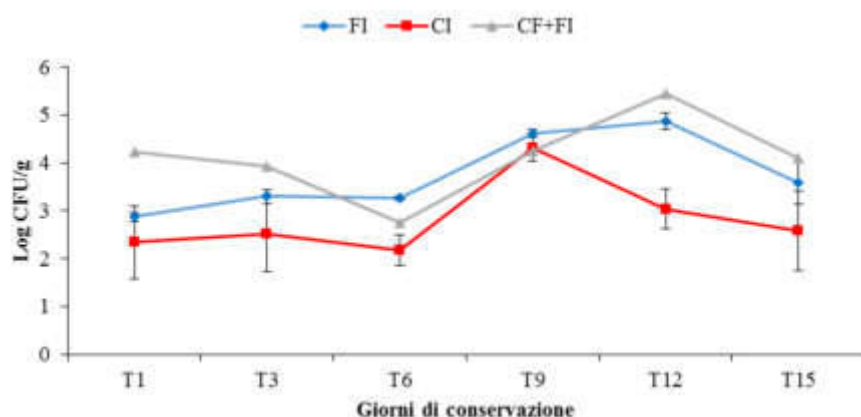


Figura 50. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g dei filetti di esemplari di *S. aurata* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baciatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). (Allegato 5: Esame microbiologico *S. aurata*: Conta dei microrganismi a 30 °C)

Tabella 33. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologiche mostrati in Figura 50

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a/A	a/A	a/C	c	c/B	b
CI	a/A	a/A	a/A	c	b/A	b
CI+FI	b/B	b/B	a/B	b	c/C	b

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Lettere diverse maiuscole (A, B, C) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

L'analisi microbiologica viene considerata un utile strumento per la valutazione della qualità e della *shelf life* dei prodotti ittici, tenuto conto, inoltre, che l'attività microbica contribuisce inevitabilmente a limitare la conservazione in regime di refrigerazione post-cattura di tali prodotti. In letteratura viene suggerito come limite di accettabilità, relativamente alla conta dei batteri mesofili, nei prodotti della pesca, il valore di 10^7 cfu/g (7 log cfu/g), mentre valori nell'intervallo di 2-4 log CFU/g vengono suggeriti come tipici dei prodotti ittici freschi, e una carica microbica iniziale più elevata riduce la durata di conservazione del pesce [1].

Conclusione

Il confronto tra le diverse tipologie di ghiaccio utilizzate per la conservazione degli esemplari di *S. aurata*, ha messo in evidenza che campioni mantenuti in FI hanno presentato caratteristiche sensoriali migliori, mentre i campioni conservati in CI si presentavano congelati al prelievo dal ghiaccio, così come riportato nelle note dei valutatori nel corso dell'analisi sensoriale. La valutazione delle caratteristiche di qualità del prodotto ha consentito di osservare che le diverse metodiche di conservazione in ghiaccio non hanno influito sull'andamento dei parametri strumentali analizzati. Tuttavia, l'effetto del congelamento dello strato superficiale del filetto degli esemplari conservati in CI, a conferma dello stato di congelamento, al prelievo, di tali esemplari, come osservato anche in altre specie conservate in ghiaccio, ha avuto un impatto significativo sulla luminosità (parametro L^*) [3,69].

La conservazione in CI ha avuto un effetto positivo sulla *shelf life*, relativamente i processi di degradazione della componente azotata e lipidica, che sembrano essere stati rallentati come mostrato dai risultati dell'analisi del TVBN e MDA.

Allo stesso modo, il trattamento in CI ha avuto un effetto positivo nel rallentare lo sviluppo microbico fino a dodici giorni di conservazione in confronto agli esemplari conservati in FI e in CI+FI.

In conclusione è possibile affermare che il trattamento con ghiaccio innovativo degli esemplari di *S. aurata*, sebbene non sia stata riportata alcuna estensione della durata di conservazione da un punto di vista sensoriale, ha mostrato alcuni effetti positivi sul mantenimento della qualità e della freschezza. Anche per questa specie risulta evidente l'esigenza di intervenire sul processo di produzione e mantenimento del CI per garantire temperature più consone alla coibentazione di questi prodotti, in considerazione del fatto che i campioni conservati in CI si presentavano congelati al prelievo dal ghiaccio, così come riportato nelle note dei valutatori, nel corso dell'analisi sensoriale negli esemplari trattati con CI. Una riflessione andrebbe fatta anche sull'aumento osservato del contenuto di sodio nel periodo di *shelf life*, dovuto, come evidenziato in letteratura [76–80], alla natura stessa del ghiaccio fluido.

Inoltre per quanto riguarda gli esemplari CF+FI, i risultati ottenuti non hanno evidenziato effetti sulla *shelf life* degli esemplari di *S. aurata*, oggetto dello studio. A tal proposito, in letteratura viene riportato che, sebbene in alcuni casi l'uso di *slurry ice* per l'uccisione del pesce possa essere correlato ad una migliore qualità del prodotto e della sua *shelf life*, tuttavia non ci sono sufficienti informazioni per confermare che comporti una rapida perdita di coscienza del pesce, fino alla morte, evitando una condizione di stress che influisce inevitabilmente sulla qualità finale del prodotto [79].

Micropterus salmoides

Le analisi sono state condotte su esemplari di *M. salmoides* che presentavano un peso corporeo umido totale pari a $357,08 \pm 23,03$ g e una lunghezza totale pari a $28,02 \pm 0,97$ cm.

Temperatura

In esemplari di *M. salmoides*, conservati con diverse tipologie di ghiaccio, è stata monitorata la temperatura al core per l'intero periodo di conservazione (Figura 51).

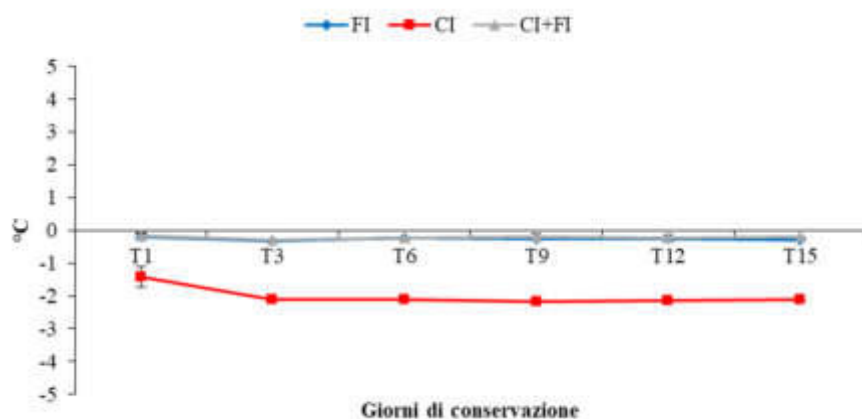


Figura 51. Temperatura al core degli esemplari di *M. salmoides* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 34. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 51

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	b/B	a/B	ab/B	ab/B	ab/B	ab/B
CI	b/A	a/A	a/A	a/A	a/A	a/A
CF+FI	b/B	a/B	ab/B	ab/B	ab/B	b/C

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B, C) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

È stato osservato come gli esemplari posti in CI abbiano mantenuto temperature al core significativamente più basse ($p < 0,05$) durante tutta la *shelf life*, rispetto agli esemplari conservati in FI e in CF+FI (Figura 51 e Tabella 34). Tale osservazione ha confermato gli effetti attesi del CI, osservati in letteratura anche dallo *shurry ice*, tipologia di ghiaccio costituita da piccole particelle di ghiaccio sferico immerse in acqua di mare a temperatura sottozero [23,79]. Non sono state, invece, osservate differenze significative tra le temperature rilevate negli esemplari FI e CF+FI e tale dato trova giustificazione nella stessa tipologia di ghiaccio utilizzata per la conservazione (il tradizionale ghiaccio a scaglie), che ha permesso di mantenere il pesce a temperature prossime allo 0 °C (Figura 51 e Tabella 34).

Analisi sensoriale

I risultati dell'analisi sensoriale, condotta sugli esemplari di *M. salmoides* mantenuti in FI, CI e CF+FI, sono mostrati in Figura 52.

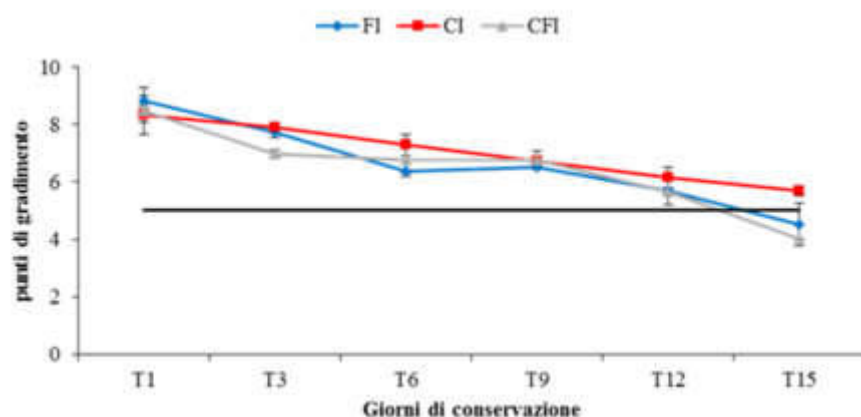


Figura 52. Valutazione sensoriale degli esemplari di *M. salmoides* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baitatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CF+FI). La linea continua nera (—) indica il limite di accettabilità come riportata da Ju et al. [53].

Tabella 35. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della analisi sensoriale mostrati in Figura 52

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	e	d/B	c/A	c	b	a/A
CI	f	e/B	d/B	c	b	a/B
CF+FI	d	c/A	c/A	c	b	a/A

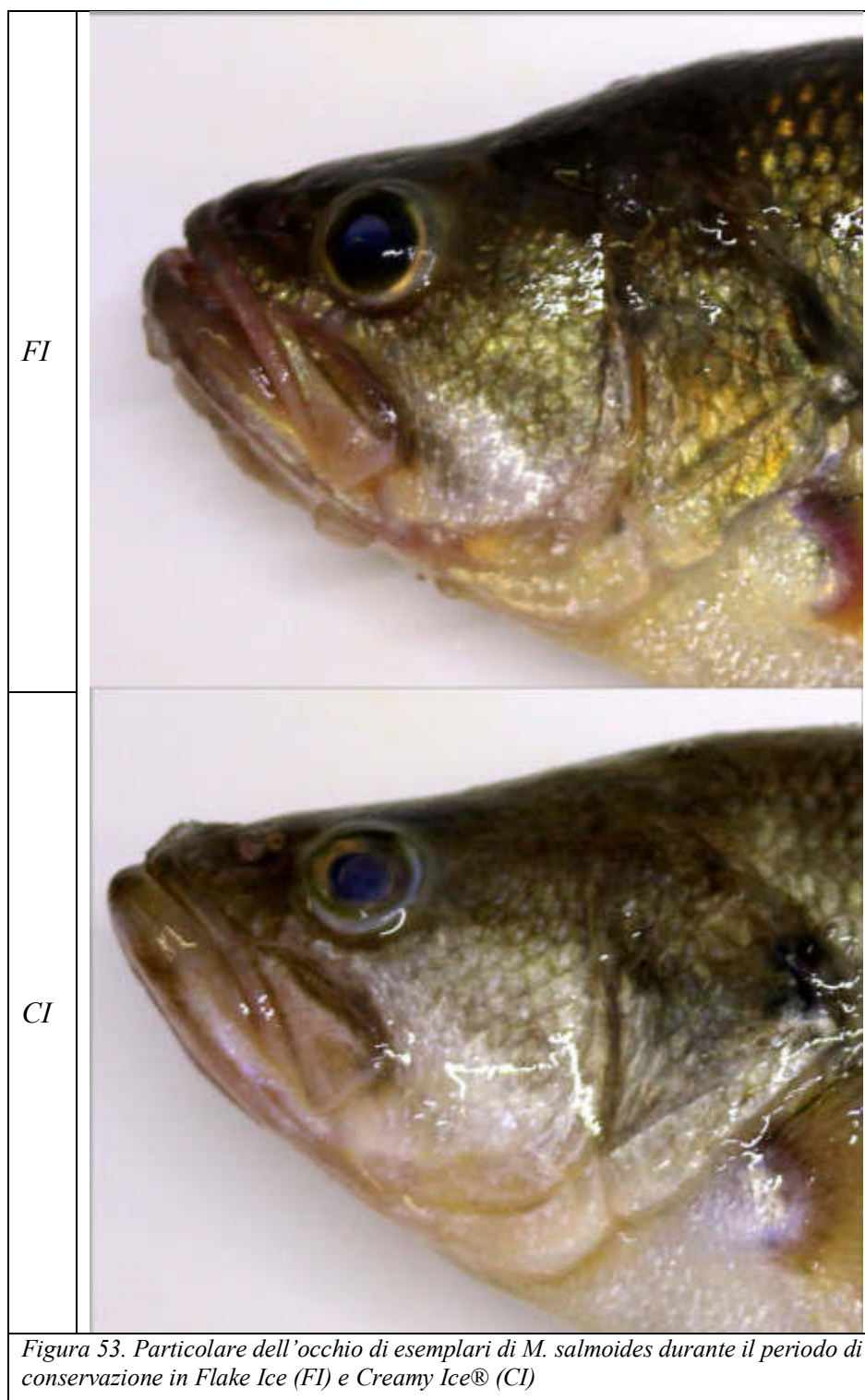
Le lettere diverse minuscole (a, b, c...f) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

L'utilizzo di quattro attributi: colore, odore, aspetto e elasticità del muscolo, con un punteggio di gradimento da 10 a 0 [53], ha consentito di osservare che già dopo tre giorni di conservazione, gli esemplari FI e CI, hanno presentato un punteggio superiore rispetto agli esemplari CF+FI ($p < 0,05$) (Figura 52 e Tabella 35). Tali differenze significative sono state determinate principalmente dalla rilevante variazione dell'odore degli esemplari CF+FI. Allo stesso modo, dopo sei giorni di conservazione, gli esemplari CI hanno mostrato le migliori caratteristiche ($p < 0,05$) sensoriali, principalmente a seguito del maggior punteggio di gradimento assegnato agli attributi odore e aspetto del muscolo (Figura 52 e Tabella 35).

I punteggi di gradimento degli esemplari mantenuti in FI, CI e CF+FI hanno raggiunto alla fine della *shelf life* (T15) rispettivamente 4,53, 5,69 e 4,03 punti. I campioni FI e CF+FI, dopo 15 giorni, hanno superato il limite di accettabilità, suggerito in letteratura [53], mentre gli esemplari conservati con CI non hanno superato tale limite (Figura 52).

Gli esemplari conservati in CI hanno mostrato, al termine della prova di conservazione, le migliori caratteristiche sensoriali rispetto agli esemplari mantenuti in FI e CF+FI ($p < 0,05$). Tuttavia, va sottolineato che, il confronto delle tre diverse tipologie di trattamento, durante tutta la *shelf life*, ha consentito di rilevare che gli esemplari conservati in CI, si sono caratterizzati per la presenza di abbondante muco sulla superficie del filetto che è al momento del prelievo per l'analisi sensoriale, si presentavano congelati visibile anche da una maggiore opacità dell'occhio (Figura 53).



In Figura 54 sono mostrate le foto degli esemplari utilizzati per l'analisi sensoriale.

	FI	CI	CF+FI
T1			
T3			
T6			

T9			
T12			
T15			
Figura 54. Esempolari di <i>M. salmoides</i> durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiaitura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).			

Analisi fisico-chimiche correlate alla shelf life

Colore

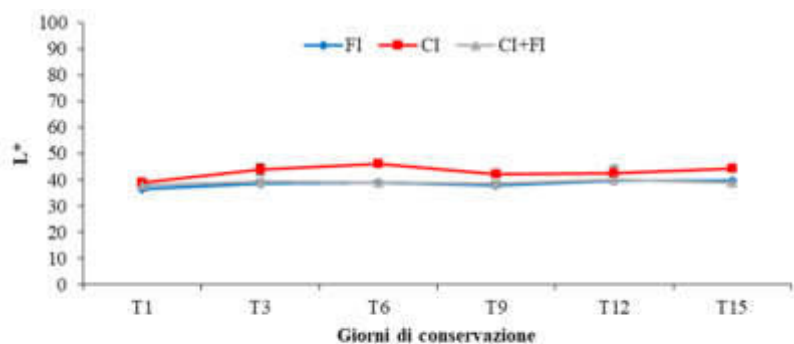
I risultati dell'analisi strumentale del colore, in termini di coordinate L*, a* e b*, differenza del colore totale (ΔE) e indice di bianchezza (WI), ottenuti dai filetti di *M salmoides* sono mostrati in Figura 55.

Tabella 36. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 55

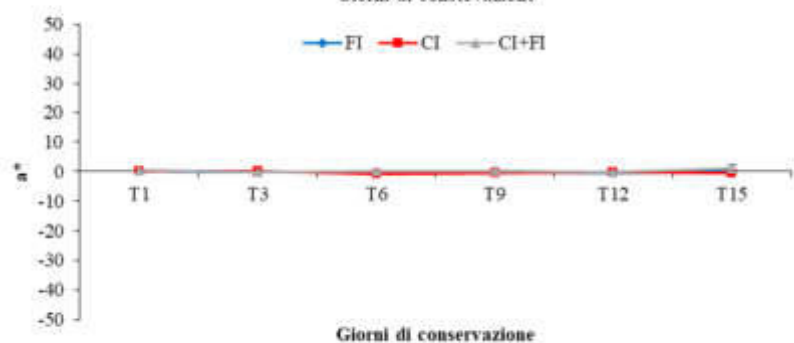
	L*					
	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a/A	b/A	b/A	ab/A	b/A	b/A
CI	a/B	bc/B	b/B	c/B	abc/A	bc/B
CF+FI	AB	A	A	A	A	A
	ΔE					
	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a	b/A	b/A	b	b	b/A
CI	a	b/B	b/B	b	b	b/B
CF+FI	a	b/A	b/A	b	b	b/A
	WI					
	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a/A	b/A	b/A	ab/A	b/A	b/A
CI	a/B	bc/B	c/B	b/B	bc/B	bc/B
CF+FI	A	A	A	A	A	A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

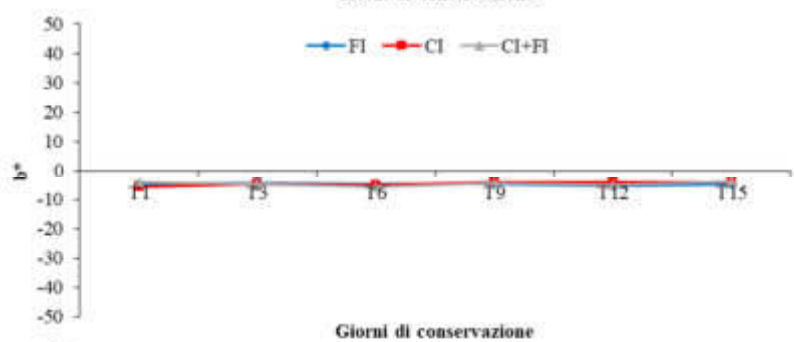
Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.



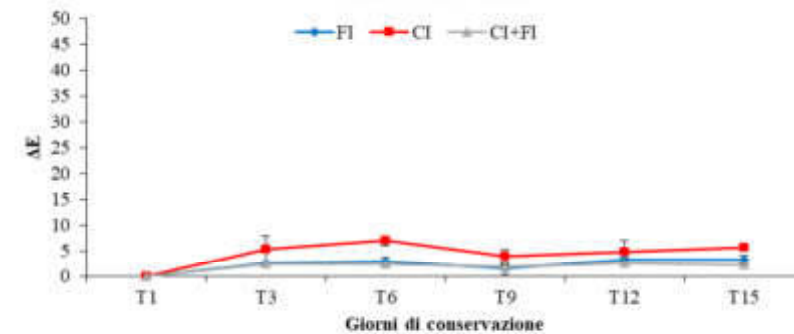
a



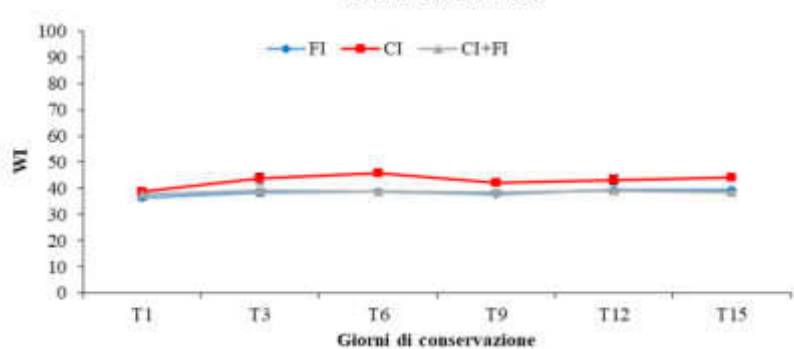
b



c



d



e

Figura 55. Analisi del colore dei filetti di esemplari di M. salmoides durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). a) Andamento dei valori del parametro L; b) Andamento dei valori del parametro a*; c) Andamento dei valori del parametro b*; d) Andamento dei valori del parametro ΔE; e) Indice di bianchezza (WI).*

L'andamento del parametro L* (Luminosità) del filetto, durante la *shelf life*, di esemplari conservati in CI, mostra valori significativamente più alti ($p < 0,05$) rispetto ai campioni conservati in FI e CF+FI (Figura 55a e Tabella 36). Questo dato potrebbe dipendere dall'effetto del congelamento del CI, come dimostrato, su specie diverse, nel corso di altri studi [69]. Infatti, è stato osservato che in filetti di salmone congelati il tasso di congelamento nello strato superficiale ha un effetto significativo sul valore di luminosità; questo valore risulta tanto più alto quanto più piccoli sono i cristalli di ghiaccio presenti sulla superficie del filetto [69].

In Figura 55b è mostrato l'andamento del parametro a*. Questo parametro, che assume valori positivi per i colori tendenti al rosso e valori negativi per quelli tendenti al verde [107], non ha evidenziato differenze significative né durante la *shelf life* né tra i diversi trattamenti, mostrando valori intorno allo 0 (Figura 55b). Allo stesso modo non si sono osservate differenze significative per il parametro b* (Figura 55c) (*yellowness*, con valori positivi per i colori tendenti al giallo e valori negativi per quelli tendenti al blu [107]).

La differenza di colore totale ΔE (Figura 55d), che indica la misura della variazione di colore tra le coordinate di colore iniziali (T1) e quelle rilevate successivamente [107,125], ha mostrato differenze significative ($p < 0,05$) solo all'inizio della *shelf life*, dove, per tutti e tre i trattamenti, si osserva un aumento del ΔE al T3 (Figura 55d). Tra i tre diversi metodi di conservazione si osservano differenze significative ($p < 0,05$); in particolare al T3 T6 e T15, gli esemplari conservati in CI hanno presentato un ΔE maggiore ($p < 0,05$) ascrivibile al parametro L*, come osservato in Figura 55a.

Infine in Figura 55e sono mostrati i cambiamenti del parametro *Whiteness* (WI - proprietà colorimetrica ricavata dalle misure tricromatiche ottenute con l'analisi del colore [54]) dei filetti di *M. salmoides*, durante la *shelf life*. Per i filetti conservati con il CI, è stato osservato un aumento significativo ($p < 0,05$) della WI rispetto al T1 dopo 3 giorni di conservazione ($p < 0,05$) (Figura 55e e Tabella 36); i valori si sono poi mantenuti costanti fino alla fine della conservazione. Analogamente anche la WI dei filetti conservati in FI è aumentata significativamente ($p < 0,05$) dal T1 al T3 e non ha mostrato variazioni significative successive. Per quanto concerne i filetti CF+FI non sono state osservate variazioni significative del parametro WI durante la *shelf life*. È inoltre, importante sottolineare che la tipologia di conservazione ha influito sull'andamento del parametro WI, in quanto gli esemplari mantenuti in CI hanno presentato valori significativamente ($p < 0,05$) più elevati rispetto alle altre due tipologie di trattamento (FI e CF+FI) (Figura 55e e Tabella 36).

Questa osservazione, relativa ai campioni mantenuti in CI, potrebbe essere attribuita alle basse temperature raggiunte con tale mezzo di conservazione. Risultati simili sono stati ottenuti, infatti, da Liu *et al.* [3] sui filetti di carpa conservati a $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (superchilling) rispetto alla conservazione in ghiaccio a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Il rapido incremento della WI nei filetti conservati alle più basse temperature, può essere causato dai cambiamenti nella dispersione e nella riflessione della luce a seguito dei danni della struttura dei tessuti sottoposti al super-raffreddamento [3].

In aggiunta le variazioni della WI riflettono quelle del parametro L* (Figura 55a e Tabella 36), a conferma di quanto osservato su altre specie [126] nelle quali è stato osservato un valore di L* più elevato a temperature di conservazione più basse ($-3,6\text{ }^{\circ}\text{C}$) a causa della formazione di macchie bianche più intense sulla superficie del filetto [126].

Tessitura

In Figura 56 sono mostrati i risultati della tessitura in termini di Modulo di Young (N/mm^2) e *Hardness* (N).

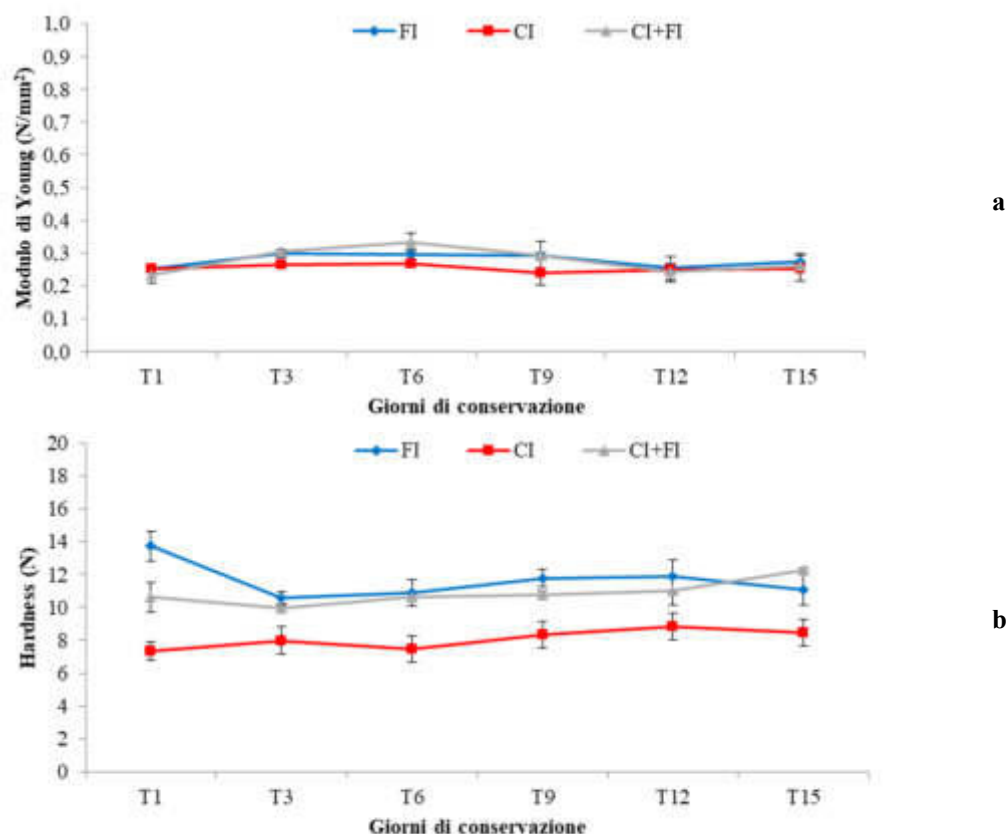


Figura 56. Analisi della tessitura dei filetti di esemplari di *M salmoides* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baciatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.

Tabella 37. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'Hardness mostrati in Figura 56b

	Hardness					
	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	b/C	a/B	a/B	a/B	a/B	a/B
CI	A	A	A	A	A	A
CF+FI	B	B	B	B	B	B

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B, C) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

Il Modulo di Young (Figura 56a), definito anche modulo di deformabilità, non ha mostrato differenze significative tra i diversi tipi di conservazione e durante la *shelf life* (Figura 56a).

Differenze significative sono state, invece, osservate per la durezza (*Hardness* - Figura 56b e Tabella 37) ($p < 0,05$). Gli esemplari di *M salmoides* conservati in FI e CF+FI, hanno mostrato valori di *Hardness* significativamente più elevati ($p < 0,05$) rispetto agli esemplari conservati in CI per tutta la durata della *shelf life* (Figura 56b).

Le differenze significative osservate sull' *Hardness* dei filetti possono essere legati a vari fattori intrinseci ed estrinseci, come la perdita di acqua dal muscolo e danni alla struttura del tessuto muscolare [127,128]. In particolare i valori significativamente più bassi di *Hardness* registrati negli

esemplari conservati nel CI possono anche essere attribuiti ai danni strutturali del tessuto muscolare causati dal super raffreddamento del CI, come osservato anche da Liu *et al.* [3] nella carpa.

pH

I cambiamenti nei valori di pH dei filetti di *M. salmoides* durante la *shelf life* sono mostrati in Figura 57.

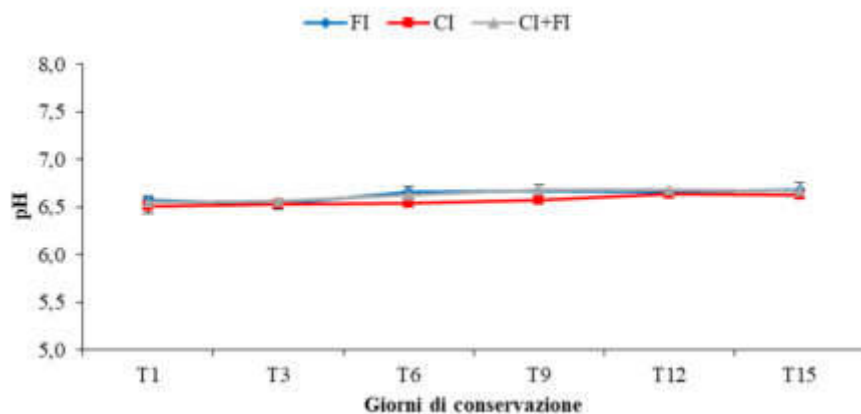


Figura 57. Valori di pH dei filetti di esemplari di *M. salmoides* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 38. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 57

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a	a	b/B	b/B	b	b
CI	a	a	ab/A	ab/A	b	b
CF+FI	a	a	bc/B	c/B	c	c

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B, C) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

In tutte e tre le tipologie di conservazione (FI, CI e CI+FI) è stato osservato un aumento del pH durante la *shelf life* ($p < 0,05$) (Tabella 38)

Gli esemplari conservati in CI al T6 e al T9 hanno mostrato valori significativamente più bassi ($p < 0,05$) rispetto al FI e al CF+FI, suggerendo che le temperature più basse, raggiunte dagli esemplari in CI, consentono un migliore controllo dell'attività enzimatica endogena e microbica che si riflette in un incremento del pH [88].

Il valore del pH è considerato un parametro importante per valutare il deterioramento del pesce, e cambiamenti inferiori o uguali a 0,1 unità indicano una qualità di primo grado, mentre i cambiamenti nell'intervallo di 0,1-0,2 unità sono indicati come una qualità accettabile, con quelli superiori a 0,2 unità che suggeriscono un deterioramento [3,129]. Negli esemplari analizzati dall'inizio alla fine della *shelf life* le variazioni di unità di pH sono comprese nell'intervallo di 0,1-0,2 unità in tutte e tre le tipologie di conservazione (Figura 57).

Water Holding Capacity

La capacità di trattenere l'acqua (WHC) insieme all' *Hardness* sono importanti parametri di qualità [114].

Elevati valori tissutali di WHC nei prodotti ittici, sono considerati un requisito di qualità nell'industria di trasformazione, in quanto può influenzare direttamente la redditività dei produttori e la percezione dei consumatori sull'aspetto e la consistenza [115].

I cambiamenti nella WHC rilevati nel corso della *shelf life* sono mostrati in Figura 58.

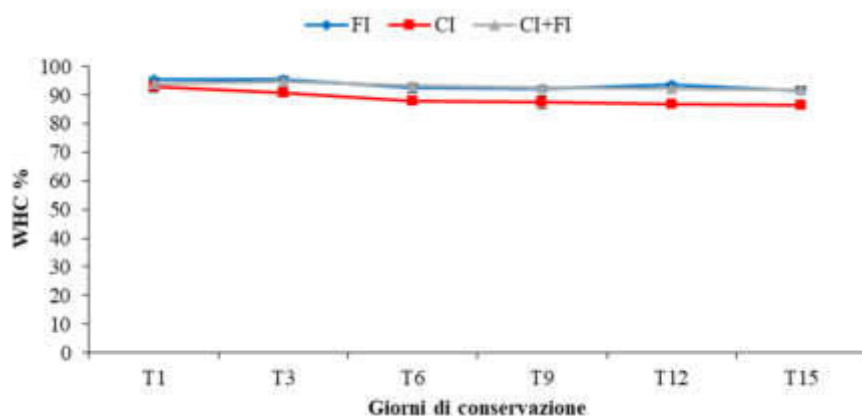


Figura 58. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) dei filetti di esemplari di *M salmoides* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 39. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della WHC mostrati in Figura 58

	WHC					
	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	c/B	c/B	ab/B	a/B	b/B	a/B
CI	c/A	b/A	a/A	a/A	a/A	a/A
CF+FI	bc/A	c/B	abc/B	ab/B	ab/B	a/B

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

La WHC è diminuita significativamente ($p < 0,05$) durante tutta la *shelf life* in tutte le tre tipologie di conservazione; a conferma di come la perdita di liquidi e della consistenza del tessuto muscolare del pesce siano inevitabili nel processo di conservazione in ghiaccio [114].

Gli esemplari conservati in CI hanno mostrato una significativa minore capacità di trattenere l'acqua ($p < 0,05$) rispetto a quelli conservati in FI e CF+FI (Figura 58 e Tabella 39). Questi risultati sono correlabili alle osservazioni relative all'*Hardness* (Figura 56b) e confermano come il congelamento dei tessuti degli esemplari conservati in CI, abbia alterato la struttura del tessuto portando ad una riduzione della consistenza (Figura 56b), e ad una minore capacità del tessuto di trattenere l'acqua (Figura 58). Le basse temperature registrate nei campioni mantenuti in CI e il loro conseguente congelamento, infatti, ha portato alla formazione di cristalli di ghiaccio nel tessuto; tale osservazione induce a ritenere un probabile danno della struttura del tessuto muscolari e la denaturazione delle proteine come riportato in letteratura [130].

Contenuto di Sodio

In Figura 59 è mostrato il contenuto di sodio determinato sui filetti di *M. salmoides*.

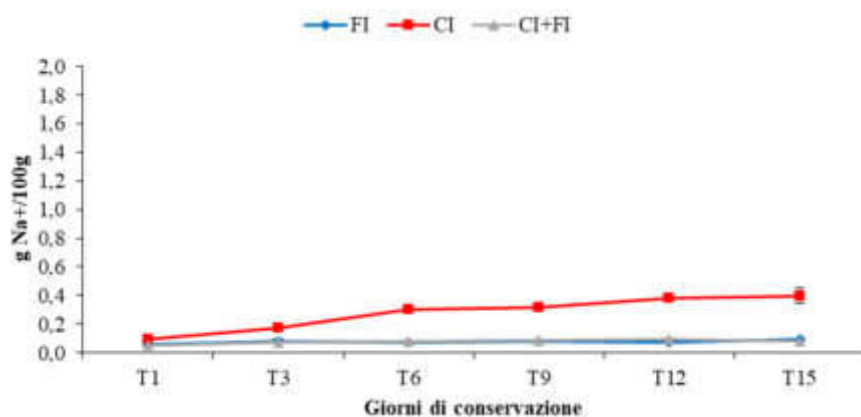


Figura 59. Contenuto di sodio (g Na+/100g) dei filetti di esemplari di *M. salmoides* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 40. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del sodio mostrati in Figura 59

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a/A	b/A	b/A	b/A	b/A	c/A
CI	a/B	b/B	c/B	c/B	d/B	d/B
CF+FI	a/A	b/A	b/A	c/A	c/A	c/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

Gli esemplari conservati in CI hanno mostrato un contenuto di sodio significativamente più elevato ($p < 0,05$) rispetto agli esemplari conservati in FI e CF+FI durante tutta la *shelf life* (Figura 59 e Tabella 40). Il maggior contenuto di sodio rilevato negli esemplari conservati in CI, dipende dal mezzo di conservazione, che presenta una concentrazione di Na^+ superiore a quella presente nel FI.

In letteratura viene riportato che questo sistema di conservazione favorisce l'assorbimento di sodio da parte del pesce in quantità fortemente correlata con il tempo totale di immersione del pesce nella salamoia refrigerata [76–80].

Attività dell'acqua (*aw*)

In Figura 60 sono mostrati i valori di *aw* rilevati sui filetti di *M. salmoides* durante la *shelf life*.

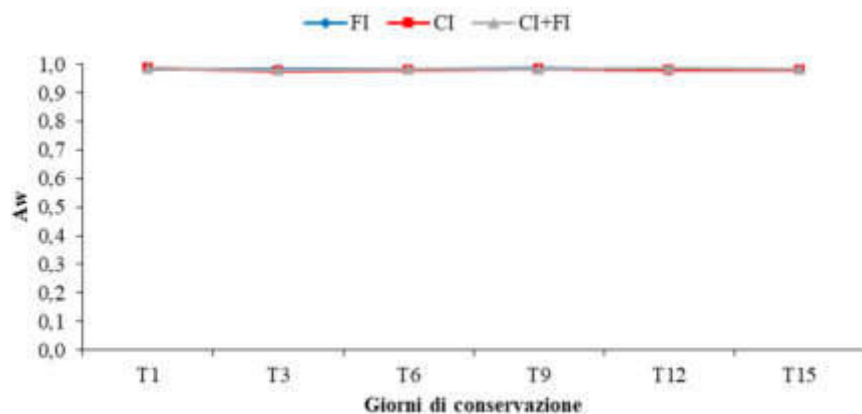


Figura 60. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) dei filetti di esemplari di *M. salmoides* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e batura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 41. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati di aw mostrati in Figura 60

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	ab	b	b	b	a/A	b/B
CI	c	a	ab	b	ab/A	a/A
CF+FI	b	a	a	a	a/B	ab/B

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

L'aw ha un ruolo importante nel deterioramento del pesce, infatti la crescita di diversi microrganismi dipende dal valore di tale parametro e la maggior parte dei batteri non può crescere al di sotto di valori di 0,9 di aw [83]. Nel pesce appena pescato il valore di aw è superiore a 0,95 [83], come osservato anche negli esemplari oggetto dello studio (Figura 60). Infatti, i valori di aw registrati variano da 0,977 a 0,988. Durante la *shelf life*, tra i vari trattamenti non si sono osservate differenze significative, tranne a T12 e a T15, dove i filetti degli esemplari di *M. salmoides* conservati in CI hanno mostrato valori significativamente più bassi ($p < 0,05$) rispetto agli altri metodi di conservazione (Figura 60).

TVBN

Le variazioni nei valori di TVBN dei filetti di *M. salmoides* durante la *shelf life* sono mostrati in Figura 61.

Il TVBN è uno dei principali parametri utilizzato come indicatore del deterioramento del pesce ed è composto principalmente da ammoniaca, metilammina, dimetilammina e trimetilammina, derivanti dalla degradazione microbica delle proteine e dei composti azotati non proteici, come gli aminoacidi e i cataboliti nucleotidici [3]. Il limite di accettabilità del pesce magro è di 30-35 mg/100 g di pesce [62].

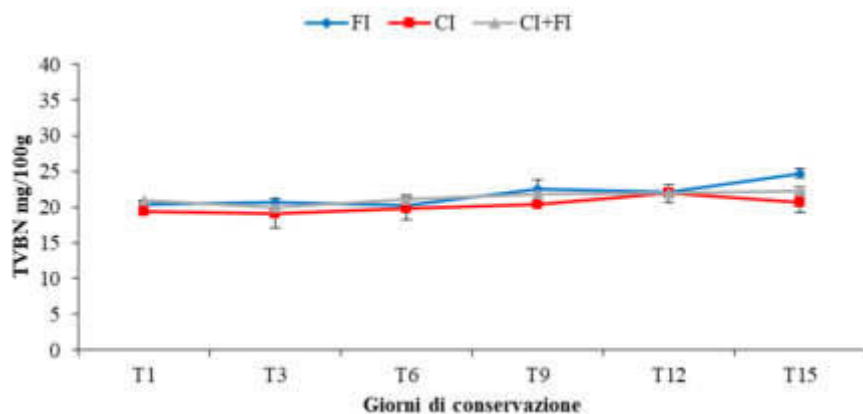


Figura 61. Andamento dei valori di TVBN dei filetti di esemplari di *M salmoides* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiaitura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 42. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 61

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a/B	a	a	b/B	b	c/C
CI	a/A	a	ab	ab/A	ab	ab/A
CF+FI	b/B	a	b	bc/B	bc	c/B

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

In questo studio, i valori di TVBN sono aumentati durante la *shelf life* raggiungendo il valore significativamente più alto ($p < 0,05$) in FI a T15 ($24,72 \pm 0,61$), non superando tuttavia il limite di accettabilità (Figura 61 e Tabella 42) [62].

I filetti ottenuti dagli esemplari mantenuti in CI hanno mostrato un contenuto di TVBN significativamente ($p < 0,05$) più basso rispetto ai filetti conservati in FI e CF+FI (Figura 61 e Tabella 42) suggerendo che le temperature più basse possano aver rallentato la degradazione della componente azotata.

Tali informazioni risultano rilevanti considerato che il TVBN è ritenuto un parametro importante per la valutazione della qualità dei prodotti ittici, strettamente correlato all'attività microbica, e il controllo di tale parametro è importante per garantire la sicurezza e prolungare la durata di conservazione dei prodotti della pesca [1].

MDA

La Figura 62 mostra l'andamento del contenuto di MDA durante la *shelf-life*.

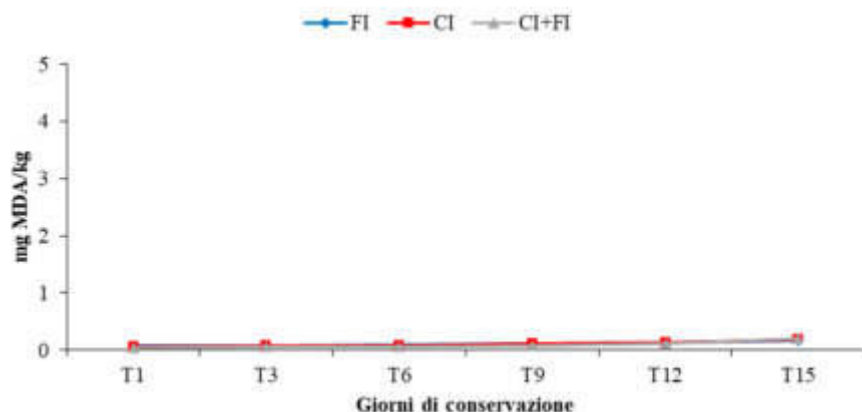


Figura 62. Andamento dei valori di MDA dei filetti di esemplari di *M salmoides* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baiatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI).

Tabella 43. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 62

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	a/B	a	b/C	bc/B	c	d
CI	a/A	b	b/B	c/ B	c	d
CF+FI	a/A	a	a/A	b/A	c	d

Le lettere diverse minuscole (a, b c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

I valori di MDA, per tutti e tre i metodi di conservazione, sono aumentati significativamente ($p < 0,05$) durante tutta la *shelf-life*, ma tuttavia non hanno superato il valore di 1 mg MDA/kg, infatti i valori ottenuti alla fine della *shelf life* erano pari a $0,16 \pm 0,01$ (FI), $0,19 \pm 0,03$ (CI) e $0,19 \pm 0,03$ (CF+FI) mg MDA/kg (Figura 62 e Tabella 43)

Allo stato attuale, i limiti di malondialdeide, indice della degradazione della componente lipidica non sono ancora stabiliti [121,124]. Comunque, in letteratura vengono suggeriti dei limiti di accettabilità per alcune specie ittiche da 5 a 8 mg MDA/kg [122,123].

I dati inducono a ritenere che le tre tipologie di conservazione in ghiaccio non abbiano influito sul processo di degradazione della componente lipidica, considerato che il contenuto di MDA, come suddetto, ha mantenuto valori al disotto dei limiti suggeriti in letteratura e che al termine della *shelf life* non sono state osservate differenze significative tra i diversi trattamenti.

Analisi microbiologiche

Le analisi microbiologiche sono state condotte dal Laboratorio Idrolab Consult s.a.s, a cui venivano consegnati, da parte di operatori della Bio&Tec Soc. Coop. arl, durante la valutazione della *shelf life* i campioni di pesce opportunamente prelevati e conservati. I risultati delle valutazioni microbiologiche, condotte con metodologie accreditate, sono riportati nel rapporto di prova corrispondente all'allegato 6.

Le analisi microbiologiche, mostrate in Figura 63, hanno messo in evidenza una crescita microbica significativamente inferiore negli esemplari mantenuti in CI nel corso della *shelf life* (T3, T12 e T15) ($p < 0,05$) (Figura 63 e Tabella 44)

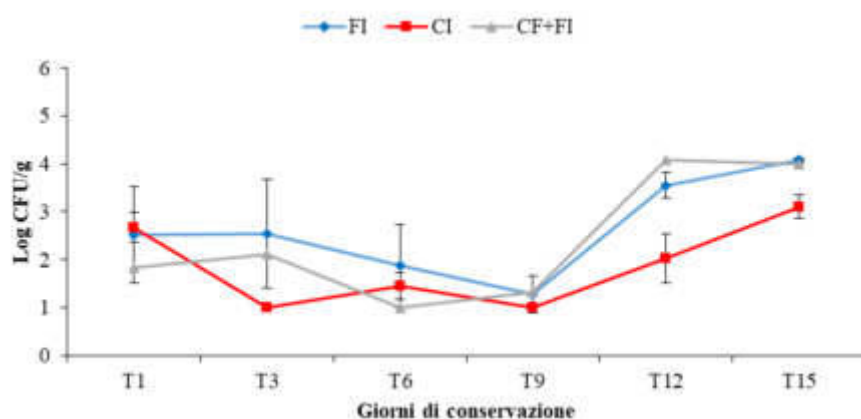


Figura 63. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g dei filetti di esemplari di *M. salmoides* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI), Creamy Ice® (CI) e baidatura in Creamy Ice® e conservazione in Flake Ice (CI+FI). (Allegato 6: Esame microbiologico *M. salmoides*: Conta dei microorganismi a 30 °C)

Tabella 44. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologiche mostrati in Figura 63

	T1	T3	T6	T9	T12	T15
FI	b	b/B	ab	a	c/B	d/B
CI	bc	a/A	a	a	b/A	c/A
CI+FI	bc	c/B	a	ab	d/B	d/B

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione.

Inoltre, la conta microbica degli esemplari mantenuti in CI, a differenza degli esemplari conservati nelle altre tipologie di ghiaccio, non ha superato i 4 log CFU/g fino a 15 giorni di conservazione, valore che viene indicato in letteratura come indice di qualità accettabile dei prodotti ittici, mentre viene suggerito come limite di accettabilità, relativamente alla conta dei batteri mesofili, nei prodotti della pesca, il valore di 10^7 cfu/g (7 log cfu/g), [1]. Infine le analisi microbiologiche hanno messo in evidenza come per l'intero periodo di *shelf life*, nessuno dei campioni analizzati, abbia presentato valori superiori al limite normativo della conta dei microorganismi a 30 °C, indicato in 10^6 cfu/g (6 log cfu/g) nel Regolamento CE 2073/2005 e ss.mm [94] (Figura 63).

Conclusione

La valutazione della *shelf life*, durante i 15 giorni di conservazione, degli esemplari di *M. salmoides* conservati con diverse tipologie di ghiaccio, ha messo in evidenza come gli esemplari conservati in CI abbiano mantenuto, fino al termine della prova, le migliori caratteristiche sensoriali rispetto agli esemplari conservati in ghiaccio a scaglie tradizionale sia FI che CF+FI. Tali osservazioni hanno trovato riscontro nella valutazione del TVBN e del pH, indicando un effetto inibente della conservazione in CI nel processo di sintesi dei composti azotati di base, che trovano riscontro nella conta microbica e influenzano le caratteristiche sensoriali e di sicurezza dei prodotti della pesca. Tali effetti positivi sono correlabili alla temperatura raggiunta con la conservazione in CI (circa -3 °C). Tuttavia, la temperatura di conservazione ha comportato, come messo in evidenza durante la

valutazione sensoriale, il congelamento degli esemplari di *M. salmoides* al momento del prelievo, per ogni tempo di campionamento, durante la *shelf life*.

Possiamo inoltre affermare che le analisi strumentali (colore e tessitura) hanno confermato il congelamento dei filetti degli esemplari conservati in CI. La presenza di cristalli di ghiaccio ha, infatti, comportato un aumento della luminosità (L^*) e della bianchezza (WI), una minore capacità di trattenere l'acqua e un peggioramento della consistenza del filetto [3,69].

Le valutazioni biochimiche e strumentali consentono inoltre di affermare che il trattamento CF+FI, per la specie oggetto di studio, che prevedeva che gli esemplari *M. salmoides* venissero abbattuti con CI e conservati in FI, non ha mostrato influire significativamente sulla qualità del prodotto rispetto agli esemplari abbattuti e conservati con FI.

In conclusione è possibile affermare che il trattamento in ghiaccio innovativo degli esemplari di *M. salmoides*, ha mostrato alcuni effetti positivi sul mantenimento della qualità e della freschezza. La conservazione in CI di tale specie, infatti, come tecnologia di conservazione a bassa temperatura, può presentare il vantaggio di preservare le caratteristiche nutrizionali e inibire la crescita microbica. Può essere considerata quindi una tecnica potenzialmente promettente.

Anche per questa specie risulta evidente l'esigenza di intervenire sul processo di produzione e mantenimento del CI per garantire temperature più consone alla coibentazione di questi prodotti, in considerazione del fatto che i campioni conservati in CI si presentavano congelati al prelievo dal ghiaccio, così come riportato nelle note dei valutatori, nel corso dell'analisi sensoriale negli esemplari trattati con CI. Una riflessione andrebbe fatta anche sull'aumento osservato del contenuto di sodio nel periodo di *shelf life*, dovuto, come evidenziato in letteratura [76–80], alla natura stessa del ghiaccio fluido.

Parapenaeus longirostris

Gli esemplari di *P. longirostris* analizzati presentavano un peso medio di $6,45 \pm 2,06$ g e una lunghezza totale pari a $10,8 \pm 1,22$ cm.

Temperatura

Durante la *shelf life*, è stata monitorata la temperatura al core degli esemplari di *P. longirostris*, conservati in FI e CI. I valori rilevati sono mostrati in Figura 64.

Rispetto alle valutazioni effettuate precedentemente con le altre specie, la produzione ed il mantenimento del CI è ha garantito una temperatura media intorno a $-1,5$ °C.

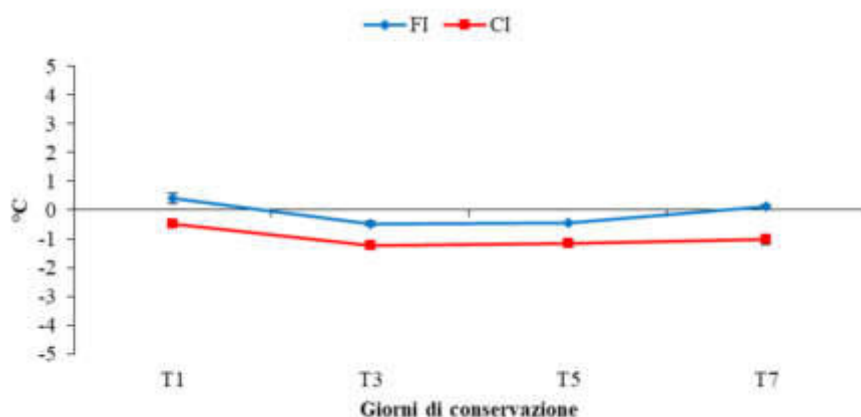


Figura 64. Temperatura al core degli esemplari di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI)

Tabella 45. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 64

	T1	T3	T5	T7
FI	b/B	a/B	a/B	b/B
CI	A	A	A	A

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

È possibile osservare come gli esemplari posti in CI abbiano mantenuto temperature significativamente più basse ($p < 0,05$) (Figura 64 e Tabella 45) rispetto agli esemplari posti in FI, in accordo con quanto osservato in letteratura anche per altre specie ittiche [12]. I risultati osservati inducono ad ipotizzare un effetto positivo dell'uso del CI sulla conservazione del gambero rosa, considerato che, come riportato in letteratura, basse temperature di conservazione consentono di ridurre nel gambero i processi di autolisi enzimatica, l'ossidazione lipidica e la degradazione microbica [131].

Analisi sensoriale

Durante la prova di *shelf life*, sono stati esaminati i cambiamenti degli attributi sensoriali degli esemplari di *P. longirostris*, conservati con FI e CI con il QIM, assegnando un punteggio di demerito da 0 a 21 [49].

Gli esemplari conservati in FI hanno mostrato una significativa perdita delle caratteristiche sensoriali tipiche del prodotto fresco, già dopo tre giorni di conservazione, raggiungendo un punteggio di demerito di $8,33 \pm 1,03$ (Figura 65 e Tabella 46); gli esemplari conservati in CI, dopo tre giorni di conservazione, hanno raggiunto un punteggio di $6,00 \pm 1,10$ (Figura 65 e Tabella 46). Negli esemplari di entrambi i trattamenti, in questo periodo, è stata osservata una perdita di luminosità, il corpo risultava leggermente opaco, con alcune macchie su testa e coda. Tuttavia, in accordo con Tam *et al.* [49], in queste condizioni la qualità dei gamberi conservati in FI e CI può essere considerata ancora buona.

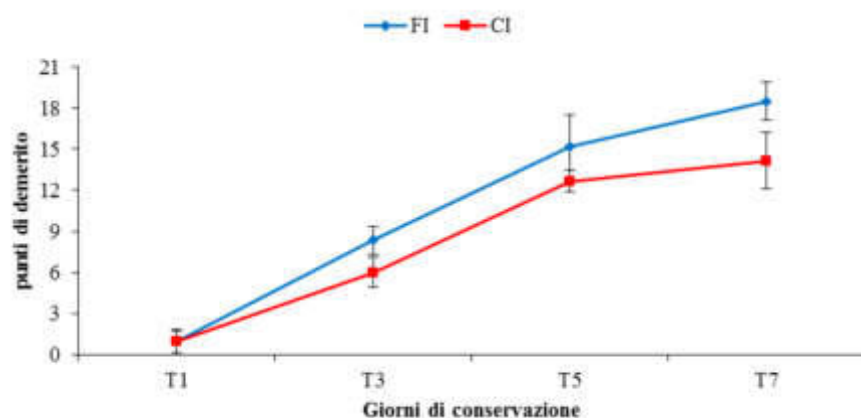


Figura 65. Valutazione sensoriale degli esemplari di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI)

Tabella 46. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi sensoriale mostrati in Figura 65

	T1	T3	T5	T7
FI	a	b/B	c/B	d/B
CI	a	b/A	c/A	c/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Dal quinto giorno di conservazione, gli esemplari conservati in FI hanno raggiunto un punteggio di $15,17 \pm 2,32$, significativamente maggiore ($p < 0,05$) rispetto a quello raggiunto dagli esemplari conservati in CI (Figura 65 e Tabella 46). In entrambi i trattamenti, sono stati osservati cambiamenti nel colore della testa e della coda, con macchie scure moderatamente presenti (Figura 65 e Tabella 46). Le caratteristiche organolettiche dei gamberi conservati sia in FI e che in CI sono diventate inaccettabili [49].

I dati ottenuti, in linea con quanto suggerito in letteratura su altre specie [49] relativamente al QIM, confermano che, per entrambi i tipi di conservazione in ghiaccio, gli esemplari di *P. longirostris* mantengono lo stato di freschezza fino a 3 giorni di conservazione (con un totale di punti di demerito inferiore a 9), presentandosi in stato accettabile fino al quinto giorno per gli esemplari conservati in CI (Figura 65 e Tabella 46). Gli esemplari conservati in FI già dopo 5 giorni erano considerati inaccettabili con valori di QIM superiori a 13 [49]. Dal 7 giorno di conservazione anche gli esemplari mantenuti in CI hanno superato il limite di accettabilità suggerito in letteratura (QIM 13) [49].

La valutazione della melanosì degli esemplari di *P. longirostris* (Figura 66 e Tabella 47) ha consentito di osservare un incremento significativo durante il periodo di conservazione sia in FI che in CI. La comparsa precoce di macchie nere sul cefalotorace dei campioni analizzati, mantenuti in FI e CI, può essere anche attribuita alla loro stagione di cattura: gli esemplari oggetto di studio sono stati infatti catturati in autunno, stagione che, come viene riportato in letteratura coincide con il ciclo di muta dei gamberi [132], associato alla precoce comparsa di macchie nere nella regione cefalotoracica [133].

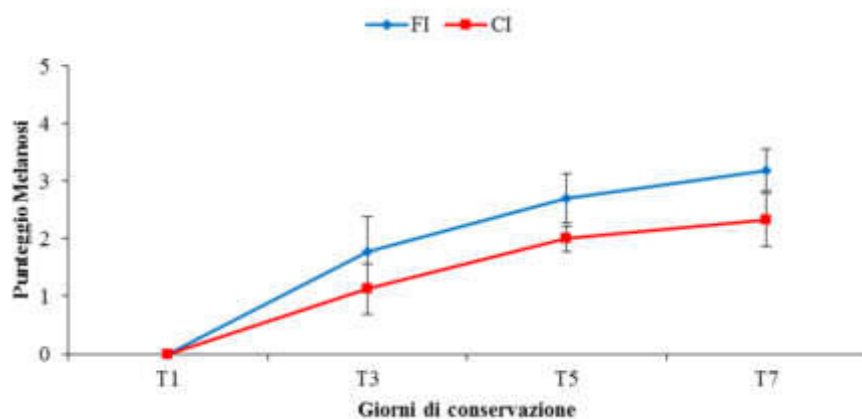


Figura 66. Valutazione della melanosì degli esemplari di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI)

Tabella 47. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi sensoriale mostrati in Figura 66

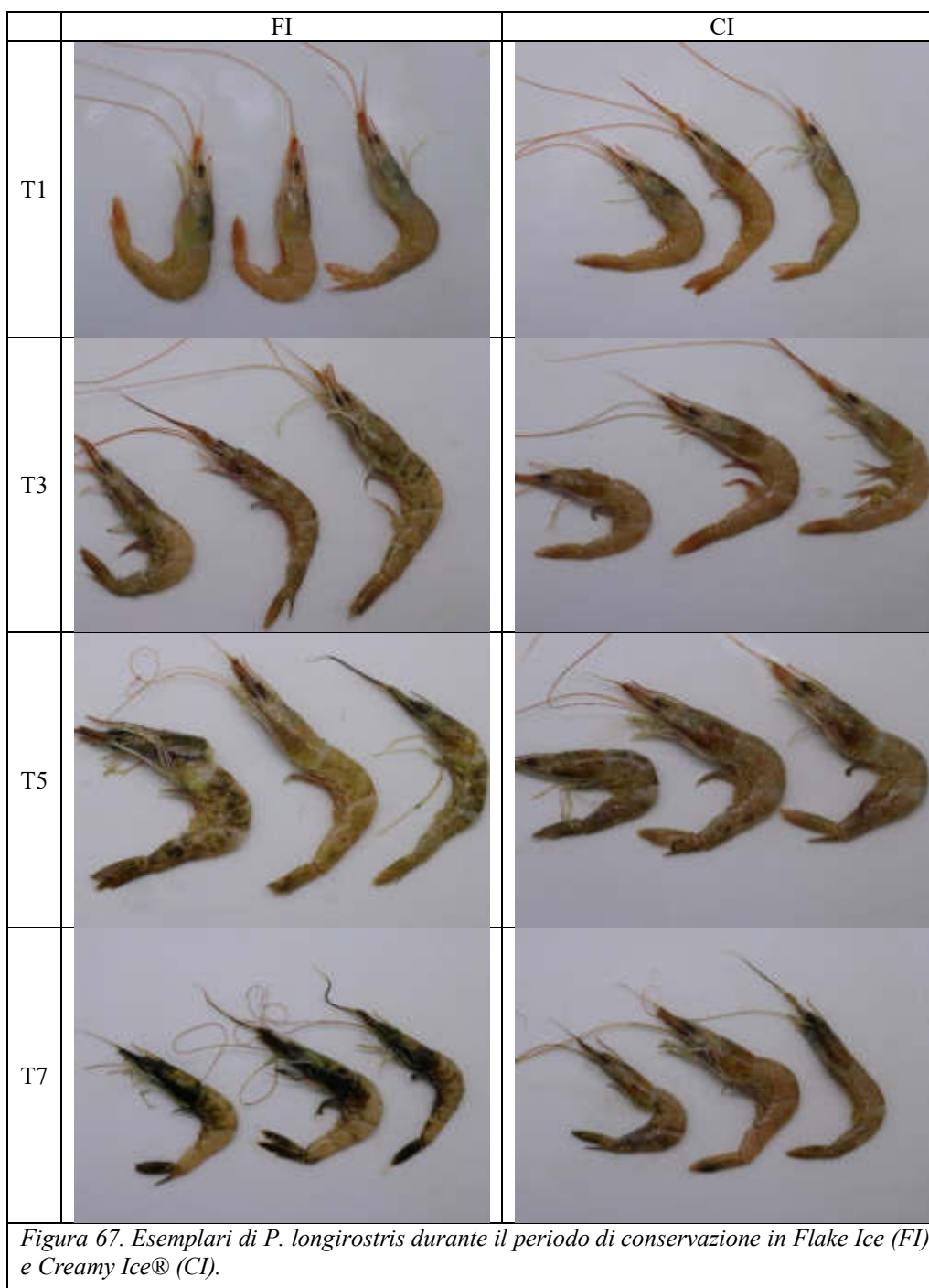
	T1	T3	T5	T7
FI	a	b	c/B	c/B
CI	a	b	c/A	c/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Differenze significative ($p < 0,05$) tra i due diversi trattamenti sono state osservate dopo cinque giorni di conservazione, con la presenza di una melanosì significativamente maggiore ($p < 0,05$) negli esemplari conservati in FI (Figura 66 e Tabella 47). Risultati paragonabili sono stati osservati nel gambero nel corso di altri studi [134,135]

In Figura 67 sono mostrate le foto degli esemplari utilizzati per l'analisi sensoriale.



Analisi chimico-fisiche correlate alla shelf life

Colore

Pe quanto riguarda il colore, determinato su cefalotorace (Figura 68), differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) sono state osservate in termini di luminosità (L^*) tra i due trattamenti nella fase finale della *shelf life* di conservazione (T7) con valori più bassi nel FI (Figura 68a e Tabella 48).

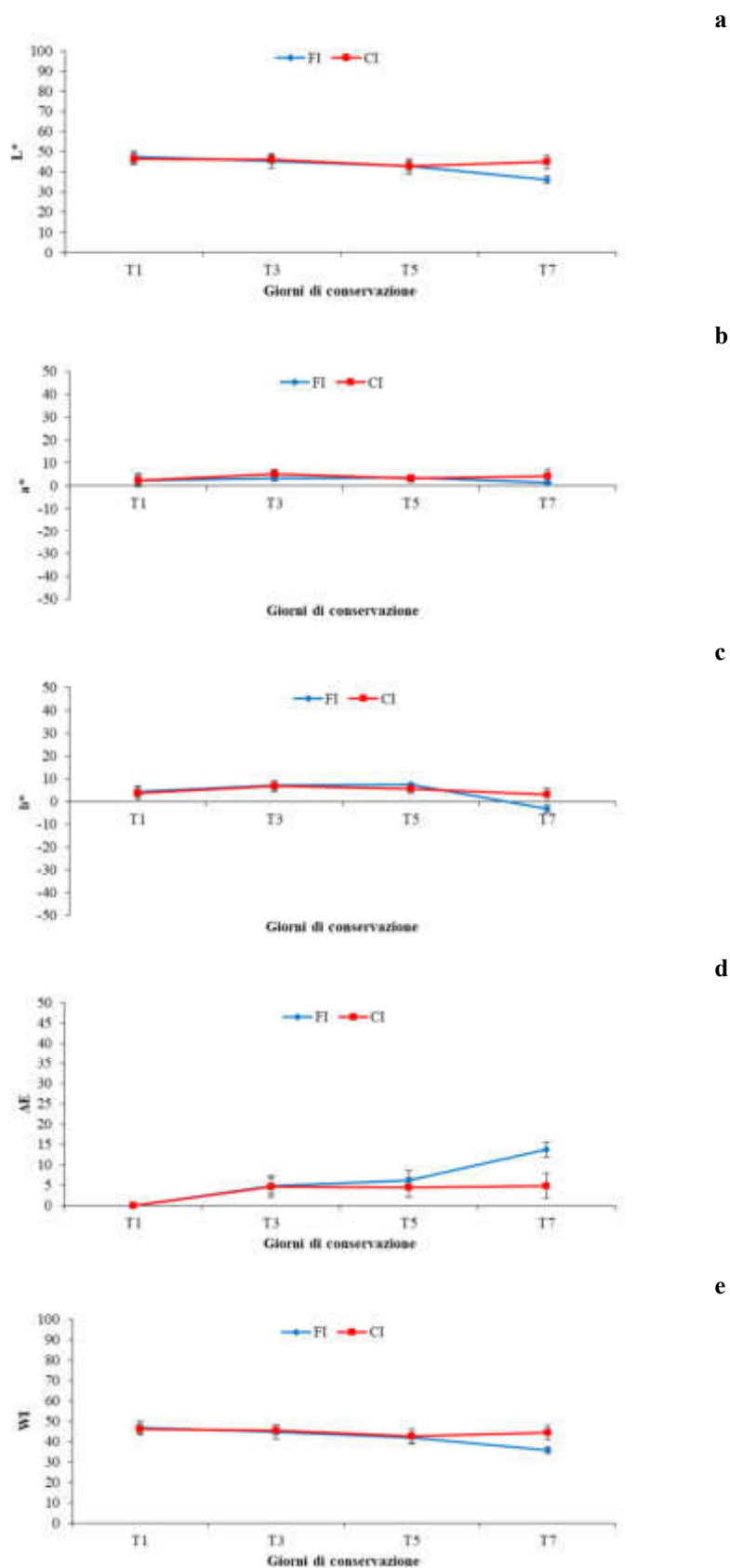


Figura 68. Analisi del colore del cefalotorace di esemplari di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del parametro L*; b) Andamento dei valori del parametro a*; c) Andamento dei valori del parametro b*; d) Andamento dei valori del parametro ΔE; e) Indice di bianchezza (WI).

Tabella 48. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 68

		L*			
		T1	T3	T5	T7
FI		b	b	b	a/A
CI					B
		a*			
		T1	T3	T5	T7
FI		ab	ab	b	a
CI					
		b*			
		T1	T3	T5	T7
FI		b	c	c	a/A
CI					B
		ΔE			
		T1	T3	T5	T7
FI		a	b	b	c/B
CI		a	b	b	b/A
		WI			
		T1	T3	T5	T7
FI		b	b	b	a/A
CI					B

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative (p<0,05) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.
Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative (p<0,05) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione

Questo valore significativamente più basso di L* nei gamberi rosa conservati in FI è stato determinato dalla comparsa di macchie nere e legata quindi alla melanosi [133,136,137].

Relativamente al parametro a*, che nei valori positivi indica l'intensità del colore rosso, non ha mostrato differenze statisticamente significative tra i due trattamenti (Tabella 48).

Per quanto concerne il parametro b*(*yellowness*, con valori positivi per i colori tendenti al giallo e valori negativi per quelli tendenti al blu [107]) sono state osservate differenze significative al T7, dove gli esemplari conservati in FI hanno mostrato valori significativamente più bassi rispetto agli esemplari conservati in CI (Tabella 48 e Figura 68c).

La valutazione dell'indice di bianchezza ha mostrato differenze significative tra i due tipi di trattamento al T7, correlato anch'esso alla melanosi (p<0,05) [133,136,137].

Tessitura

I dati analitici relativi alla tessitura degli esemplari di *P. longirostris*, valutata attraverso lo studio di due parametri, modulo di Young o modulo di deformabilità e *Hardness* o durezza del tessuto, sono mostrati in Figura 69.

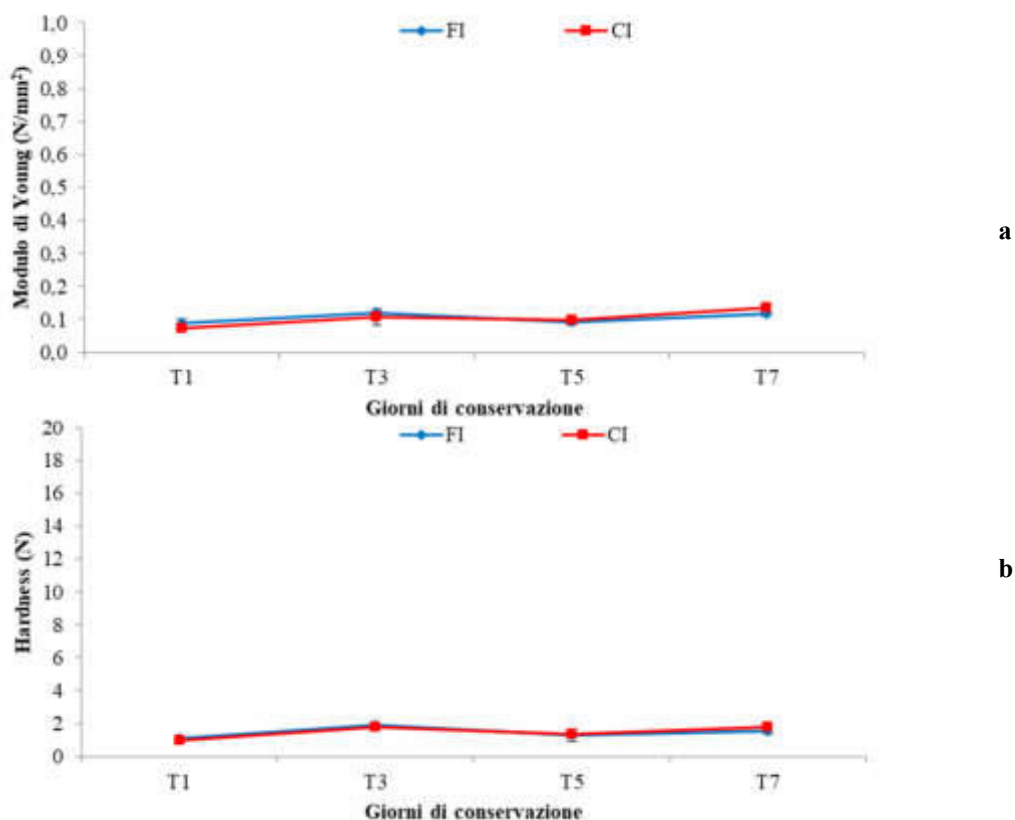


Figura 69. Analisi della tessitura di esemplari di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.

Tabella 49. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della tessitura mostrati in Figura 69

Modulo di Young				
	T1	T3	T5	T7
FI				
CI	a	ab	b	b
Hardness				
	T1	T3	T5	T7
FI	a	b	ab	ab
CI	a	b	b	b

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione

I valori relativi al modulo di Young non hanno mostrato differenze statisticamente significative tra i due trattamenti mostrando quindi che le due diverse metodiche di conservazione in ghiaccio non hanno influito sulla deformabilità e quindi sulla compattezza del tessuto muscolare. Inoltre i dati analitici hanno mostrato un andamento simile nei due diversi trattamenti nel corso del periodo di *shelf life* (Figura 69 e Tabella 49)

Anche per quanto riguarda i valori di *Hardness* non sono state osservate differenze statisticamente significative tra campioni mantenuti in FI rispetto a quelli in CI (Tabella 49). Tale parametro in

entrambi i trattamenti tende ad aumentare dopo tre giorni per poi rimanere costante durante il periodo di *shelf life* (Figura 69 e Tabella 49).

pH

I valori di pH registrati durante i 7 giorni di conservazione in ghiaccio degli esemplari di *P. longirostris* sono mostrati in Figura 70.

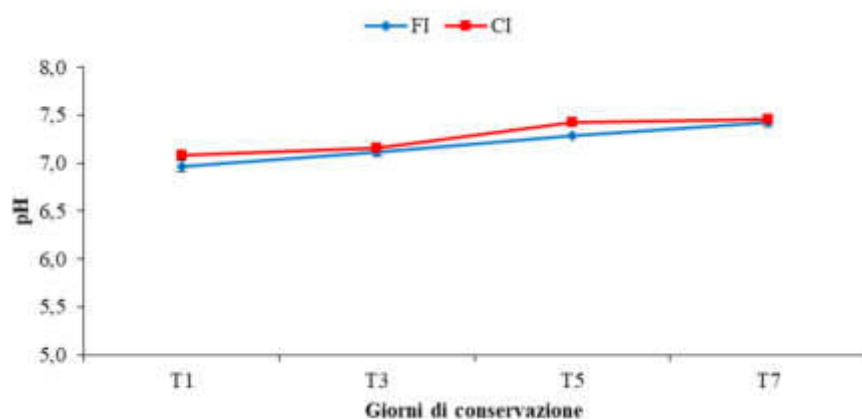


Figura 70. Valori di pH della parte edibile di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 50. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 70

	T1	T3	T5	T7
FI	a/A	b/A	c/A	d
CI	a/B	b/B	c/B	c

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Nel complesso, anche se il pH dei gamberi è rimasto sempre al di sotto dei limiti di accettabilità (7,6) [138,139], è aumentato significativamente durante la conservazione (Figura 70 e Tabella 50; $p < 0,05$), raggiungendo valori di $7,43 \pm 0,05$ e $7,46 \pm 0,02$ a sette giorni di conservazione per FI e CI, rispettivamente. Questi ultimi hanno mostrato valori significativamente più alti di quelli dei gamberi conservati in FI ($p < 0,05$), ma alla fine del periodo di conservazione non sono state osservate differenze significative (Figura 70 e Tabella 50). I valori di pH registrati sono paragonabili a quanto presente in letteratura [133,136,138,139].

Come è noto, infatti, l'aumento del pH è dovuto all'accumulo di composti basici, come ammine e trimetilammine, a causa dell'azione enzimatica endogena e microbica [133,139].

Water Holding Capacity

I risultati delle analisi volte alla valutazione del parametro WHC sono mostrati in Figura 71 e hanno mostrato come i valori registrati non abbiano presentato differenze significative nel corso della conservazione in CI e in FI. Allo stesso modo non sono state osservate differenze significative tra i campioni conservati con le due diverse tipologie di ghiaccio.

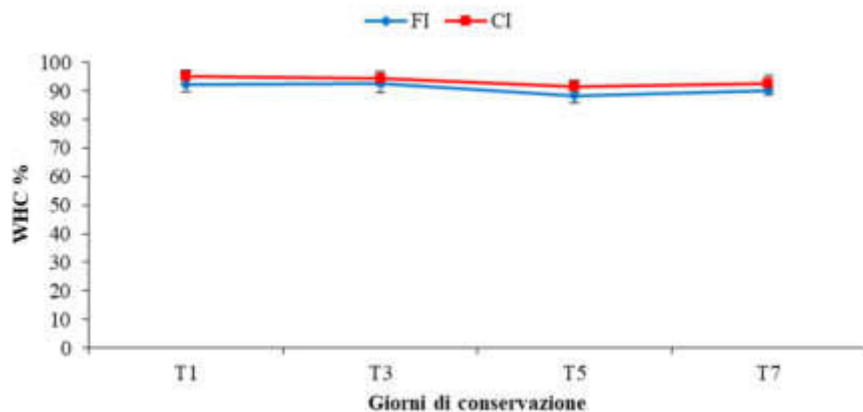


Figura 71. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) della parte edibile di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

La capacità di trattenere l'acqua (WHC) è un parametro di qualità importante dal punto di vista commerciale poiché influisce sull'aspetto e la consistenza del pesce e quindi sul grado di accettabilità da parte del consumatore. Un basso valore di WHC è spesso legato a cambiamenti strutturali *post mortem* nel muscolo che includono principalmente la degradazione del reticolo dei miofilamenti, la denaturazione della miosina e l'aumento dello spazio extracellulare, con effetti negativi sulla tessitura del pesce [65,91].

Quindi, poiché la capacità di trattenere l'acqua è strettamente correlata alle proprietà strutturali del tessuto muscolare, i dati ottenuti nel corso di questo studio suggeriscono che entrambe le tipologie di ghiaccio non abbiano determinato cambiamenti significativi nella microstruttura del muscolo negli esemplari di *P. longirostris* durante i 7 giorni di conservazione.

Contenuto di Sodio

Le analisi condotte hanno consentito di osservare come il contenuto di sodio aumenti in maniera statisticamente significativa ($p < 0,05$) durante l'intero periodo di conservazione nei campioni di *P. longirostris* mantenuti in CI rispetto ai campioni mantenuti in FI ($p < 0,05$) (Figura 72 e Tabella 51)

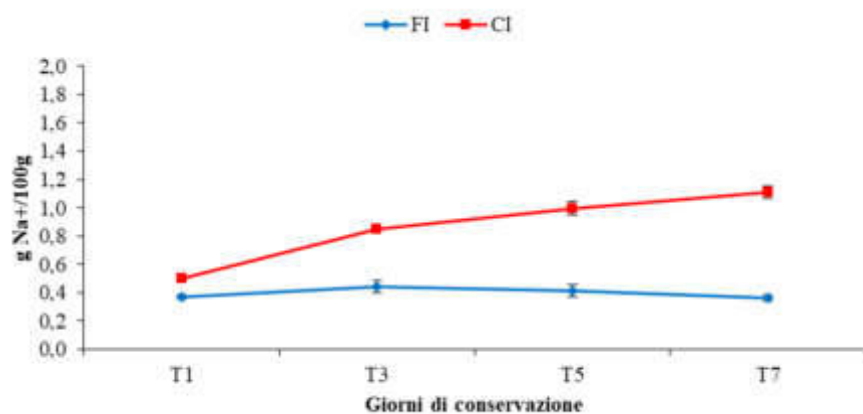


Figura 72. Contenuto di sodio (g Na+/100g) della parte edibile di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 51. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del Sodio mostrati in Figura 72

	T1	T3	T5	T7
FI	a/A	b/A	b/A	a/A
CI	a/B	b/B	c/B	d/B

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

L'effetto del CI, contenente NaCl, sull'incremento del contenuto di sodio, osservato nel corso del presente studio, trova riscontro con quanto osservato in letteratura in altre specie [76–80].

Attività dell'acqua (aw)

I risultati delle analisi relative all'attività dell'acqua sono mostrati in Figura 73.

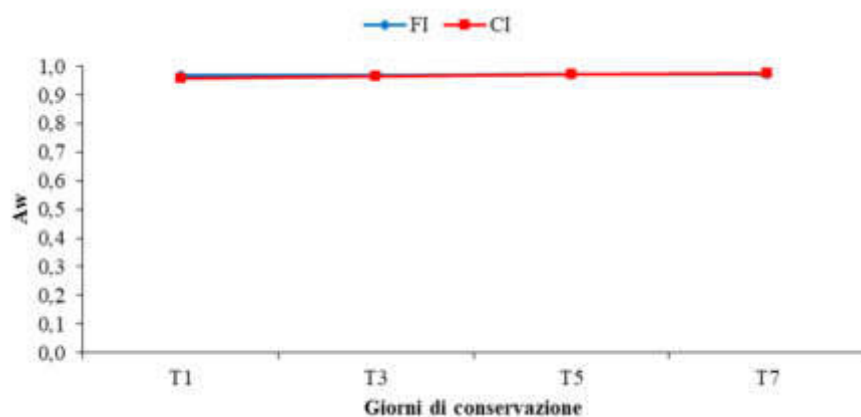


Figura 73. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) della parte edibile di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 52. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'aw mostrati in Figura 73.

	T1	T3	T5	T7
FI	a/B	ab	b	ab
CI	a/A	b	c	d

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

I valori di aw rilevati subito dopo la cattura, l'attività dell'acqua ha mostrato un aumento significativo durante la conservazione sia per gli esemplari mantenuti in FI che per quelli mantenuti in CI (Figura 73 e Tabella 52). Inoltre, le due diverse tipologie di conservazione in ghiaccio non sembrano aver influenzato l'evoluzione del parametro attività dell'acqua, considerato che l'andamento di tale parametro ha mostrato differenze significative soltanto al T1 con un valore significativamente inferiore ($p < 0,05$) nei campioni CI (Figura 73 e Tabella 52).

Tali osservazioni, risultano rilevanti considerato che la valutazione dell'attività dell'acqua, indice di disponibilità di acqua di un alimento durante la sua conservazione, è indicativa della stabilità chimica,

microbiologica ed enzimatica, che consente di predire reazioni di degradazione che potrebbero verificarsi con il proseguire della conservazione; tale parametro, infatti, è il principale responsabile della modulazione della risposta microbica, interferendo anche sulla tipologia di microrganismi che possono svilupparsi negli alimenti [81,82]. È ormai certo infatti come l'attività dell'acqua, non il contenuto d'acqua degli alimenti, sia correlata con la crescita batterica e, per tali motivi, viene utilizzata in molti casi, dalle industrie alimentari, come punto critico di controllo per i programmi di analisi dei rischi e dei punti critici di controllo (HACCP) rappresentando, quindi, un utile strumento per valutare la qualità e la sicurezza di un alimento [83].

TVBN

I risultati delle analisi volte alla valutazione delle componenti di degradazione della frazione azotata sono mostrati in Figura 74.

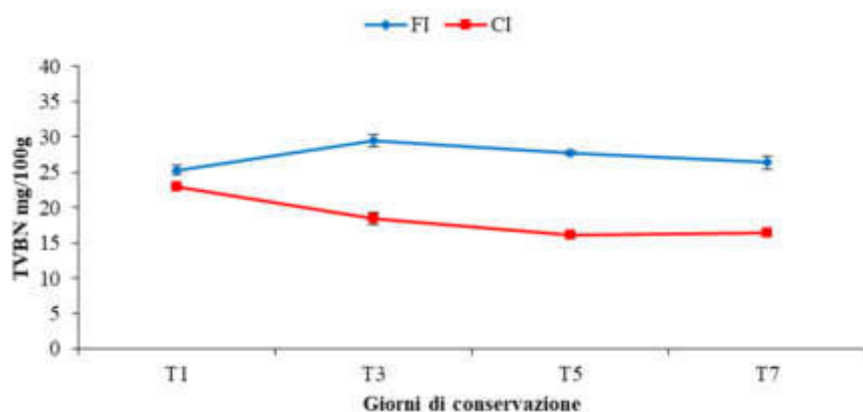


Figura 74. Andamento dei valori di TVBN della parte edibile di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 53. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 74

	T1	T3	T5	T7
FI	a/B	c/B	bc/B	ab/B
CI	c/A	b/A	a/A	a/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Il confronto tra le due tipologie di conservazione (FI e CI) ha rivelato che nei campioni conservati in FI i valori di TVBN sono risultati significativamente più alti ($p < 0,05$) rispetto ai valori osservati nei campioni in CI già dal 1 giorno di conservazione (Figura 74 e Tabella 53), evidenziando come la conservazione in CI abbia rallentato in modo significativo la formazione di TVBN, come osservato nel corso di altri studi sulla stessa specie conservata in *slurry ice* [33]. Inoltre negli esemplari mantenuti in CI, nell'arco del periodo di conservazione oggetto di studio, i valori di TVBN non hanno superato il limite di accettabilità di 25 mg TVBN/100g indicato per le specie a ridotto contenuto lipidico [62] (Figura 74 e Tabella 53).

Tali informazioni risultano rilevanti considerato che il TVBN è ritenuto un parametro importante per la valutazione della qualità dei prodotti ittici, strettamente correlato all'attività microbica, e il controllo

di tale parametro è importante per garantire la sicurezza e prolungare la durata di conservazione dei prodotti della pesca [1].

MDA

Le analisi volte alla valutazione del contenuto di malondialdeide (MDA) parametro correlato alla degradazione della componente lipidica sono mostrati in Figura 75.

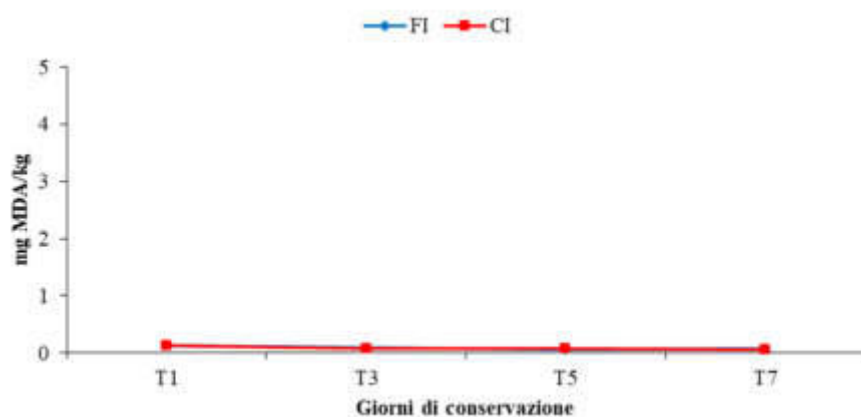


Figura 75. Andamento dei valori di MDA della parte edibile di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 54. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 75.

	T1	T3	T5	T7
FI	d	c	b	a
CI	b	a	a	a

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Il contenuto iniziale di MDA riscontrato in entrambe le metodologie di conservazione (FI $0,12 \pm 0,01$ e CI $0,13 \pm 0,037$) sono paragonabili ai valori presenti in letteratura [140]. Il basso contenuto di grassi del gambero ha probabilmente anche contribuito al basso grado di ossidazione osservato in questo studio e come osservato anche in letteratura [140,141].

Per entrambe le tipologie di conservazione in ghiaccio è stato osservato un decremento significativo di MDA che potrebbe essere correlato processo di degradazione della malondialdeide (MDA) con formazione di prodotti di degradazione terziaria [84].

Analisi microbiologiche

Le analisi microbiologiche sono state condotte dal Laboratorio Idrolab Consult s.a.s, a cui venivano consegnati, da parte di operatori della Bio&Tec Soc. Coop. arl, durante la valutazione della *shelf life* i campioni di pesce opportunamente prelevati e conservati. I risultati delle valutazioni microbiologiche, condotte con metodologie accreditate, sono riportati nel rapporto di prova corrispondente all'allegato 7.

I risultati delle analisi volte alla valutazione della conta microbica degli esemplari di *P. longirostris* nel corso della valutazione della *shelf life* sono mostrati in Figura 76.

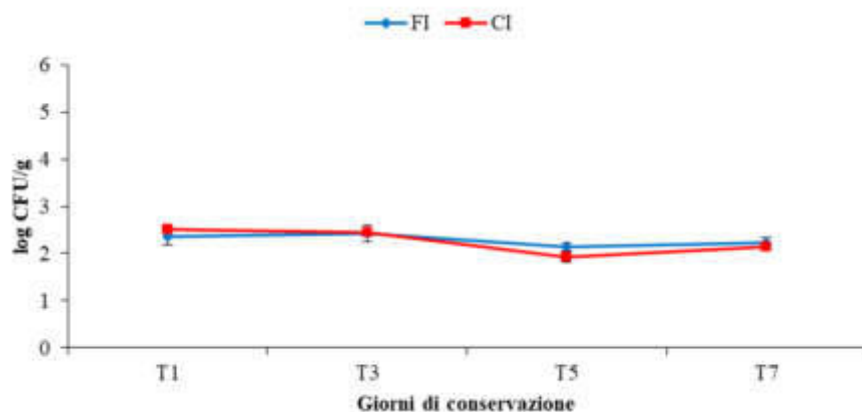


Figura 76. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g degli esemplari di *P. longirostris* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). (Allegato 7: Esame microbiologico *P. longirostris* e *A. foliacea*: Conta dei microorganismi a 30 °C)

Tabella 55. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologica mostrati in Figura 76

	T1	T3	T5	T7
FI	b	b	a	ab
CI	b	b	a	a

Le lettere diverse minuscole (abcd) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

La conta microbica non ha mostrato differenze significative tra gli esemplari conservati in FI e CI, nel corso dei 7 giorni oggetto di studio (Figura 76 e Tabella 55). Inoltre, per l'intero periodo di *shelf life*, nessuno dei campioni analizzati, ha presentato valori superiori al limite normativo della conta dei microorganismi a 30 °C, indicato in 10^3 cfu/g (3 log cfu/g) nel Regolamento CE 2073/2005 e ss.mm per la stessa tipologia di prodotto ittico (Figura 76 e Tabella 55) [94].

I risultati osservati inoltre sono paragonabili con i dati presenti in letteratura relativamente alla stessa specie, conservata in regime di refrigerazione [133,136].

Conclusione

Nel corso dei 7 giorni di valutazione della *shelf life* dei campioni di *P. longirostris*, conservati in FI e CI, la valutazione sensoriale ha evidenziato che negli esemplari conservati in FI, già dopo 5 giorni di conservazione sono stati superati i limiti di accettabilità suggeriti in letteratura, mentre per gli esemplari conservati in CI tale limite è stato raggiunto dopo 7 giorni.

La valutazione delle caratteristiche di qualità del prodotto, in termini di analisi strumentale del colore e tessitura ha consentito di osservare che le due diverse metodiche di conservazione in ghiaccio non hanno influito su tali parametri come osservato in letteratura sulla stessa specie [33]. In relazione al colore va sottolineato come al T7 sia emersa una differenza tra le due tipologie di conservazione che ha riguardato una significativa diminuzione della Luminosità, nei campioni mantenuti in FI, correlabile, come suggerito in letteratura, alla più marcata melanosi osservata negli esemplari conservati in FI [133–137].

Relativamente ai parametri biochimici correlati alla *shelf life*, nel presente studio è stato osservato che i campioni mantenuti in CI presentavano un contenuto di TVBN significativamente più basso nel periodo di *shelf life*, rispetto ai campioni mantenuti in FI. Tali risultati confermano un effetto inibente del trattamento con CI nel processo di degradazione della componente azotata (molecole proteiche e

non proteiche), con un conseguente effetto migliorativo sulle caratteristiche sensoriali e sulla sicurezza dei prodotti della pesca.

Per quanto concerne la valutazione del processo di degradazione della componente lipidica, i risultati ottenuti inducono a ritenere che le due diverse tipologie di conservazione non abbiano influito su tale parametro. Sono stati registrati infatti, in entrambe le tipologie di conservazione in ghiaccio, valori di MDA molto bassi, comunque paragonabili ai valori presenti in letteratura. Il basso grado di ossidazione lipidica osservato in questo studio è, inoltre, come osservato anche in letteratura, principalmente legato al ridotto contenuto lipidico della specie analizzata [140,141].

Alla luce dei risultati ottenuti è possibile concludere che la conservazione in CI della specie *P. longiristris*, specie di grande rilevanza dal punto di vista commerciale, può essere considerata una tecnica potenzialmente promettente; per tale tecnica, tuttavia, può essere valutata una ottimizzazione del processo, in considerazione del fatto che negli esemplari trattati con CI è stato osservato un aumento del contenuto di sodio nel periodo di *shelflife*, dovuto, come anche evidenziato in letteratura, alla natura stessa del ghiaccio utilizzato, contenente cloruro di sodio, con lo scopo di abbassare il punto di congelamento [76–80].

Aristaeomorpha foliacea

Gli esemplari di *A. foliacea* analizzati presentavano un peso medio di $11,61 \pm 2,66$ g e una lunghezza totale pari a $13,98 \pm 0,97$ cm.

Temperatura

È stata monitorata la temperatura al core degli esemplari di *A. foliacea*, durante i giorni di conservazione in FI e CI e i valori rilevati sono mostrati in Figura 77.

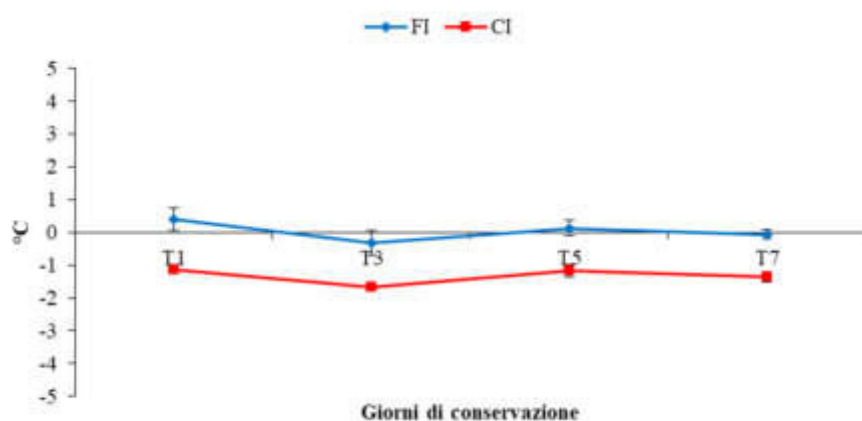


Figura 77. Temperatura al core degli esemplari di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI)

Tabella 56. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della temperatura mostrati in Figura 77

	T1	T3	T5	T7
FI	b/B	a/B	ab/B	ab/B
CI	A	A	A	A

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

È possibile osservare come, nel corso della valutazione della *shelf life*, gli esemplari posti in CI abbiano mantenuto temperature significativamente più basse ($p < 0,05$) (Figura 77 e Tabella 56) rispetto agli esemplari posti in FI, in accordo con quanto osservato in letteratura anche per altre specie ittiche, conservate con ghiaccio innovativo [12]. I risultati osservati inducono ad ipotizzare un effetto positivo dell'uso del CI sulla conservazione del gambero rosso, considerato che, come riportato in letteratura, basse temperature di conservazione consentono di ridurre nel gambero i processi di autolisi enzimatica, l'ossidazione lipidica e la degradazione microbica [131].

Analisi sensoriale

Durante la prova di *shelf life*, sono stati esaminati i cambiamenti degli attributi sensoriali degli esemplari di *A. foliacea* conservati con FI e CI con il QIM, un metodo di analisi sensoriale affidabile per valutare la freschezza del gambero, utilizzando, un sistema di punteggio di demerito da 0 a 9.[51]. Gli esemplari conservati in FI hanno mostrato una significativa riduzione delle caratteristiche sensoriali tipiche del prodotto appena pescato, già dopo tre giorni di conservazione, mentre per gli esemplari sottoposti al trattamento in CI ciò è stato osservato dopo cinque giorni (Figura 78 e Tabella

57). Inoltre, i valutatori hanno assegnato agli esemplari mantenuti in FI un punteggio di demerito significativamente maggiore ($p < 0,05$) negli esemplari analizzati dopo tre e dopo cinque giorni di conservazione (Figura 78 e Tabella 57).

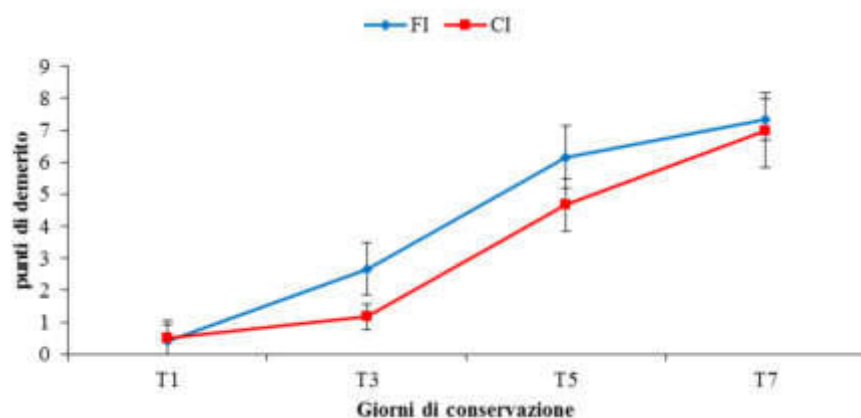


Figura 78. Valutazione sensoriale degli esemplari di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI)

Tabella 57. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi sensoriale mostrati in Figura 78

	T1	T3	T5	T7
FI	a	b/B	c/B	c
CI	a	a/A	b/A	c

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

L'utilizzo di quattro descrittori per ciascun attributo valutato ha consentito di osservare che le variazioni che hanno determinato tali differenze significative tra i due diversi tipi di conservazione in ghiaccio, hanno riguardato l'inscurimento del cefalotorace negli esemplari conservati in FI rispetto agli esemplari conservati in CI. Al settimo giorno di conservazione (Figura 78) non sono state osservate differenze significative tra i campioni conservati con le due diverse tipologie di ghiaccio, che presentavano comunque caratteristiche sensoriali non più accettabili, in accordo con quanto riportato in letteratura per la stessa specie conservata in ghiaccio, per la quale viene indicato il superamento della soglia di accettabilità dopo 6-7 giorni di conservazione [51]. In modo analogo in letteratura viene riportato che esemplari di *Fenneropenaeus chinensis* conservati in regime di refrigerazione a 4 °C risultano inaccettabili da un punto di vista sensoriale dopo 6 giorni di conservazione [141], mentre per la specie *Litopenaeus vannamei* il limite di accettabilità viene individuato tra i 4 e i 5 giorni [142].

La valutazione della melanosi degli esemplari di *A. foliacea* (Figura 79 e Tabella 58) ha consentito di osservare un incremento significativo durante il periodo di conservazione sia in FI che in CI, mentre differenze significative tra i due diversi trattamenti sono state osservate dopo tre giorni di conservazione, con la presenza di una melanosi significativamente maggiore negli esemplari conservati con FI. Risultati paragonabili sono stati osservati nel gambero nel corso di altri studi [134,135]

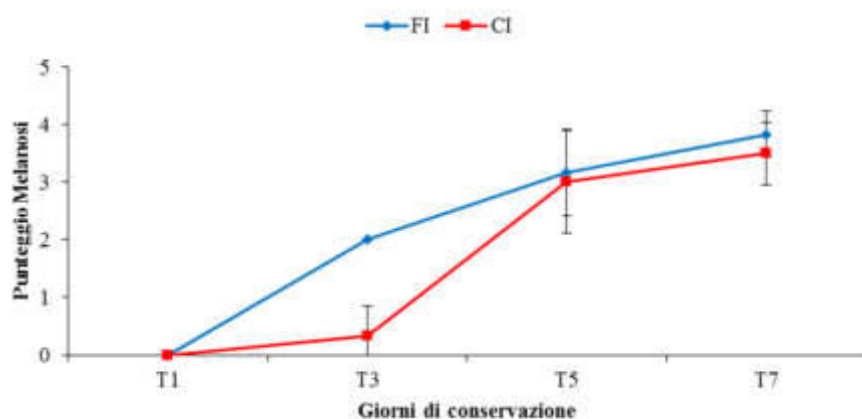


Figura 79. Valutazione della melanosi degli esemplari di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI)

Tabella 58. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della melanosi mostrati in Figura 79

	T1	T3	T5	T7
FI	a	b/B	c	d
CI	a	b/A	b	b

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

La comparsa precoce di macchie nere sul cefalotorace dei campioni analizzati, mantenuti in FI e CI, può essere anche attribuita alla loro stagione di cattura: gli esemplari oggetto di studio sono stati infatti catturati in autunno, stagione che, come viene riportato in letteratura coincide con il ciclo di muta dei gamberi [132], associato alla precoce comparsa di macchie nere nella regione cefalotoracica [133].

In Figura 80 sono mostrate le foto degli esemplari utilizzati per l'analisi sensoriale.

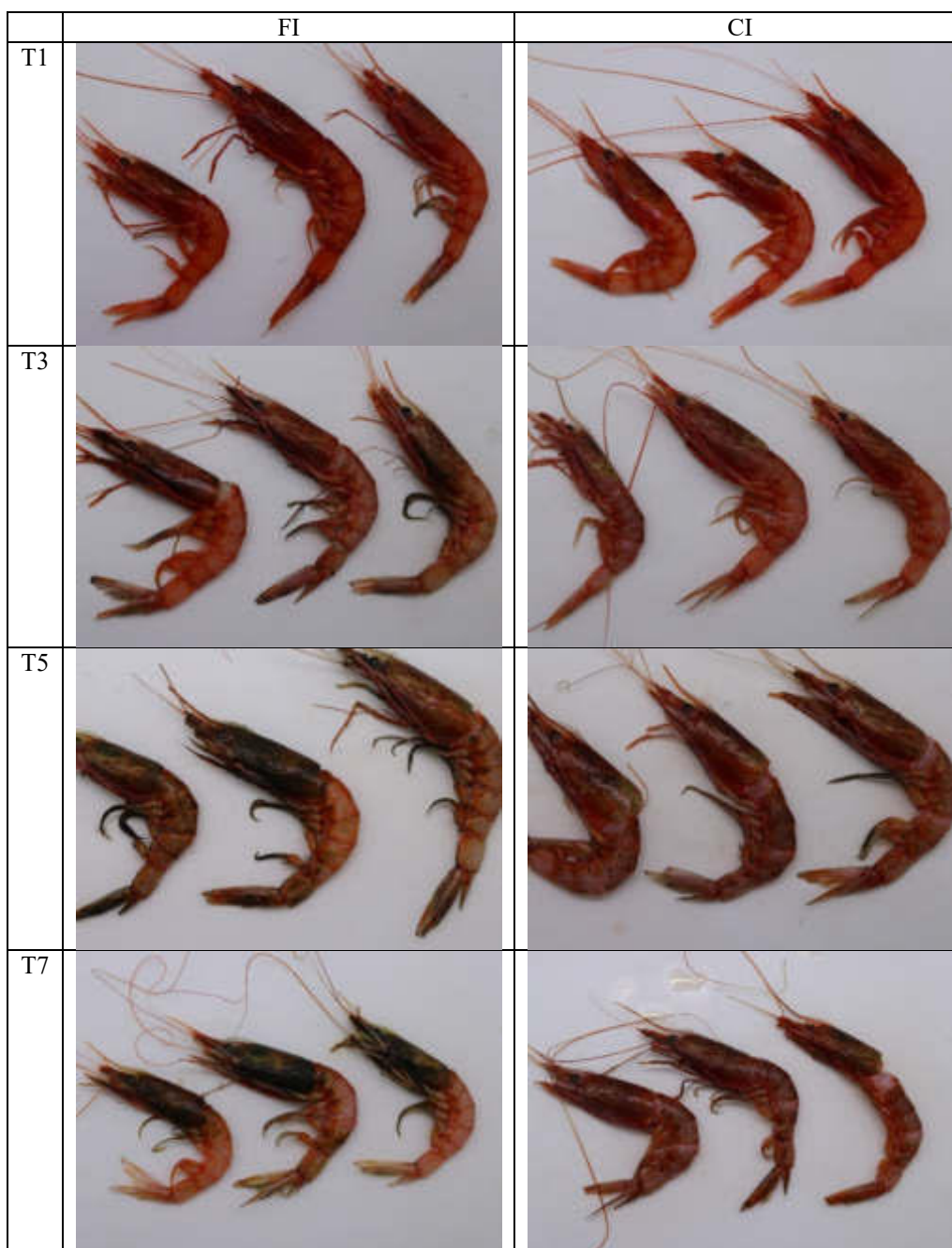


Figura 80. Esemplari di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Analisi chimico-fisiche correlate alla shelf life

Colore

In relazione al colore, mostrato in Figura 81, differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) sono state osservate in termini di luminosità (L^*) tra i due trattamenti al terzo giorno di conservazione (T3), con valori più bassi negli esemplari conservati in FI e più alti in quelli conservati in CI mentre nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata successivamente (Figura 81a e Tabella 59).

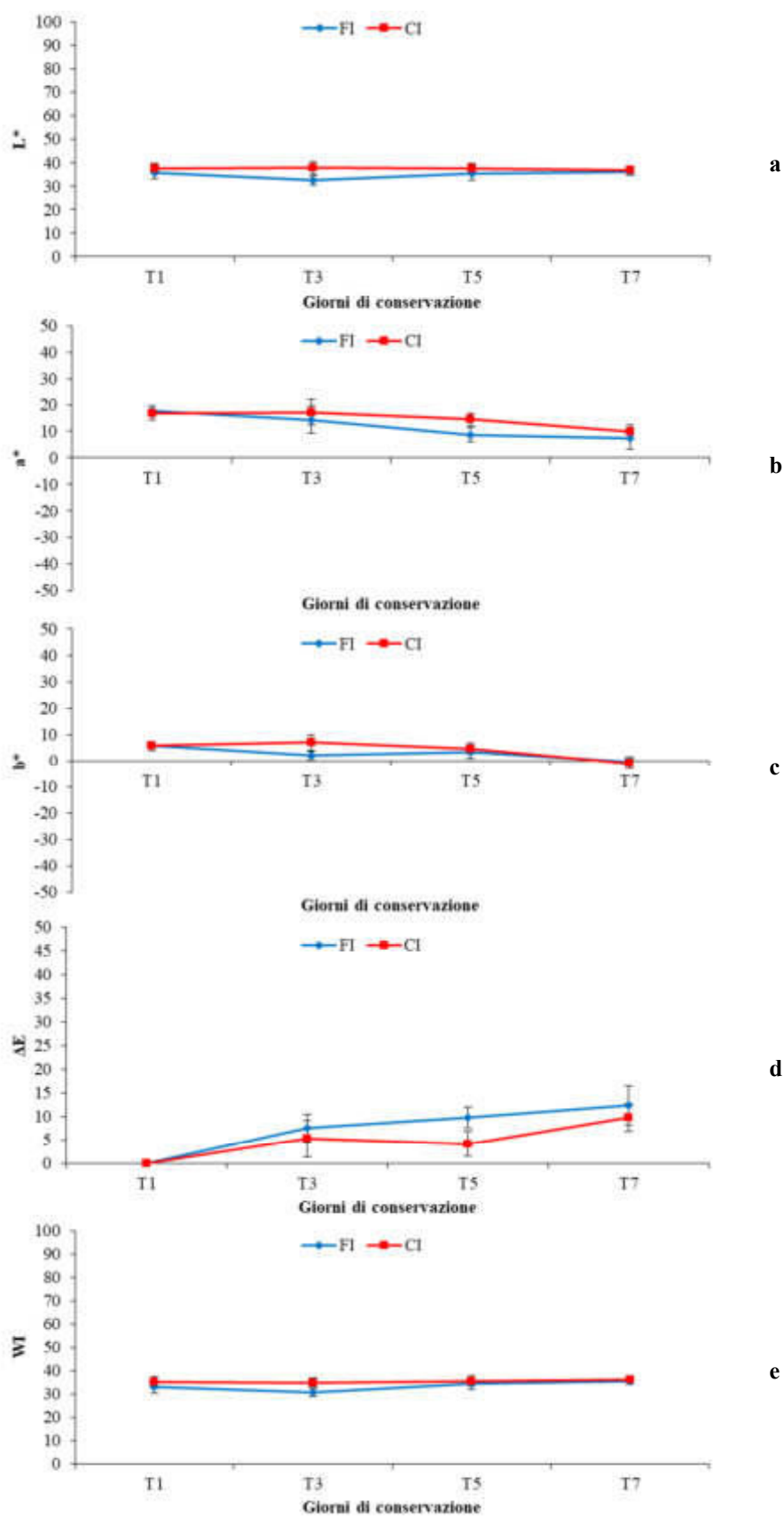


Figura 81. Analisi del colore del cefalotorace di esemplari di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del parametro

*L**; b) Andamento dei valori del parametro *a**; c) Andamento dei valori del parametro *b**; d) Andamento dei valori del parametro ΔE ; e) Indice di bianchezza (*WI*).

Tabella 59. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del colore mostrati in Figura 81

L*				
	T1	T3	T5	T7
FI	b	a/A	b	b
CI		B		
a*				
	T1	T3	T5	T7
FI	b	b	a/A	a
CI	b	b	b/B	a
b*				
	T1	T3	T5	T7
FI	c	b/A	b	a
CI	b	b/B	b	a
ΔE				
	T1	T3	T5	T7
FI	a	b	bc/A	c
CI	a	b	b/B	c
WI				
	T1	T3	T5	T7
FI	ab	a/A	b	b
CI		B		

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.
Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione

Relativamente al parametro *a**, che nei valori positivi indica l'intensità del colore rosso, nei campioni CI sono stati registrati i valori più elevati, con differenze statisticamente significative tra i due trattamenti limitatamente al T5 ($p < 0,05$) (Figura 81b e Tabella 59).

Allo stesso modo i valori relativi al parametro *b** (valori positivi intensità di giallo e valori negativi intensità di blu) si sono mantenuti più alti nei campioni conservati in CI con differenze statisticamente significative tra i due trattamenti limitatamente al T3 ($p < 0,05$) (Tabella 59). La valutazione dell'indice di bianchezza (*WI*) ha mostrato differenze significative tra i due tipi di trattamento dopo tre giorni di conservazione, non presentando successive differenze ($p < 0,05$). Nella valutazione del colore, le differenze significative rilevate (Figura 81), nel corso dello studio, sono correlabili, come suggerito in letteratura, alla più marcata melanosi osservata negli esemplari conservati in FI rispetto agli esemplari in CI [136].

Tessitura

I dati analitici relativi alla tessitura degli esemplari di *A. foliacea*, valutata attraverso lo studio di due parametri, modulo di Young o modulo di deformabilità e *Hardness* o durezza del tessuto, sono mostrati in Figura 82.

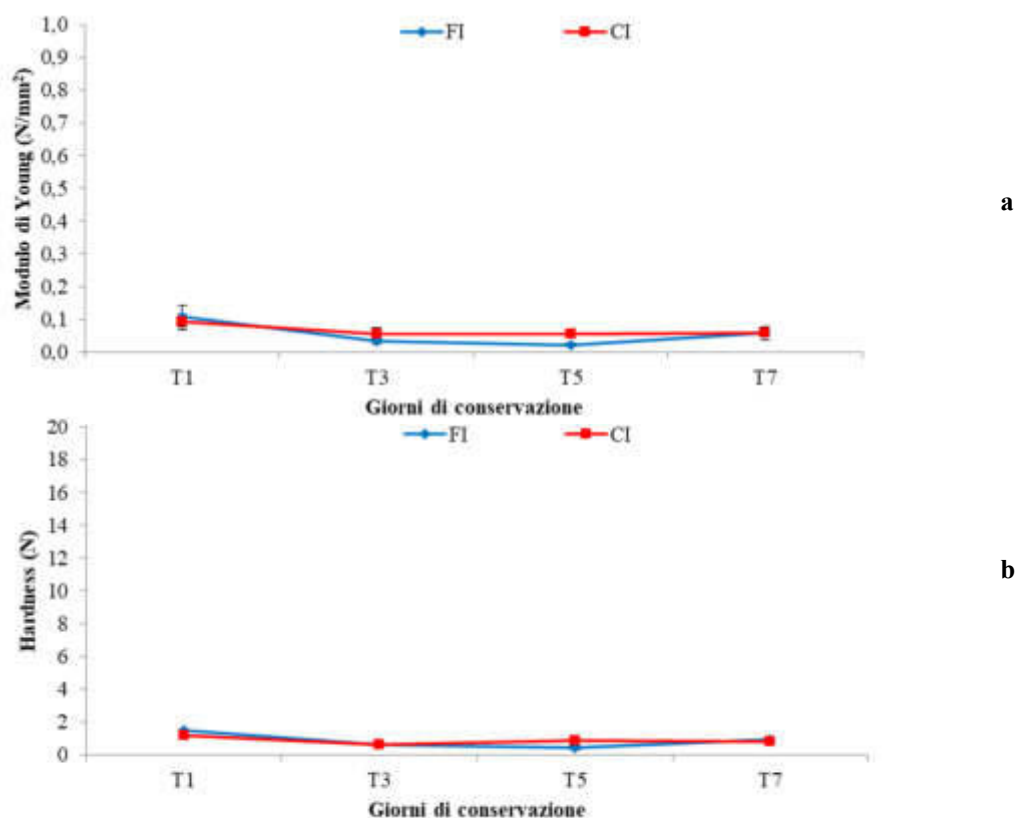


Figura 82. Analisi della tessitura di esemplari di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). a) Andamento dei valori del Modulo di Young; b) Andamento dei valori dell'Hardness.

Tabella 60. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della tessitura mostrati in Figura 82

Modulo di Young				
	T1	T3	T5	T7
FI	c	a	a/A	b
CI			B	
Hardness				
	T1	T3	T5	T7
FI	c	a	a/A	b
CI	b	a	ab/B	a

Le lettere diverse minuscole (a, b c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti nello stesso giorno di conservazione

Nei campioni conservati in FI i valori del Modulo di Young sono diminuiti dopo cinque giorni di conservazione, differendo in modo statisticamente significativo dal T1 ($p < 0,05$) (Figura 82 e Tabella 60), mentre nei campioni conservati in CI non sono state osservate differenze statisticamente significative durante la *shelf life* (Figura 82 e Tabella 60).

Per quanto riguarda i valori di *Hardness* tale parametro, in entrambi i trattamenti, tende a diminuire lungo il periodo di *shelf life*, con differenze statisticamente significative a partire dal terzo giorno di conservazione ($p < 0,05$) (Figura 82 e Tabella 60). Anche per quanto riguarda l'*Hardness* sono state osservate differenze statisticamente significative tra campioni mantenuti in FI rispetto a quelli in CI soltanto dopo cinque giorni di conservazione.

Come evidenziato anche dalla valutazione strumentale della tessitura, durante la conservazione in ghiaccio possono verificarsi dei processi degradativi nel muscolo dei prodotti ittici che tendono a rendere il tessuto più molle e meno compatto [74]. Tali valutazioni sono da tenere in considerazione poiché la *texture* non è solo un'importante proprietà sensoriale del gambero, ma anche uno dei parametri importanti per l'accettabilità da parte del consumatore [131].

pH

I valori di pH registrati durante i 7 giorni di conservazione in ghiaccio degli esemplari di *A. foliacea* sono mostrati in Figura 83.

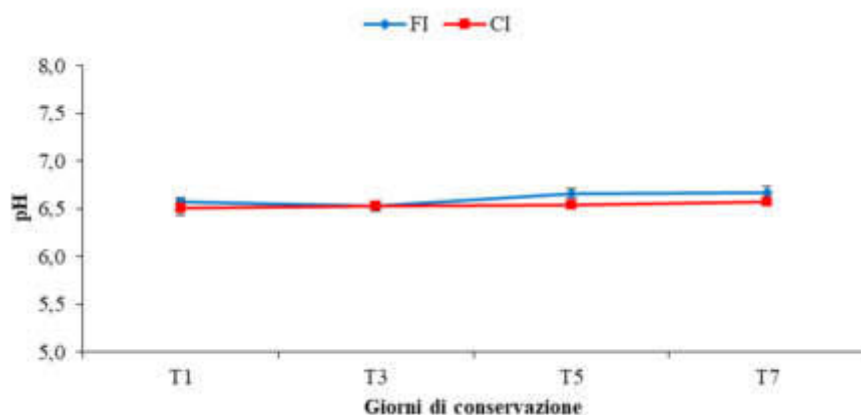


Figura 83. Valori di pH della parte edibile di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 61. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del pH mostrati in Figura 83

	T1	T3	T5	T7
FI	a	b	c/B	d
CI	a	b	c/A	d

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

I dati ottenuti nel corso di questo studio hanno mostrato, un incremento significativo dei valori di pH (Tabella 61) nel corso della *shelf life*, per entrambe le tipologie di conservazione in ghiaccio, in modo analogo a quanto osservato in letteratura sulla stessa specie conservata in ghiaccio con le tecniche di conservazione abitualmente impiegate nel mediterraneo [52].

L'aumento del pH nei crostacei, è associato al rilascio di composti ammoniacali [52]. L'aumento del pH durante la refrigerazione può essere correlato all'accumulo di basi volatili per azione di enzimi endogeni o microbici [88]. Inoltre, il valore del pH è considerato un parametro importante per valutare il deterioramento del pesce durante la conservazione in ghiaccio e in letteratura viene riportato che variazioni di pH superiori a 0,2 unità suggeriscono un deterioramento del prodotto [3]. Nel corso del presente studio, un incremento del valore di pH superiore a 0,2 unità è stato registrato sia per i campioni conservati in FI, che in CI, in confronto al T0, dopo 5 giorni di conservazione (Tabella 61); ciò suggerisce una perdita delle caratteristiche di freschezza come confermato anche dall'analisi sensoriale (Figura 78).

Water Holding Capacity

I risultati delle analisi volte alla valutazione del parametro WHC sono mostrati in Figura 84 e hanno evidenziato come i valori registrati non abbiano presentato differenze significative nel corso della conservazione in CI e in FI. Sono state osservate differenze significative tra i campioni conservati con le due diverse tipologie di ghiaccio dopo un giorno e dopo cinque giorni di conservazione, con una maggiore capacità di trattenere l'acqua da parte dei campioni conservati in CI. Tale osservazione può essere correlata alle differenze osservate relativamente alla tessitura (Figura 82).

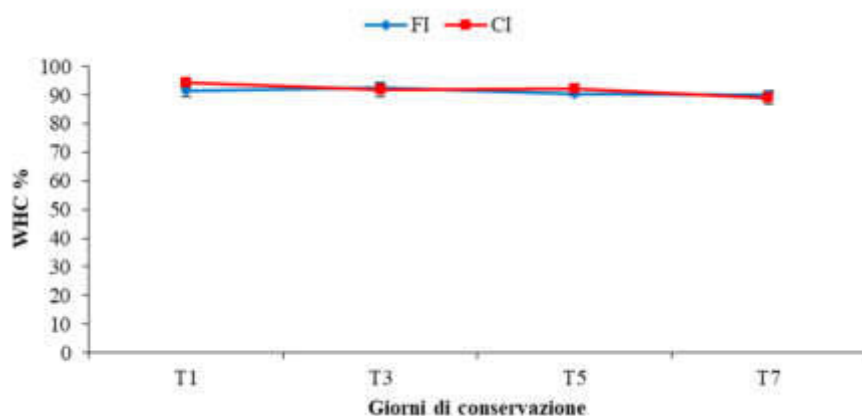


Figura 84. Andamento dei valori di Water Holding Capacity (WHC) della parte edibile di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 62. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati della WHC mostrati in Figura 84

	T1	T3	T5	T7
FI	A		A	
CI	b/B	ab	b/B	a

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

La capacità di trattenere l'acqua (WHC) è un parametro di qualità importante dal punto di vista commerciale poiché influisce sull'aspetto e la consistenza del pesce e quindi sul grado di accettabilità da parte del consumatore. Un basso valore di WHC è spesso legato a cambiamenti strutturali *post mortem* nel muscolo che includono principalmente la degradazione del reticolo dei miofilamenti, la denaturazione della miosina e l'aumento dello spazio extracellulare, con effetti negativi sulla tessitura. L'andamento di tale parametro dipende dalle modalità di conservazione e dalla specie. In generale, la conservazione dei prodotti ittici a basse temperature consente di ridurre la perdita di acqua, tuttavia, la formazione di cristalli di ghiaccio durante la conservazione accelera la distruzione della struttura del tessuto, con conseguente riduzione della WHC [1].

In letteratura vengono riportati dati diversi relativamente all'effetto del CI sulla WHC [65]. Quindi, poiché la capacità di trattenere l'acqua è strettamente correlata alle proprietà strutturali del tessuto muscolare, i dati ottenuti nel corso di questo studio suggeriscono che le diverse tipologie di ghiaccio impiegate non determinino cambiamenti rilevanti nella microstruttura della carne, quantomeno nella fase finale della *shelf life*.

Contenuto di Sodio

Le analisi condotte hanno consentito di osservare come il contenuto di sodio aumenti in maniera statisticamente significativa ($p < 0,05$) durante l'intero periodo di conservazione nei campioni di *A. foliacea* mantenuti in CI, mentre non sono state osservate differenze significative negli esemplari mantenuti in FI. Il contenuto di sodio degli esemplari conservati in CI, è risultato più elevato ($p < 0,05$) (Figura 85 e Tabella 63) rispetto ai campioni mantenuti in FI

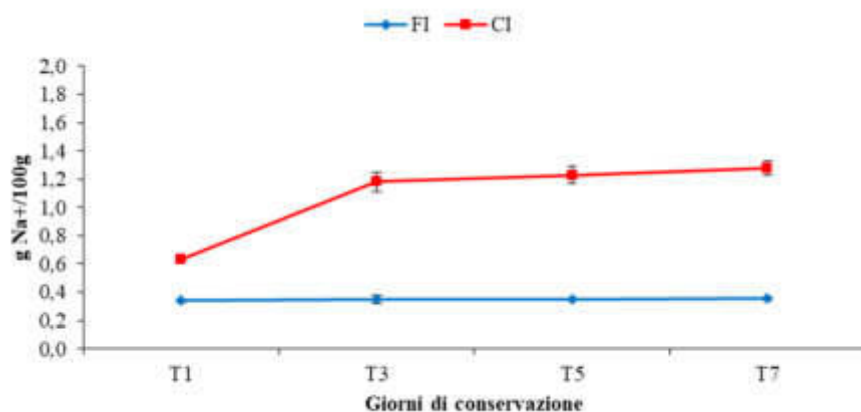


Figura 85. Contenuto di sodio (g Na+/100g) della parte edibile di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 63. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del Sodio mostrati in Figura 85

	T1	T3	T5	T7
FI	A	A	A	A
CI	a/B	b/B	bc/B	c/B

Le lettere diverse minuscole (a, b, c) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

L'effetto del ghiaccio fluido, contenente NaCl, sull'incremento del contenuto di sodio, osservato nel corso del presente studio, trova riscontro con quanto osservato in letteratura in altre specie ittiche conservate con *slurry Ice* [76–80].

Attività dell'acqua (a_w)

I risultati delle analisi relative all'attività dell'acqua sono mostrati in Figura 86.

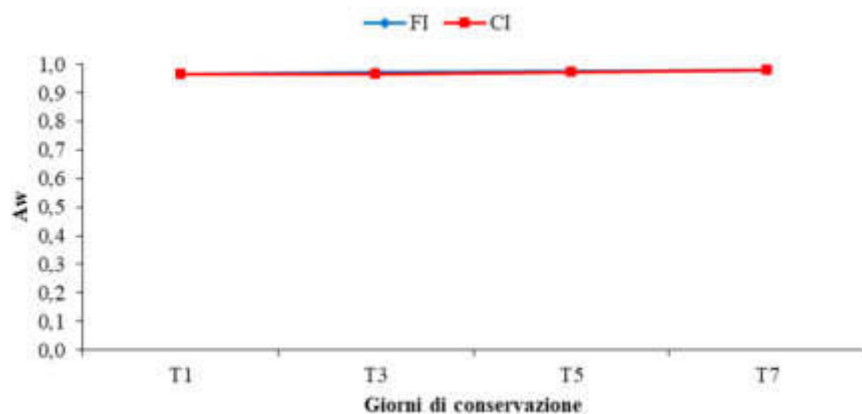


Figura 86. Andamento dell'attività dell'acqua (parametro adimensionale) della parte edibile di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 64. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'aw mostrati in Figura 86.

	T1	T3	T5	T7
FI	a	b/B	c/B	d
CI	a	a/A	b/A	c

Le lettere diverse minuscole (a, b, c, d) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

I valori osservati dell'attività dell'acqua nel corso della prova di *shelf life*, per entrambe le tipologie di conservazione in ghiaccio, hanno mostrato un incremento significativo ($p < 0,05$). Inoltre, gli esemplari conservati in FI hanno presentato valori significativamente più elevati ($p < 0,05$) dopo tre e dopo cinque giorni di conservazione, mentre al termine della prova di *shelf life* i due diversi trattamenti non sembrano aver influenzato tale parametro (Tabella 64).

L'analisi dell'attività dell'acqua consente di valutare l'indice di disponibilità dell'acqua di un alimento durante la sua conservazione ed in tal senso è indicativa della stabilità chimica, microbiologica ed enzimatica dell'alimento stesso. Tale parametro, infatti, è il principale responsabile della modulazione della risposta microbica, interferendo anche sulla tipologia di microrganismi che possono svilupparsi negli alimenti [81,82]. L'attività dell'acqua, non il contenuto d'acqua, viene correlata con la crescita batterica e, per tali motivi, viene utilizzata in molti casi, dalle industrie alimentari, come punto critico di controllo per i programmi di analisi dei rischi e dei punti critici di controllo (HACCP) rappresentando, quindi, un utile strumento per valutare la qualità e la sicurezza di un alimento [83].

TVBN

I risultati delle analisi volte alla valutazione delle componenti di degradazione della frazione azotata hanno mostrato come in entrambe le tipologie di conservazione in ghiaccio, nell'arco del periodo di valutazione della *shelf life* i valori di TVBN (Figura 87 e Tabella 65) si siano mantenuti al di sotto del limite di accettabilità di 25 mg TVBN/100g indicato per le specie a ridotto contenuto lipidico [62] (Figura 87).

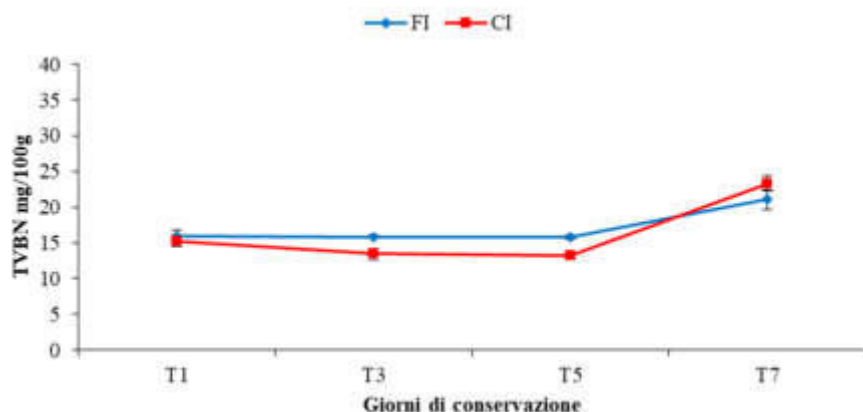


Figura 87. Andamento dei valori di TVBN della parte edibile di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 65. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati del TVBN mostrati in Figura 87

	T1	T3	T5	T7
FI	a	a/B	a/B	b/B
CI	b	a/A	a/A	c/A

Le lettere diverse minuscole (a, b, c,) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Nei campioni conservati in FI il contenuto di TVBN ha mostrato un incremento significativo ($p < 0,05$) a partire dal T1 mentre nei campioni conservati in CI un incremento significativo del TVBN è stato registrato al termine della prova rispetto al primo giorno di campionamento (Figura 87 e Tabella 65). Inoltre il confronto tra le due tipologie di trattamento ha rivelato che nei campioni conservati in FI i valori di TVBN sono risultati significativamente più alti ($p < 0,05$) rispetto ai valori osservati nei campioni in CI già dopo 3 giorni di conservazione e fino al termine della prova (Tabella 65), evidenziando come la tipologia di ghiaccio innovativo abbia rallentato in modo significativo la formazione di TVBN con valori significativamente più bassi nei campioni in CI (Figura 87 e Tabella 65). Tali informazioni risultano rilevanti considerato che il TVBN è ritenuto un parametro importante per la valutazione della qualità dei prodotti ittici, strettamente correlato all'attività microbica, e il controllo di tale parametro è importante per garantire la sicurezza e prolungare la durata di conservazione dei prodotti della pesca [1]. Un contenuto significativamente più elevato di TVBN nei campioni conservati in FI rispetto alla conservazione in CI è stato riportato in letteratura anche per altre specie di gambero delle quali è stata studiata la *shelf life* in modo comparativo con le due tipologie di ghiaccio (FI e CI) [21]. Livelli di TVBN significativamente più bassi vengono attribuiti all'inibizione della crescita dei microrganismi e delle reazioni autolitiche muscolari con trattamento con *slurry ice*, il che suggerisce un'azione migliorativa dell'uso del ghiaccio innovativo sulla qualità del gambero [21].

MDA

I risultati delle analisi per la valutazione del contenuto di malondialdeide (MDA), correlato alla degradazione della componente lipidica, sono mostrati in Figura 88.

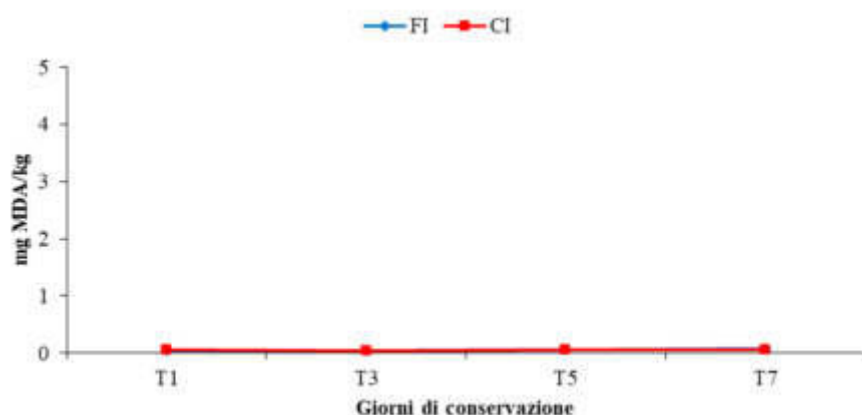


Figura 88. Andamento dei valori di MDA della parte edibile di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI).

Tabella 66. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'MDA mostrati in Figura 88.

	T1	T3	T5	T7
FI	a	a	a	b/B
CI				/A

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Nei campioni in FI è stato osservato un incremento significativo del contenuto di MDA soltanto dopo sette giorni di conservazione ($p < 0,05$ Figura 88 e Tabella 66). Gli esemplari conservati in CI, invece, non hanno mostrato differenze significative durante la *shelf life* (Figura 88 e Tabella 66). Differenze statisticamente significative ($p < 0,05$) sono state osservate tra i campioni conservati in FI e quelli in ghiaccio innovativo, con valori inferiori in quest'ultimi, soltanto al termine della valutazione della *shelf life* (T7) (Tabella 22). Risultati paragonabili sono stati osservati nel gambero sottoposto a due diversi regimi di conservazione in ghiaccio (ghiaccio a scaglie e *slurry ice*) [21].

L'incremento del contenuto di MDA nei prodotti ittici indica la formazione di prodotti di ossidazione lipidica secondaria [84]. La perossidazione lipidica, corrispondente al deterioramento ossidativo degli acidi grassi polinsaturi del tessuto muscolare, porta inoltre alla produzione di sapori e odori sgradevoli, riducendo in tal modo la durata di conservazione, e, in tale contesto, l'uso del ghiaccio innovativo nella conservazione del gambero può rappresentare un valido strumento per ridurre l'ossidazione lipidica [21].

Tuttavia va sottolineato che i risultati dell'analisi del contenuto di MDA nel corso della prova di *shelf life*, hanno mostrato valori molto bassi in tutti i campioni analizzati. I risultati ottenuti, paragonabili ai dati presenti in letteratura nel gambero [141] sono indicativi di un basso grado di ossidazione negli esemplari oggetto di studio, probabilmente dovuto anche al ridotto contenuto lipidico di quest'ultimi, così come osservato nel corso di altri studi [140].

Analisi microbiologiche

Le analisi microbiologiche sono state condotte dal Laboratorio Idrolab Consult s.a.s, a cui venivano consegnati, da parte di operatori della Bio&Tec Soc. Coop. arl, durante la valutazione della *shelf life* i campioni di pesce opportunamente prelevati e conservati. I risultati delle valutazioni

microbiologiche, condotte con metodologie accreditate, sono riportati nel rapporto di prova corrispondente all'allegato 7.

I risultati delle analisi microbiologiche degli esemplari di *A. foliacea* nel corso della valutazione della *shelf life* sono mostrati in Figura 89.

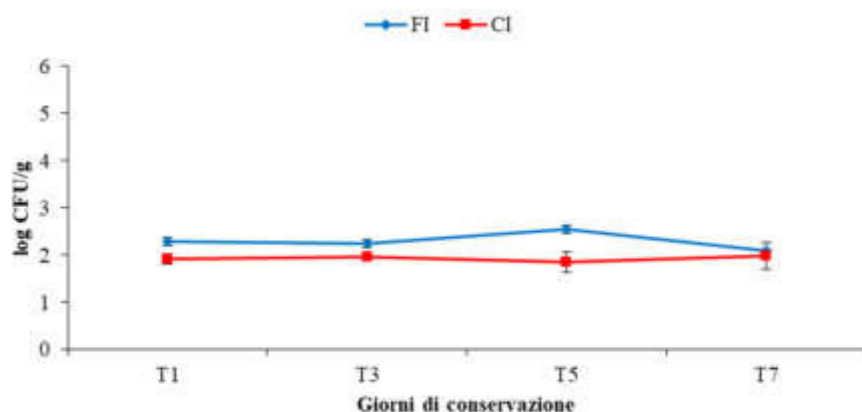


Figura 89. Analisi microbiologiche (conta dei microorganismi a 30 °C) espressi in log CFU/g degli esemplari di *A. foliacea* durante il periodo di conservazione in Flake Ice (FI) e Creamy Ice® (CI). (Allegato 7: Esame microbiologico *P. longirostris* e *A. foliacea*: Conta dei microrganismi a 30 °C).

Tabella 67. Analisi statistica (ANOVA) condotta sui dati dell'analisi microbiologica mostrati in Figura 89

	T1	T3	T5	T7
FI	a/B	a/B	b/B	a
CI	A	A	A	

Le lettere diverse minuscole (a, b) per riga indicano differenze significative ($p < 0,05$) all'interno dello stesso trattamento durante la *shelf life*.

Le Lettere diverse maiuscole (A, B) per colonna indicano differenze significative ($p < 0,05$) tra i trattamenti allo stesso giorno di conservazione

Come è possibile osservare, la carica microbica degli esemplari conservati in CI non ha mostrato variazioni significative nel tempo, mentre negli esemplari conservati in FI è stato osservato un incremento significativo al T5 (Figura 89 e Tabella 67).

La carica microbica nei campioni mantenuti in CI è stata significativamente più bassa rispetto ai campioni mantenuti in FI ($p < 0,05$) fino al quinto giorno di conservazione. Questo risultato evidenzia come, in accordo con quanto presente in letteratura, l'utilizzo del CI abbia rallentato lo sviluppo di microrganismi durante la *shelf life* [33].

Per l'intero periodo di *shelf life*, nessuno dei campioni analizzati, ha presentato valori superiori al limite normativo della conta dei microorganismi a 30 °C, indicato in 10^3 cfu/g (3 log cfu/g) nel Regolamento CE 2073/2005 e ss.mm (Figura 89) [94] e al limite suggerito in letteratura come limite di accettabilità, relativamente alla conta dei batteri mesofili, nei prodotti freschi della pesca [1].

Conclusione

Nel corso dei 7 giorni di valutazione della *shelf life* degli esemplari di *A. foliacea*, conservati in FI e CI, la valutazione sensoriale ha evidenziato come, per entrambe le tipologie di conservazioni in ghiaccio, dopo sette giorni di conservazione, siano stati superati i limiti di accettabilità, in accordo con quanto riportato in letteratura per la stessa specie, conservata in ghiaccio [51]. Tuttavia gli esemplari conservati in CI hanno presentato, nel corso della *shelf life*, caratteristiche sensoriali

migliori in confronto agli esemplari conservati in FI: infatti, quest'ultimi hanno mostrato una significativa riduzione delle caratteristiche sensoriali, tipiche del prodotto appena pescato, già dopo tre giorni di conservazione, mentre per gli esemplari sottoposti al trattamento in CI ciò si è verificato dopo cinque giorni di conservazione. Allo stesso modo, già dopo tre giorni di conservazione, gli esemplari conservati in FI hanno mostrato la presenza di una melanosi significativamente maggiore rispetto agli esemplari conservati in CI.

La valutazione delle caratteristiche di qualità del prodotto, in termini di analisi strumentale del colore e tessitura della carne, parametri indicativi di importanti proprietà sensoriali del gambero, che influiscono notevolmente sulle scelte dei consumatori, ha consentito di osservare che le due diverse metodiche di conservazione in ghiaccio hanno determinato differenze statisticamente significative soltanto nel periodo intermedio della valutazione della *shelf life* (T3 e T5), non mostrando alcuna influenza su tali parametri dopo sette giorni di conservazione, quando le caratteristiche sensoriali degli esemplari analizzati non erano più accettabili.

In particolare, le differenze significative rilevate nella valutazione del colore sono correlabili, come suggerito in letteratura [134,135], alla più marcata melanosi osservata negli esemplari conservati in FI rispetto agli esemplari in CI.

Relativamente ai parametri biochimici correlati alla *shelf life*, nel presente studio è stato osservato che i campioni mantenuti in CI presentavano un contenuto di TVBN significativamente più basso nel periodo della valutazione della *shelf life*, rispetto ai campioni mantenuti in FI. Tali risultati, come anche evidenziato dai valori di pH e della conta microbica, indicano presumibilmente un effetto migliorativo del trattamento con CI sulle caratteristiche sensoriali e di sicurezza dei prodotti della pesca. Allo stesso modo, il trattamento in CI ha avuto un effetto positivo nel prevenire la formazione dei prodotti di degradazione lipidica secondaria, come mostrato dal contenuto di MDA. Infatti, nei campioni in FI è stato osservato un incremento del contenuto di MDA dopo sette giorni di conservazione, con valori che differivano in modo statisticamente significativo rispetto al T1, mentre gli esemplari conservati in CI hanno presentato un contenuto di MDA che si è mantenuto costante nel corso del periodo di conservazione. Differenze statisticamente significative sono state osservate tra i campioni conservati in FI e quelli in CI, con valori inferiori in quest'ultimi, soltanto al termine della valutazione della *shelf life*. Come viene riportato in letteratura l'uso del *slurry ice*, nella conservazione del gambero, può rappresentare un valido strumento per ridurre l'ossidazione lipidica [21]. Tuttavia, va sottolineato che i risultati dell'analisi del contenuto di MDA, paragonabili ai dati presenti in letteratura [141], sono indicativi di un basso grado di ossidazione lipidica, negli esemplari oggetto di studio, probabilmente dovuto anche al ridotto contenuto lipidico di questi ultimi [140].

In conclusione è possibile affermare che il trattamento in CI degli esemplari di *A. foliacea* ha mostrato alcuni effetti positivi sul mantenimento della qualità e della freschezza, in particolar modo fino a cinque giorni di conservazione. La conservazione in CI di tale specie, di grande rilevanza dal punto di vista commerciale, può essere considerata quindi una tecnica potenzialmente utile per migliorarne la *shelf life*; tuttavia, così come per le altre specie target analizzate nel corso della ricerca, va evidenziato che negli esemplari trattati con CI è stato osservato un aumento significativo del contenuto di sodio nel periodo oggetto di studio, dovuto, come anche evidenziato in letteratura, alla presenza del cloruro di sodio nel CI [76–80].

BIBLIOGRAFIA

1. Yu, D.; Wu, L.; Regenstein, J.M.; Jiang, Q.; Yang, F.; Xu, Y.; Xia, W. Recent advances in quality retention of non-frozen fish and fishery products: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2020**, *60*, 1747–1759.
2. Wu, C.-H.; Chun-Hong, Y.; Xing-Qian, Y.E.; Ya-Qin, H.U.; Shi-Guo, C.; Dong-Hong, L. A Critical Review on Superchilling Preservation Technology in Aquatic Product. *J. Integr. Agric.* **2014**, *13*.
3. Liu, D.; Liang, L.; Xia, W.; Regenstein, J.M.; Zhou, P. Biochemical and physical changes of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillets stored at -3 and 0 °C. *Food Chem.* **2013**, *140*, 105–114.
4. Ojagh, S.M.; Rezaei, M.; Razavi, S.H.; Hosseini, S.M.H. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chem.* **2010**, *120*, 193–198.
5. Kauffeld, M.; Gund, S. Ice slurry – History, current technologies and future developments. *Int. J. Refrig.* **2019**, *99*, 264–271.
6. Boyd, N.. The chilling of southern bluefin tuna [*Thunnus maccoyii*]. In Proceedings of the Proceedings Refrigeration of perishable products for distant markets,; Hamilton Meet., IIR/C. R. Réunion. Hamilton, I., Ed.; 1982.
7. Chapman, L. Making the grade. Ice slurries get top marks for quality products. *Aust. Fish.* **1990**, 16–19.
8. Thomas, F.; Iyer, T.S.G.; Balachandran, V. Preservation of fish in ice and ice-seawater slurry. In Proceedings of the Proceedings of the Second Workshop on Scientific Results of FORV Sugar Sampada; Pillai, V.K., Abidi, S.A.H., Ravindran, V., Balachandran, K.K., Agadi, V. V., Eds.; Department of Ocean Development Government: New Delhi, India, 1996; pp. 529–533.
9. Burns, D.E. Automatic Liquid Ice System US 4,249,388, 1981.
10. W. Ma, Z.; Zhang, P.; Z. Wang, R. Review of Recent Patents on Ice Slurry Generation. *Recent Patents Eng.* **2011**, *5*, 103–112.
11. Özoğul, Y. *Innovative Technologies in Seafood Processing*; CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group, an I. business, Ed.; CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group, an Informa business: Broken Sound Parkway NW, 2019; ISBN 9780815366447.
12. Campos, C.A.; Rodríguez, Ó.; Losada, V.; Aubourg, S.P.; Barros-Velázquez, J. Effects of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*). *Int. J. Food Microbiol.* **2005**, *103*, 121–130.
13. Campos, C.A.; Losada, V.; Rodriguez, O.; Aubourg, S.P.; Barros-Velazquez, J. Evaluation of an ozone-slurry ice combined refrigeration system for the storage of farmed turbot (*Psetta maxima*). *Food Chem.* **2006**, *97*, 223–230.
14. Rodríguez, Ó.; Losada, V.; Aubourg, S.P.; Barros-Velázquez, J. Enhanced shelf-life of chilled European hake (*Merluccius merluccius*) stored in slurry ice as determined by sensory analysis and assessment of microbiological activity. *Food Res. Int.* **2004**, *37*, 749–757.
15. Rodríguez, Ó.; Losada, V.; Aubourg, S.P.; Barros-Velázquez, J. Sensory, microbial and chemical effects of a slurry ice system on horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *J. Sci. Food Agric.* **2005**, *85*, 235–242.
16. Rodríguez, Ó.; Barros-Velázquez, J.; Piñeiro, C.; Gallardo, J.M.; Aubourg, S.P. Effects of storage in slurry ice on the microbial, chemical and sensory quality and on the shelf life of farmed turbot (*Psetta maxima*). *Food Chem.* **2006**, *95*, 270–278.
17. Haris, D.; Dahlan, D.; Abidin, G.Z.; Partono, C.E.; Budihadi, A. Slurry Ice Machine Design Production Capacity of 1 . 3 Tons. *Int. J. Appl. Eng. Res.* **2020**, *15*, 212–215.

18. Rayhan, F.A.; Pamitran, A.S.; Yanuar; Patria, M.P. Investigating the performance of ice slurry system and the growth of ice crystals using seawater. *J. Mech. Sci. Technol.* **2020**, *34*, 2627–2636.
19. Davey, K.R. A quantitative failure assessment of ice slurry cooling of fish at sea to meet regulatory guidelines - Demonstrated with Southern Bluefin Tuna (*Thunnus maccoyii*). *J. Food Eng.* **2016**, *183*, 58–64.
20. Simitzis, P.E.; Tsopelakos, A.; Charismiadiou, M.A.; Batzina, A.; Deligeorgis, S.G.; Miliou, H. Comparison of the effects of six stunning/killing procedures on flesh quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus 1758) and evaluation of clove oil anaesthesia followed by chilling on ice/water slurry for potential implementation in aquaculture. *Aquac. Res.* **2014**, *45*, 1759–1770.
21. Zhang, B.; Deng, S. gui; Gao, M.; Chen, J. Effect of Slurry Ice on the Functional Properties of Proteins Related to Quality Loss during Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*) Chilled Storage. *J. Food Sci.* **2015**, *80*, C695–C702.
22. Piñeiro, C.; Barros-Velázquez, J.; Aubourg, S.P. Effects of newer slurry ice systems on the quality of aquatic food products: A comparative review versus flake-ice chilling methods. *Trends Food Sci. Technol.* **2004**, *15*, 575–582.
23. Kilinc, B.; Cakli, S.; Cadun, A.; Dincer, T.; Tolasa, S. Comparison of effects of slurry ice and flake ice pretreatments on the quality of aquacultured sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored at 4 °C. *Food Chem.* **2007**, *104*, 1611–1617.
24. Huidobro, A.; Mendes, R.; Nunes, M.L. Slaughtering of gilthead seabream (*Sparus aurata*) in liquid ice: Influence on fish quality. *Eur. Food Res. Technol.* **2001**, *213*, 267–272.
25. Kauffeld, M.; Wang, M.J.; Goldstein, V.; Kasza, K.E. Ice slurry applications. *Int. J. Refrig.* **2010**, *33*, 1491–1505.
26. Kauffeld, M.; Kawaij, M.; Egolf, P.W. *Handbook on ice slurries—fundamentals and engineering*; Kauffeld, M., Kawaij, M., Egolf, P.W., Eds.; International Institute of Refrigeration: 177 boulevard Malesherbes – 75017 Paris, France, 2005; ISBN 2913149421.
27. Ntzimani, A.; Angelakopoulos, R.; Semenoglou, I.; Dermesonlouoglou, E.; Tsironi, T.; Moutou, K.; Taoukis, P. Slurry ice as an alternative cooling medium for fish harvesting and transportation: Study of the effect on seabass flesh quality and shelf life. *Aquac. Fish.* **2021**, 1–8.
28. Zhao, Y.; Lan, W.; Shen, J.; Xu, Z.; Xie, J. Combining ozone and slurry ice treatment to prolong the shelf-life and quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Lwt* **2022**, *154*, 112615.
29. Lan, W.Q.; Zhang, W.J.; Liu, J.L.; Xie, J. Effects of Precooling with Slurry Ice on the Freshness of Farmed Perch (*Lateolabrax japonicus*) during Logistics Process. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* **2021**, *30*, 162–175.
30. Bono, G.; Okpala, C.O.R.; Vitale, S.; Ferrantelli, V.; Noto, A. Di; Costa, A.; Di Bella, C.; Monaco, D. Lo Effects of different ozonized slurry-ice treatments and superchilling storage (–1°C) on microbial spoilage of two important pelagic fish species. *Food Sci. Nutr.* **2017**, *5*, 1049–1056.
31. Chen, J.; Huang, J.; Deng, S.; Huang, Y. Combining ozone and slurry ice to maximize shelf-life and quality of bighead croaker (*Collichthys niveatus*). *J. Food Sci. Technol.* **2016**, *53*, 3651–3660.
32. Jeyakumari, A.; Narasimha, M.L.; Visnuvinayagam, S.; Ravishankar, C.N. A Comparative Study on the Quality Changes of Croaker (*Johnius dussumieri*) Fish Stored in Slurry Ice and Flake Ice. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* **2018**, *27*, 508–517.
33. Huidobro, A.; López-Caballero, M.; Mendes, R. Onboard processing of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) with liquid ice: Effect on quality. *Eur. Food Res. Technol.* **2002**.

34. Narasimha Murthy, L.; Phadke, G.G.; Jeyakumari, A.; Parvathy, U.; Visnuvinayagam, S. Biochemical, Textural and Microbiological Quality of Squid Stored Under Conventional and Slurry Ice During Onboard Fishing. *Proc. Natl. Acad. Sci. India Sect. B - Biol. Sci.* **2018**, *88*, 1647–1653.
35. Nagaishi, H.; Inada, T.; Yoshioka, T.; Sato, A. Development of a compact, onboard slurry icemaker to rapidly produce optimal ice for maintaining freshness of marine products. *Synthesiology* **2017**, *10*, 1–10.
36. Rayhan, F.A.; Yanuar; Pamitran, A.S. Effect of initial seawater concentration on forming ice slurry for thermal energy storage in fishing vessel. *E3S Web Conf.* **2018**, *67*, 1–6.
37. Baheramsyah, A.; Cahyono, B.; Aruan, F.S. Slurry Ice as a Cooling System on 30 GT Fishing Vessel. *Int. J. Mar. Eng. Innov. Res.* **2017**, *1*.
38. Pamitran, A.S.; Ardiansyah, H.D.; Novviali, M. A review paper of sea-water ice slurry generator and its application on Indonesian traditional fishing. *Appl. Mech. Mater.* **2013**, *388*, 128–132.
39. Kontominas, M.G.; Badeka, A. V.; Kosma, I.S.; Nathanailides, C.I. Innovative seafood preservation technologies: Recent developments. *Animals* **2021**, *11*, 1–40.
40. Kim, J.G.; Yousef, A.E.; Dave, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *J. Food Prot.* **1999**, *62*, 1071–1087.
41. Agustini, T.W.; Nur, M.; Kusdiyantini, E. Application of Ozone-Slurry Ice Combined System for Maintaining the Freshness of Red Tilapia and Short-Bodied Mackerel During Cold Storage. *J. Pengolah. Has. Perikan. Indones.* **2017**, *20*, 424–431.
42. Losada, V.; Barros-Velázquez, J.; Gallardo, J.M.; Aubourg, S.P. Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2004**, *106*, 844–850.
43. Aubourg, S.P.; Losada, V.; Gallardo, J.M.; Miranda, J.M.; Barros-Velázquez, J. On-board quality preservation of megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*) by a novel ozonised-slurry ice system. *Eur. Food Res. Technol.* **2006**, *223*, 232–237.
44. Aubourg, S.P.; Testi, S.; Sanxuás, M.; Gil, C.; Barros-Velázquez, J. Improved quality and shelf life of farmed trout (*Oncorhynchus mykiss*) by whole processing in a combined ozonised flow ice refrigeration system. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2009**, *44*, 1595–1601.
45. Conficoni, D.; Orymbetova, G.; ... L.A.- Effect of ozonized carbonated slurry ice on microbial load of fresh fishes. *Научные труды ИОКГУ им. М. Ауэзова* **2020**, *2*, 63–68.
46. Triqui, R.; Bouchriti, N. Freshness Assessments of Moroccan Sardine (*Sardina pilchardus*): Comparison of Overall Sensory Changes to Instrumentally Determined Volatiles. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7540–7546.
47. Pons-Sánchez-Cascado, S.; Vidal-Carou, M.C.; Nunes, M.L.; Veciana-Nogués, M.T. Sensory analysis to assess the freshness of Mediterranean anchovies (*Engraulis encrasicolus*) stored in ice. *Food Control* **2006**, *17*, 564–569.
48. Huidobro, A.; Pastor, A.; Tejada, M. Quality index method developed for raw gilthead seabream (*Sparus aurata*). *J. Food Sci.* **2000**, *65*, 1202–1205.
49. Tam, L.N.; Giao, N.N.; Nhung, T.T.N.; Duyen, Đ.B.; Nhung, L.T.H.; Thanh, N.B.; Thi, T.T. Van Development quality index method (QIM) to assess the freshness and shelf life of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) stored at 0°C. *Hue Univ. J. Sci. Nat. Sci.* **2017**, *126*, 19.
50. Bono, G.; Badalucco, C.V.; Cusumano, S.; Palmegiano, G.B. Toward shrimp without chemical additives: A combined freezing-MAP approach. *LWT - Food Sci. Technol.* **2012**, *46*, 274–279.
51. Smaldone, G.; Marrone, R.; Vollano, L.; Chirollo, C.; Pellicane, A.; Palma, G. Shelf Life Di Crostacei Decongelati Trattati Con Solfiti Shelf Life of Thawed Crustaceans Treated With Sulphites. *Ital. J. Food Saf.* **2011**, *1*, 85–89.
52. Bono, G.; Okpala, C.O.R.; Alberio, G.R.A.; Messina, C.M.; Santulli, A.; Giacalone, G.;

- Spagna, G. Toward shrimp consumption without chemicals: Combined effects of freezing and modified atmosphere packaging (MAP) on some quality characteristics of Giant Red Shrimp (*Aristaeomorpha foliacea*) during storage. *Food Chem.* **2016**, *197*, 581–588.
53. Ju, J.; Liao, L.; Qiao, Y.; Xiong, G.; Li, D.; Wang, C.; Hu, J.; Wang, L.; Wu, W.; Ding, A.; et al. The effects of vacuum package combined with tea polyphenols (V+TP) treatment on quality enhancement of weever (*Micropterus salmoides*) stored at 0 °C and 4 °C. *LWT - Food Sci. Technol.* **2018**, *91*, 484–490.
54. CIE; Commission Internationale de l'Eclairage Colorimetry, 3rd Edition. *CIE 0152004 Color. 3rd Ed.* **2004**, *15*, 1–82.
55. Folch, J.; Lees, M.; Stanley, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957, *226*, 497–509.
56. Lepage, G.; Roy, C.C. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. *J. Lipid Res.* **1984**, *25*, 1391–6.
57. AOAC Official methods of analysis. *Assoc. Off. Anal. Chem.* **1990**, *1*, 1230.
58. AOAC. *Official Methods of Analysis: Changes in Official Methods of Analysis Made at the Annual Meeting*; 1990; Vol. 15 th; ISBN 9780935584752.
59. AOAC Association of Official Analytical Chemists Official Method, 981.10 Crude protein in meat block digestion method. *J. AOAC Inter* **1992**, *65*, 1339.
60. The European Parliament and the Council of the European Union REGULATION (EU) No 1169/2011 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers, amending Regulations (EC) No 1924/2006 and (EC) No 1925/2006 of the European Parliament and of the Council, an. *Off. J. Eur. Union* **2011**.
61. Botsoglou, N.A.; Fletouris, D.J.; Papageorgiou, G.E.; Vassilopoulos, V.N.; Mantis, A.J.; Trakatellis, A.G. Rapid, Sensitive, and Specific Thiobarbituric Acid Method for Measuring Lipid Peroxidation in Animal Tissue, Food, and Feedstuff Samples. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 1931–1937.
62. Regolamento (CE) N. 2074/2005 *Regolamento (CE) N. 2074/2005 della commissione del 5 dicembre 2005*; 2005; pp. 27–59;.
63. Gómez-Guillén, M, C., Montero, P., Hurtado, O., Borderías, A, J. Biological Characteristics Affect the Quality of Farmed Atlantic Salmon and Smoked Muscle. *Food Chemistry and Toxicology*, Vol.65, 1, 53–60. *Food Chem. Toxicol.* **2000**, *65*, 53–60.
64. Chan, S.S.; Roth, B.; Jessen, F.; Løvdal, T.; Jakobsen, A.N.; Lerfall, J. A comparative study of Atlantic salmon chilled in refrigerated seawater versus on ice: from whole fish to cold-smoked fillets. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 1–12.
65. Erikson, U.; Misimi, E.; Gallart-Jornet, L. Superchilling of rested Atlantic salmon: Different chilling strategies and effects on fish and fillet quality. *Food Chem.* **2011**, *127*, 1427–1437.
66. Tan, M.; Mei, J.; Xie, J. The formation and control of ice crystal and its impact on the quality of frozen aquatic products: A review. *Crystals* **2021**, *11*, 1–17.
67. Regost, C.; Jakobsen, J.V.; Rørå, A.M.B. Flesh quality of raw and smoked fillets of Atlantic salmon as influenced by dietary oil sources and frozen storage. *Food Res. Int.* **2004**, *37*, 259–271.
68. Messina, C.M.; Arena, R.; Ficano, G.; La Barbera, L.; Morghese, M.; Santulli, A. Combination of Freezing, Low Sodium Brine, and Cold Smoking on the Quality and Shelf-Life of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) Fillets as a Strategy to Innovate the Market of Aquaculture Products. *Animals* **2021**, *11*, 185 1–19.
69. Kono, S.; Kon, M.; Araki, T.; Sagara, Y. Effects of relationships among freezing rate, ice crystal size and color on surface color of frozen salmon fillet. *J. Food Eng.* **2017**, *214*, 158–165.

70. Chaijan, M.; Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Faustman, C. Changes of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. *Food Chem.* **2005**, *93*, 607–617.
71. Gökodlu, N.; Özden, Özkan; Erkan, N. Physical, chemical and sensory analyses of freshly harvested sardines (*Sardina pilchardus*) stored at 4 °C. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* **1998**, *7*, 5–15.
72. Tomac, A.; Cova, M.C.; Narvaiz, P.; Yeannes, M.I. Texture, color, lipid oxidation and sensory acceptability of gamma-irradiated marinated anchovy fillets. *Radiat. Phys. Chem.* **2015**, *106*, 337–342.
73. Cheng, J.-H.; Sun, D.-W.; Han, Z.; Zeng, X.-A. Texture and Structure Measurements and Analyses for Evaluation of Fish and Fillet Freshness Quality: A Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2014**, *13*, 52–61.
74. Hultmann, L.; Rustad, T. Textural changes during iced storage of salmon (*Salmo salar*) and cod (*Gadus morhua*). *J. Aquat. Food Prod. Technol.* **2002**, *11*, 105–123.
75. Yang, F.; Jing, D.; Diao, Y.; Yu, D.; Gao, P.; Xia, W.; Jiang, Q.; Xu, Y.; Yu, P.; Zhan, X. Effect of immersion freezing with edible solution on freezing efficiency and physical properties of obscure pufferfish (*Takifugu obscurus*) fillets. *Lwt* **2020**, *118*.
76. Losada, V.; Barros-Velázquez, J.; Gallardo, J.M.; Aubourg, S.P. Effect of previous slurry ice treatment on the quality of cooked sardine (*Sardina pilchardus*). *Eur. Food Res. Technol.* **2006**, *224*, 193–198.
77. Losada, V.; Barros-Velázquez, J.; Aubourg, S.P. Rancidity development in frozen pelagic fish: Influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. *LWT - Food Sci. Technol.* **2007**, *40*, 991–999.
78. de Oliveira, S.; Gonzaga, L.V.; Faria, G.; Barbosa, R.G.; Arroyo, C.B.B.; Biluca, F.C.; Schulz, M.; Costa, A.C.O.; Fett, R. Brazilian sardinella (*Sardinella brasiliensis*) conservation by immersion in seawater added with sea salt and refrigerated on-board. *Aquac. Res.* **2019**, *50*, 3429–3434.
79. Barwick, M.; Diggles, B.; Smith, P.H.- *A review of the use of ice slurry and refrigerated seawater for the killing and holding of finfish*; 2015;
80. Tsironi, T.N.; Taoukis, P.S. Effect of storage temperature and osmotic pre-treatment with alternative solutes on the shelf-life of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fillets. *Aquac. Fish.* **2017**, *2*, 39–47.
81. Tapia, M.S.; Alzamora, S.M.; Chirife, J. Effects of Water Activity (aw) on Microbial Stability: As a Hurdle in Food Preservation. In *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*; 2008; pp. 239–271 ISBN 0813824087.
82. Tsironi, T.N.; Taoukis, P.S. Effect of processing parameters on water activity and shelf life of osmotically dehydrated fish filets. *J. Food Eng.* **2014**, *123*, 188–192.
83. Abbas, K.A.; Saleh, A.M.; Mohamed, A.; Lasekan, O. The relationship between water activity and fish spoilage during cold storage: A review. *J. Food, Agric. Environ.* **2009**, *7*, 86–90.
84. Pezeshk, S.; Rezaei, M.; Hosseini, H. Effects of Turmeric, Shallot Extracts, and Their Combination on Quality Characteristics of Vacuum-Packaged Rainbow Trout Stored at 4 ± 1 °C. *J. Food Sci.* **2011**, *76*, M387–M391.
85. Leonor Nunes, M.; Cardinal, M.; Mendes, R.; Morao Campos, R.; Bandarra, N.M.; Lourenço, H.; Jerome, M. Effect of season and storage on proteins and lipids of sardine (*Sardina pilchardus*) minces and surimi. *Qual. Assur. Fish Ind.* **1992**, 73–79.
86. Bensid, A.; Ucar, Y.; Bendeddouche, B.; Ozogul, F. Effect of the icing with thyme, oregano and clove extracts on quality parameters of gutted and beheaded anchovy (*Engraulis encrasicolus*) during chilled storage. *Food Chem.* **2014**, *145*, 681–686.
87. Massa, A.E.; Manca, E.; Yeannes, M.I. Development of quality index method for anchovy

- (*Engraulis anchoita*) stored in ice: Assessment of its shelf-life by chemical and sensory methods. *Food Sci. Technol. Int.* **2012**, 18, 339–351.
88. Jeyakumari A; George Ninan; Joshy C G; Parvathy U; Zynudheen A A; Lalitha K V Effect of chitosan on shelf life of restructured fish products from pangasius (*pangasianodon hypophthalmus*) surimi during chilled storage. *J. Food Sci. Technol.* **2016**, 53, 2099–2107.
89. Annamalai, J.; Lakshmi, N.M.; Sivam, V.; Rao, R.C.N. A Comparative Study on the Quality Changes of Croaker (*Johnius dussumieri*) Fish Stored in Slurry Ice and Flake Ice. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* **2018**, 27, 508–517.
90. Ruiz-Capillas, C.; Moral, A. Correlation between biochemical and sensory quality indices in hake stored in ice. *Food Res. Int.* **2001**.
91. Dawson, P.; Al-Jeddawi, W.; Remington, N. Effect of Freezing on the Shelf Life of Salmon. *Int. J. Food Sci.* **2018**, 2018.
92. Ariano, A.; Scarano, L.; Mormile, A.; Barile, M.; Palma, G.; Murru, N. Shelf life of anchovy products (*Engraulis encrasicolus*): Evaluation of sensory, microbiological and chemical properties. *Ital. J. Food Saf.* **2014**, 3, 9–11.
93. Hernandez-Herrero, M.M.; Roig-Sagues, A.X.; Lopez-Sabater, E.I.; Rodriguez-Jerez, J.J.; Mora-Ventura, M.T. Influence of raw fish quality on some physicochemical and microbial characteristics as related to ripening of salted anchovies (*Engraulis encrasicolus* L.). *J. Food Sci.* **2002**, 67, 2631–2640.
94. Gazzetta ufficiale dell'Unione europea *REGOLAMENTO (CE) n. 2073/2005 DELLA COMMISSIONE del 15 novembre 2005*; 2005;
95. IREPA *Studio descrittivo industria di trasformazione*.; 2010;
96. Montaner, M.I.; Zugarramurdi, A. Unfluence of Anchovy Quality on Yield and Productivity in Salting Plants. *J. Food Qual.* **1995**, 18, 69–82.
97. Alfonzo, A.; Gaglio, R.; Francesca, N.; Barbera, M.; Saiano, F.; Santulli, A.; Matraxia, M.; Rallo, F.; Moschetti, G. Influence of salt of different origin on the microbiological characteristics, histamine generation and volatile profile of salted anchovies (*Engraulis encrasicolus* L.). *Food Control* **2018**, 92, 301–311.
98. Pons-Sánchez-Cascado, S.; Veciana-Nogués, M.T.; Bover-Cid, S.; Mariné-Font, A.; Vidal-Carou, M.C. Volatile and biogenic amines, microbiological counts, and bacterial amino acid decarboxylase activity throughout the salt-ripening process of anchovies (*Engraulis encrasicolus*). *J. Food Prot.* **2005**, 68, 1683–1689.
99. Rojas-De-Los-Santos, E.; Valverde-Vera, V.; Del-Aguila-Moyano, S.; Vela-Rosas, J.; Molleda-Ordoñez, A.; Ayala-Galdos, M.; Albrecht-Ruiz, M. Physicochemical and sensory changes of vacuum-packed, salt-ripened anchovy fillets (*Engraulis ringens*) stored at 8 and 20°C. *Cogent Food Agric.* **2018**, 4, 1–11.
100. Silveira, N.V.V.; Zamboni, C. de Q.; Jakabi, M.; Anraku, T.Y. Sardinhas inteiras, salgadas e prensadas: condições higiênico-sanitárias, estado de conservação e valor nutritivo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **1986**, 46, 111–6.
101. Connell, J. Methods of assessing and selecting for quality. In *Control of fish quality*; Blackwell Science, Ed.; Cambridge, U.K., 1978; pp. 135–144.
102. Bellas, I.; Tassou, S.A. Present and future applications of ice slurries. *Int. J. Refrig.* **2005**, 28, 115–121.
103. Mendes, R. Technological processing of fresh gilthead seabream (*Sparus aurata*): A review of quality changes. *Food Rev. Int.* **2018**, 35, 20–53.
104. Offer, G.; Knight, P.; Jeacocke, R.; Almond, R.; Cousins, T. The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. *Food Microstruct.* **1989**, 8, 151–170.
105. Bekhit, A.E.D.A.; Morton, J.D.; Dawson, C.O.; Sedcole, R. Optical properties of raw and

- processed fish roes from six commercial New Zealand species. *J. Food Eng.* **2009**, *91*, 363–371.
106. Andrés-Bello, A.; De Jesús, C.; García-Segovia, P.; Pagán-Moreno, M.J.; Martínez-Monzó, J. Vacuum impregnation as a tool to introduce biopreservatives in gilthead sea bream fillets (*Sparus aurata*). *LWT - Food Sci. Technol.* **2015**, *60*, 758–765.
107. Pathare, P.B.; Opara, U.L.; Al-Said, F.A.J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol.* **2013**, *6*, 36–60.
108. Ünal Şengör, G.F.; Balaban, M.O.; Topaloğlu, B.; Ayvaz, Z.; Ceylan, Z.; Doğruyol, H. Color assessment by different techniques of gilthead seabream (*Sparus aurata*) during cold storage. *Food Sci. Technol.* **2019**, *39*, 696–703.
109. Cakli, S.; Kilinc, B.; Cadun, A.; Dincer, T.; Tolasa, S. Quality differences of whole ungutted sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) while stored in ice. *Food Control* **2007**, *18*, 391–397.
110. Wu, D.; Sun, D.-W. Colour measurements by computer vision for food quality control – A review. *Trends Food Sci. Technol.* **2013**, *29*, 5–20.
111. Alasalvar, C.; Taylor, K.D.A.; Shahidi, F. Comparative quality assessment of cultured and wild sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 2039–2045.
112. Caballero, M.J.; Betancor, M.; Escrig, J.C.; Montero, D.; Espinosa de los Monteros, A.; Castro, P.; Ginés, R.; Izquierdo, M. Post mortem changes produced in the muscle of sea bream (*Sparus aurata*) during ice storage. *Aquaculture* **2009**, *291*, 210–216.
113. Simeonidou, S.; Govaris, A.; Vareltzis, K. Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. *Food Res. Int.* **1997**, *30*, 479–484.
114. Zang, J.; Xu, Y.; Xia, W.; Jiang, Q. The impact of desmin on texture and water-holding capacity of ice-stored grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillet. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2017**, *52*, 464–471.
115. Chan, S.S.; Roth, B.; Skare, M.; Hernar, M.; Jessen, F.; Løvdal, T.; Jakobsen, A.N.; Lerfall, J. Effect of chilling technologies on water holding properties and other quality parameters throughout the whole value chain: From whole fish to cold-smoked fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* **2020**, *526*, 735381.
116. Trombetta, G.; Di Bona, C.; Grazi, E. The transition of polymers into a network of polymers alters per se the water activity. *Int. J. Biol. Macromol.* **2005**, *35*, 15–18.
117. Tapia, M.S.; Alzamora, S.M.; Chirife, J. Effects of Water Activity (a_w) on Microbial Stability as a Hurdle in Food Preservation. In *Water Activity in Foods*; Wiley, 2020; pp. 323–355.
118. Tejada, M.; Huidobro, A. Quality of farmed gilthead seabream [*Sparus aurata*] during ice storage related to the slaughter method and gutting. *Eur. Food Res. Technol.* **2002**, *215*, 1–7.
119. Kyrana, V.R.; Lougovois, V.P.; Valsamis, D.S. Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *Int. J. Food Sci. Technol.* **1997**, *32*, 339–347.
120. Cheng, J.H.; Sun, D.W.; Zeng, X.A.; Liu, D. Recent Advances in Methods and Techniques for Freshness Quality Determination and Evaluation of Fish and Fish Fillets: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2015**, *55*, 1012–1225.
121. Bernardo, Y.A.A.; Rosario, D.K.A.; Delgado, I.F.; Conte-Junior, C.A. Fish Quality Index Method: Principles, weaknesses, validation, and alternatives—A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2020**, *19*, 2657–2676.
122. Bogdanović, T.; Šimat, V.; Frka-Roić, A.; Marković, K. Development and Application of Quality Index Method Scheme in a Shelf-Life Study of Wild and Fish Farm Affected Bogue (*Boops boops*, L.). *J. Food Sci.* **2012**, *77*.
123. Leonor Nunes, M.; Cardinal, M.; Mendes, R.; Morao Campos, R.; Bandarra, N.M.; Lourenço, H.; Jerome, M. Effect of season and storage on proteins and lipids of sardine (*Sardinae pilchardus*) minces and surimi. *Qual. Assur. Fish Ind.* **1992**, 73–79.

124. Lanzarin, M.; Ritter, D.O.; Novaes, S.F.; Monteiro, M.L.G.; Filho, E.S.A.; Mársico, E.T.; Franco, R.M.; Conte, C.A.; Freitas, M.Q. Quality Index Method (QIM) for ice stored gutted Amazonian Pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum* × *Leiarius marmoratus*) and estimation of shelf life. *LWT - Food Sci. Technol.* **2016**, *65*, 363–370.
125. Patras, A.; Brunton, N.P.; Tiwari, B.K.; Butler, F. Stability and Degradation Kinetics of Bioactive Compounds and Colour in Strawberry Jam during Storage. *Food Bioprocess Technol.* **2011**, *4*, 1245–1252.
126. Duun, A.S.; Rustad, T. Quality of superchilled vacuum packed Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets stored at -1.4 and -3.6 °C. *Food Chem.* **2008**, *106*, 122–131.
127. Delbarre-Ladrat, C.; Chéret, R.; Taylor, R.; Verrez-Bagnis, V. Trends in postmortem aging in fish: Understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2006**, *46*, 409–421.
128. Huff-Lonergan, E.; Lonergan, S.M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. In *Proceedings of the Meat Science*; Elsevier, 2005; Vol. 71, pp. 194–204.
129. Mazorra-Manzano, M.A.; Pacheco-Aguilar, R.; Díaz-Rojas, E.I.; Lugo-Sánchez, M.E. Postmortem changes in black skipjack muscle during storage in ice. *J. Food Sci.* **2000**, *65*, 774–779.
130. Mi, H.; Qian, C.; Zhao, Y.; Liu, C.; Mao, L. Comparison of superchilling and freezing on the microstructure, muscle quality and protein denaturation of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *J. Food Process. Preserv.* **2013**, *37*, 546–554.
131. Pan, C.; Chen, S.; Hao, S.; Yang, X. Effect of low-temperature preservation on quality changes in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: a review. *J. Sci. Food Agric.* **2019**, *99*, 6121–6128.
132. Ogawa, M.; Perdigao, N.B.; de Santiago, M.E.; Kozima, T.T. On Physiological Aspects of Black spot Appearance in Shrimp. *Nippon SUISAN GAKKAISHI* **1984**, *50*, 1763–1769.
133. López-Caballero, M.E.; Martínez-Alvarez, O.; Gómez-Guillén, M.D.C.; Montero, P. Quality of thawed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with melanosis-inhibiting formulations during chilled storage. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2007**, *42*, 1029–1038.
134. Chinivasagam, H.N.; Bremner, H.A.; Wood, A.F.; Nottingham, S.M. Volatile components associated with bacterial spoilage of tropical prawns. *Int. J. Food Microbiol.* **1998**, *42*, 45–55.
135. Chinivasagam, H.N.; Bremner, H.A.; Thrower, S.J.; Nottingham, S.M. Spoilage pattern of five species of australian prawns: Deterioration is influenced by environment of capture and mode of storage. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* **1996**, *5*, 25–50.
136. López-Caballero, M.E.; Martínez-Alvarez, O.; Gómez-Guillén, M.C.; Montero, P. Several melanosis-inhibiting formulas to enhance the quality of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2019**, *51*, 91–99.
137. Varlik, C.; Bostan, K.; Bingol, E.B. Effects of treatment with chitosan and antimelanogenesis agents on discoloration of chilled and frozen stored shrimp. *Med. Weter.* **2014**, *70*, 362–368.
138. Mendes, R.; Huidobro, A.; Caballero, E.L. Indole levels in deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) from the Portuguese coast. Effects of temperature abuse. *Eur. Food Res. Technol.* **2001** *2142* **2014**, *214*, 125–130.
139. Miraglia, D.; Castrica, M.; Menchetti, L.; Esposto, S.; Branciari, R.; Ranucci, D.; Urbani, S.; Sordini, B.; Veneziani, G.; Servili, M. Effect of an olive vegetation water phenolic extract on the physico-chemical, microbiological and sensory traits of shrimp (*Parapenaeus longirostris*) during the shelf-life. *Foods* **2020**, *9*, 1–15.
140. Abreu, V.K.G.; Pereira, A.L.F.; Vidal, T.F.; Zapata, J.F.F.; de Sousa Neto, M.A.; de Freitas, E.R. Fatty acids, cholesterol, oxidative rancidity, and color of irradiated shrimp. *Cienc. e Tecnol. Aliment.* **2010**, *30*, 969–973.

141. Zhang, Z.; Xia, G.; Yang, Q.; Fan, X.; Lyu, S. Effects of chitosan-based coatings on storage quality of Chinese shrimp. *Food Sci. Nutr.* **2019**, *7*, 4085–4094.
142. Li, Y.; Yang, Z.; Li, J. Shelf-life extension of Pacific white shrimp using algae extracts during refrigerated storage. *J. Sci. Food Agric.* **2017**, *97*, 291–298.

ELENCO ALLEGATI

- Allegato 1: Esame microbiologico *S. pilchardus*: Conta dei microrganismi a 30 °C
Allegato 3: Esame microbiologico *E. encrasicolus*: Conta dei microrganismi a 30 °C
Allegato 3: Analisi del contenuto di Istamina su *S. pilchardus* e *E. encrasicolus* salata
Allegato 4: Procedura per la determinazione dell'istamina su *S. pilchardus* e *E. encrasicolus* salata
Allegato 5: Esame microbiologico *S. aurata*: Conta dei microrganismi a 30 °C
Allegato 6: Esame microbiologico *M. salmoides*: Conta dei microrganismi a 30 °C
Allegato 7: Esame microbiologico *P. longirostris* e *A. foliacea*: Conta dei microrganismi a 30 °C
Allegato 8: Relazione finale prodotta da Bio&Tec Soc. Coop

Allegato 1: Esame microbiologico *S. pilchardus*: Conta dei microrganismi a 30 °C



Sede amministrativa e laboratorio
Via Isolella n° 50 91100 Trapani
☎ 0923-24622 – fax 0923 437084
P. IVA 01481110813 – CCIAA 85713
E-mail: idrolab@idrolab.com
web site: www.idrolab.com



LAB N° 1040 L

Aut. Ministero della Sanità P.700.7.A/59.423/0851- D.L.531/92 – D.L. 286/94 Aut. Ministero della Sanità r.700.7/59.423/2131 D.P.R. 227/92 – D.Lgs. 530/92 D.Lgs. 537/92 – 65/93 – D.P.R. 54/97- D.P.R. 309/98.

Rapporto di prova n°**BTA 371/20****Richiedente****Indirizzo****Data Referto****Campione/i****Campionamento²****Data ricevimento campione****Data inizio e fine analisi****Temperatura al ricevimento****Richiesta****Note****COSVAP- DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU**

Area Porto Nuovo-Lungomare Fata Morgana (snc) Presso Mercato Ittico- Agroalimentare - 91026 Mazara del Vallo (Tp)

23/11/2020

Tessuto di pesce: Sarde

A cura del richiedente

05/11/2020

INIZIO: 05/11/2020

Da 1,5 °C a 3,8 °C

Esame microbiologico: Conta dei microrganismi a 30 °C

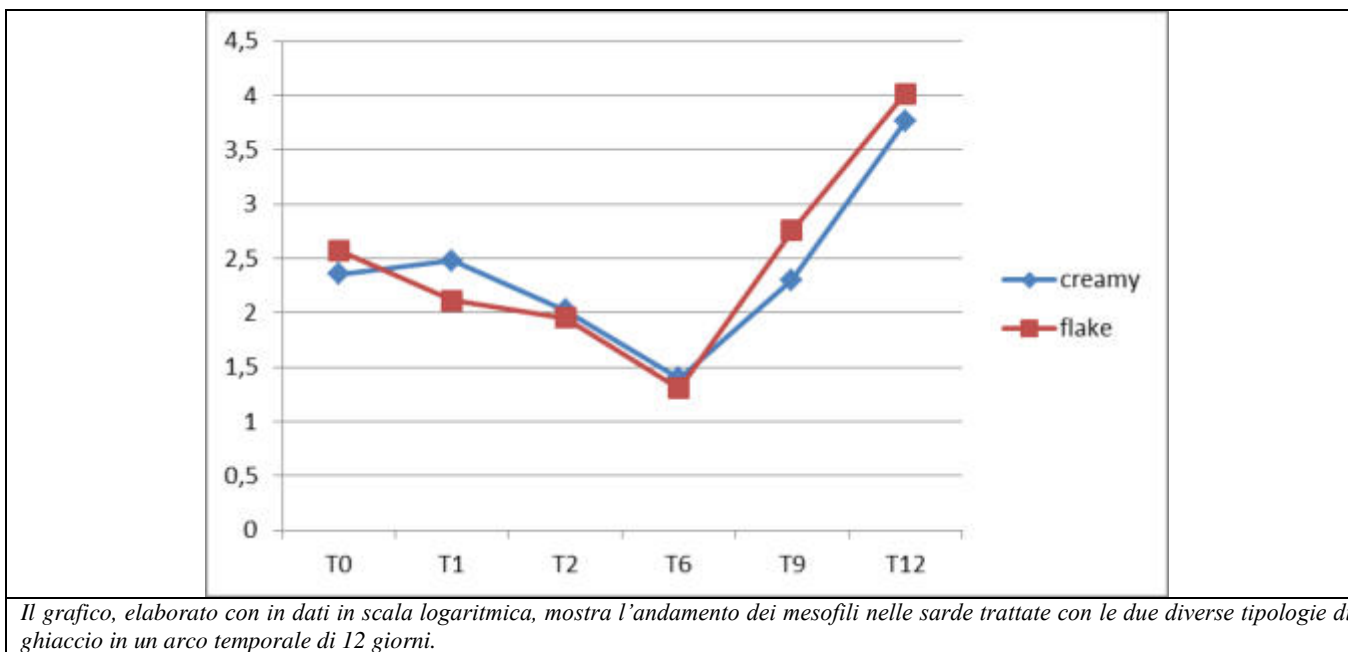
Metodo di prova: **UNI EN ISO 4833-1:2013**

Effettuato 05/11/2020

FINE: 20/11/2020

Contrassegnato	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)					
	T ₀ (05/11/2020)	T ₁	T ₃	T ₆	T ₉	T ₁₂
Creamy 1	180	240	130	20	160	4.100
Creamy 2	270	360	80	30	240	7.400
Logaritmo del valore medio	2,4	2,5	2,0	1,4	2,3	3,8

Contrassegnato	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)					
	T ₀ (05/11/2020)	T ₁	T ₃	T ₆	T ₉	T ₁₂
Flake 1	340	120	60	10	750	12.000
Flake 2	410	140	120	30	390	8.800
Logaritmo del valore medio	2,6	2,1	2,0	1,3	2,8	4,0



N.B.1: i valori riportati si riferiscono al campione sottoposto ad analisi.

N.B.2: non è oggetto di accreditamento. Il campionamento, qualora eseguito da personale Idrolab, è stato condotto secondo PG 7.3 – CAMPIONAMENTO.

Le informazioni indicate nei campi: Contrassegnato, Data campionamento, Campionamento effettuato da (nel caso di campionamento effettuato dal cliente) sono fornite dal cliente, pertanto il laboratorio su tali informazioni declina ogni responsabilità. I risultati analitici si riferiscono solo ed esclusivamente al campione così come ricevuto.

N.B.3: N.A. = Non applicabile; Ass. = assente; U. M.= unità di misura.

L'incertezza di misura associata ai risultati delle prove microbiologiche è espressa come incertezza estesa secondo la ISO 19036:2019 (p 95% K=2), ovvero come Intervallo di fiducia secondo la UNI EN ISO 8199:2008.-

Per le prove chimiche è espressa come incertezza estesa secondo JCGM 100:2008.

Essa è ottenuta moltiplicando l'incertezza tipo per il fattore di copertura k corrispondente ad un livello di fiducia del 95% (Fattore k = 2)

N.B.4: la presenza del simbolo * ad apice del parametro indica che la prova non è accreditata da ACCREDIA.

Inoltre il documento non può essere riprodotto parzialmente salvo approvazione scritta del laboratorio.

FINE RAPPORTO DI PROVA

Il Direttore di Laboratorio
Dott. Antonio M. ROMANO

Allegato 2: Esame microbiologico *E. encrasicolus*: Conta dei microrganismi a 30 °C



Sede amministrativa e laboratorio
Via Isolella n° 50 91100 Trapani
☎ 0923-24622 – fax 0923 437084
P. IVA 01481110813 – CCIAA 85713
E-mail: idrolab@idrolab.com
web site: www.idrolab.com



LAB N° 1040 L

Aut. Ministero della Sanità P.700.7.A/59.423/0851- D.L.531/92 – D.L. 286/94 Aut. Ministero della Sanità r.700.7/59.423/2131 D.P.R. 227/92 – D.Lgs. 530/92 D.Lgs. 537/92 – 65/93 – D.P.R. 54/97- D.P.R. 309/98.

Rapporto di prova n°**BTA 384/20****Richiedente****Indirizzo****Data Referto****Campione/i****Campionamento²****Data ricevimento campione****Data inizio e fine analisi****Temperatura al ricevimento****Richiesta****Note****COSVAP- DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU**

Area Porto Nuovo-Lungomare Fata Morgana (snc) Presso Mercato Ittico- Agroalimentare - 91026 Mazara del Vallo (Tp)

01/12/2020

Tessuto di pesce: Alici

A cura del richiedente

13/11/2020

INIZIO: 13/11/2020

Da 1,5 °C a 3,8 °C

Esame microbiologico: Conta dei microrganismi a 30 °C

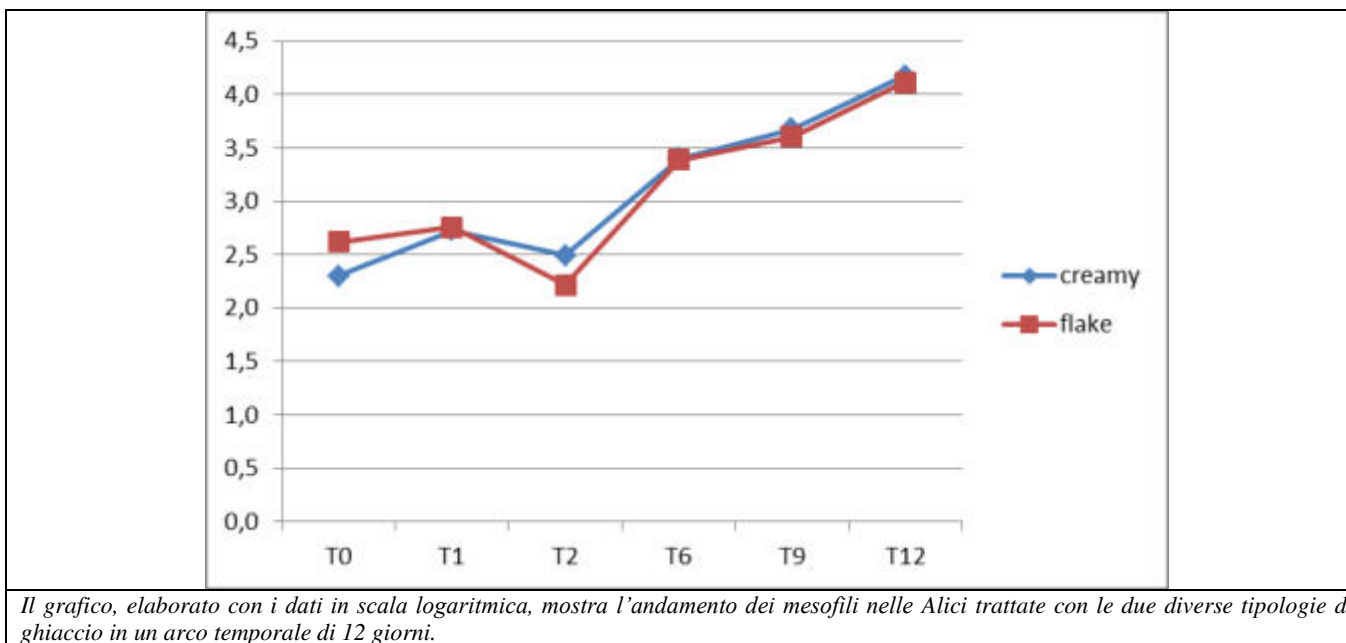
Metodo di prova: **UNI EN ISO 4833-1:2013**

Effettuato 13/11/2020

FINE: 28/11/2020

Contrassegnato	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)					
	T ₀ (13/11/2020)	T ₁	T ₃	T ₆	T ₉	T ₁₂
Creamy 1	320	680	240	3.500	5.500	16.000
Creamy 2	80	390	380	1.500	4.000	14.000

Contrassegnato	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)					
	T ₀ (05/11/2020)	T ₁	T ₃	T ₆	T ₉	T ₁₂
Flake 1	120	310	100	3.600	4.200	13.000
Flake 2	710	840	230	1300	3.800	13.000



N.B.1: i valori riportati si riferiscono al campione sottoposto ad analisi.

N.B.2: non è oggetto di accreditamento. Il campionamento, qualora eseguito da personale Idrolab, è stato condotto secondo PG 7.3 – CAMPIONAMENTO.

Le informazioni indicate nei campi: Contrassegnato, Data campionamento, Campionamento effettuato da (nel caso di campionamento effettuato dal cliente) sono fornite dal cliente, pertanto il laboratorio su tali informazioni declina ogni responsabilità. I risultati analitici si riferiscono solo ed esclusivamente al campione così come ricevuto.

N.B.3: N.A. = Non applicabile; Ass. = assente; U. M.= unità di misura.

L'incertezza di misura associata ai risultati delle prove microbiologiche è espressa come incertezza estesa secondo la ISO 19036:2019 (p 95% K=2), ovvero come Intervallo di fiducia secondo la UNI EN ISO 8199:2008.-

Per le prove chimiche è espressa come incertezza estesa secondo JCGM 100:2008.

Essa è ottenuta moltiplicando l'incertezza tipo per il fattore di copertura k corrispondente ad un livello di fiducia del 95% (Fattore k = 2)

N.B.4: la presenza del simbolo * ad apice del parametro indica che la prova non è accreditata da ACCREDIA.

Inoltre il documento non può essere riprodotto parzialmente salvo approvazione scritta del laboratorio.

FINE RAPPORTO DI PROVA

Il Direttore di Laboratorio
 Dr. ROMANO
 Dott. Antonio Marco ROMANO
 092676112

Allegato 3: Analisi del contenuto di Istamina su *S. pilchardus* e *E. encrasicolus* salata



CENTRO SCAGLIONE S.r.l.s

Elenco Regionale D.O.G. n° 434/2017 - N° registrazione 2012/003/AG



LAB. N° 11687

Rapporto di prova N°978012021 del 22 Ott 2021 Rev. 0

Spett.

DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU COSVAP
Lungomare Fata Morgana MAZARA DEL VALLO

Data Accertazione 08 Ott 2021 Riferimento Verbale n. 978 / 01
Data Prelievo 08 Ott 2021 # Orz 17:00 #
Data Inizio Prova 10 Ott 2021 Data Fine Prova 22 Ott 2021

Prelevatore **Cliente-**
Dichiara di avere effettuato il prelievo secondo quanto previsto dalla I.O. CAM. CLI. rev.2 *

Campione conforme
Matrice **Pesce Semicongelato**

Etichetta/Lotto **# Sardina FI 3075 11/11/2020**

Analisi Chimica

Parametro	Esito	U.M.	Metodo	Incertezza	C.M.A.
Istanina	<3	mg/Kg	MP-01 rev.6/2019	=	200 mg/Kg

C.M.A. = Concentrazione massima ammissibile come riportato dal Reg.CE 2073/05 e successive modifiche

Prelievo come da piano di campionamento. NON applicabile se il prelievo è effettuato dal cliente

L'incertezza calcolata è un'incertezza estesa ed è espressa nella stessa unità di misura dell'analisi

U.M. Unità di misura

Per le prove microbiologiche l'incertezza di misura estesa riportata è stata stimata in accordo con la ISO 19036 e si basa su un'incertezza

standard moltiplicata per un fattore di copertura di k=2, fornendo un livello di confidenza di circa il 95%.

L'incertezza di misure nelle prove quantitative nelle acque è calcolata secondo ISO 29201

Le prove microbiologiche quantitative sono eseguite su singola replica e sue diluizioni consecutive secondo la ISO 7218:2007/AmD.1:2013

Il laboratorio si assume la responsabilità di tutte le informazioni presenti nel rapporto di prova ad esclusione di quelle fornite dal cliente.

Se il campionamento non è effettuato dal Laboratorio, i risultati si riferiscono al campione ricevuto e campionato dal cliente.

Se i dati relativi al campione comunicati dal cliente, influiscono sulla validità dei risultati il Laboratorio declina la responsabilità dei dati ottenuti.

I risultati analitici si riferiscono esclusivamente al campione esaminato, come pervenuto al laboratorio

Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente, salvo autorizzazione del laboratorio.

**Prove subappaltate

* Tale contrassegno indica "prova non accreditata da ACCREDITA"

Tale contrassegno indica che i dati sono comunicati dal cliente

----- fine rapporto di prova -----

Pag. 1 / 1

Il Direttore del Laboratorio

Enr. Francesco Scaglione

SPECIALISTA IN AGROALIMENTARI
LAB. SAN. FORDICAP
ACCREDITED N. 11687

**Rapporto di prova N°978022021 del 22 Ott 2021 Rev. 0**

Specie

DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU COSVA*
Lungomare Fata Morgana MAZARA DEL VALLO

Data Accettazione 08 Ott 2021 Riferimento Verbale n. 978 / 02
 Data Prelievo 08 Ott 2021 # Ora 17:00 #
 Data Inizio Prova 10 Ott 2021 Data Fine Prova 22 Ott 2021

Prelevatore Cliente-
 Dichiana di avere effettuato il prelievo secondo quanto previsto dalla I.O. CAM CLI rev.2 *

Campione conforme
 Matrice Pesce Semiconserve

Etichetta/Lotto # Sarcina FI 3074 11/11/2020

Analisi Chimica

Parametro	Esito	U.M.	Metodo	Incertezza	C.M.A.
Istamina	<3	mg/Kg	MP-9) rev.6/2019	=	240 mg/Kg

C.M.A. = Concentrazione massima ammissibile come riportato dal Reg. CE 2073/05 e successive modifiche

Prelievo come da piano di campionamento. NON applicabile se il prelievo è effettuato dal cliente

L'incertezza calcolata è un'incertezza estesa ed è espressa nella stessa unità di misura dell'analisi

U.M.: Unità di misura

Per le prove microbiologiche l'incertezza di misura estesa riportata è stata stimata in accordo con la ISO 19036 e si basa su un'incertezza

standard moltiplicata per un fattore di copertura di $k=2$, fornendo un livello di confidenza di circa il 95%.

L'incertezza di misura nelle prove quantitative nelle acque è calcolata secondo ISO 29201

Le prove microbiologiche quantitative sono eseguite su singola replica e sue diluizioni consecutive secondo la ISO 7218:2007/Am.1:2013

Il laboratorio si assume la responsabilità di tutte le informazioni presenti nel rapporto di prova ad esclusione di quelle fornite dal cliente.

Se il campionamento non è effettuato dal Laboratorio, i risultati si riferiscono al campione ricevuto e campionato dal cliente.

Se i dati relativi al campione comunicati dal cliente, nell'iscono sulla validità dei risultati il Laboratorio declina la responsabilità dei dati ottenuti.

I risultati analitici si riferiscono esclusivamente al campione esaminate, come pervenuto al laboratorio

Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente, salvo autorizzazione del laboratorio.

**Prova subappaltata

* Tale contrassegno indica "prova non accreditata da ACCREDIA"

Tale contrassegno indica che i dati sono comunicati dal cliente.

Fine rapporto di prova

Pag. 1 / 1

Il Direttore del Laboratorio

Don. Francesco Scaglione
 P.D. ACCO
 SPECIALISTA N° 01512
 L. 05. 04. 2020
 Don. Mito n. 10216



Rapporto di prova N°978032021 del 22 Ott 2021 Rev. 0

इष्टम्.

DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU COSVAP
Lungomare Fata Morgana MAZARA DEL VALLO

Data Accettazione	08 Ott 2021	Riferimento Verbale n. 978 / 03
Data Prelievo	08 Ott 2021 #	Ora 17:00 #
Data Inizio Prova	10 Ott 2021	Data Fine Prova 22 Ott 2021

Prelevatore **Cliente-**
Dichiara di avere effettuato il prelievo secondo quanto previsto dalla I.O. CAM CLI rev.2

Campione conforme

Marice	Pesce Semiconserva
--------	--------------------

Eicheta/Lotto # Sardina CE 3076 11/11/2020

Analisi Chimica

Parametro	Esito	U.M.	Metodo	Incertezza	C.M.A.
Istamina	6	mg/Kg	MP-01 rev.6/2019	+1	200 mg/Kg

C.M.A = Concentrazione massima ammissibile come riportato dal Reg.CE 2073/05 e successive modifiche

Prelievo come da piano di campionamento. **NON** applicabile se il prelievo è effettuato dal cliente.

L'incertezza calcolata è un'incertezza estese ed è espressa nella stessa unità di misura dell'analita.

U. M. Gupta et al.

Per le prove microbiologiche l'incertezza di misura estesa riportata è stata stimata in accordo con la ISO 19036 e si è avuta su un'incertezza

standardi moltiplicate per un fattore di copertura di $k=2$, fornendo un livello di confidenza di circa il 95%

L'incertezza di misure nelle prove quantitative nelle acque è calcolata secondo ISO 29201

Le prove microbiologiche quantitative sono eseguite su singola replica e sue diluizioni consecutive secondo la ISO 7218:2007/Amd.1:2013.

Il laboratorio si assume la responsabilità di tutte le informazioni presenti nel rapporto di prova ad esclusione di quelle fornite dal cliente.

Se il campionamento non è effettuato dal Laboratorio, i risultati si riferiscono al campione ricevuto e campionato dal cliente.

Se i dati relativi al campione comunicati dal cliente, influiscono sulla validità dei risultati il Laboratorio declina la responsabilità dei dati ottenuti.

I risultati analitici si riferiscono esclusivamente al campione esaminato, come pervenuto al laboratorio.

Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente, senza autorizzazione del laboratorio.

*Frova subappaltata

* Tale contrassegno indica "prova non accreditata da ACCREDITA"

b) Tale contrassegno indica che i dati sono comunicati dal cliente

--Ding, 2008, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025, 2026, 2027, 2028, 2029, 2030, 2031, 2032, 2033, 2034, 2035, 2036, 2037, 2038, 2039, 2040, 2041, 2042, 2043, 2044, 2045, 2046, 2047, 2048, 2049, 2050, 2051, 2052, 2053, 2054, 2055, 2056, 2057, 2058, 2059, 2060, 2061, 2062, 2063, 2064, 2065, 2066, 2067, 2068, 2069, 2070, 2071, 2072, 2073, 2074, 2075, 2076, 2077, 2078, 2079, 2080, 2081, 2082, 2083, 2084, 2085, 2086, 2087, 2088, 2089, 2090, 2091, 2092, 2093, 2094, 2095, 2096, 2097, 2098, 2099, 2100, 2101, 2102, 2103, 2104, 2105, 2106, 2107, 2108, 2109, 2110, 2111, 2112, 2113, 2114, 2115, 2116, 2117, 2118, 2119, 2120, 2121, 2122, 2123, 2124, 2125, 2126, 2127, 2128, 2129, 2130, 2131, 2132, 2133, 2134, 2135, 2136, 2137, 2138, 2139, 2140, 2141, 2142, 2143, 2144, 2145, 2146, 2147, 2148, 2149, 2150, 2151, 2152, 2153, 2154, 2155, 2156, 2157, 2158, 2159, 2160, 2161, 2162, 2163, 2164, 2165, 2166, 2167, 2168, 2169, 2170, 2171, 2172, 2173, 2174, 2175, 2176, 2177, 2178, 2179, 2180, 2181, 2182, 2183, 2184, 2185, 2186, 2187, 2188, 2189, 2190, 2191, 2192, 2193, 2194, 2195, 2196, 2197, 2198, 2199, 2200, 2201, 2202, 2203, 2204, 2205, 2206, 2207, 2208, 2209, 2210, 2211, 2212, 2213, 2214, 2215, 2216, 2217, 2218, 2219, 2220, 2221, 2222, 2223, 2224, 2225, 2226, 2227, 2228, 2229, 2230, 2231, 2232, 2233, 2234, 2235, 2236, 2237, 2238, 2239, 2240, 2241, 2242, 2243, 2244, 2245, 2246, 2247, 2248, 2249, 2250, 2251, 2252, 2253, 2254, 2255, 2256, 2257, 2258, 2259, 2260, 2261, 2262, 2263, 2264, 2265, 2266, 2267, 2268, 2269, 2270, 2271, 2272, 2273, 2274, 2275, 2276, 2277, 2278, 2279, 2280, 2281, 2282, 2283, 2284, 2285, 2286, 2287, 2288, 2289, 2290, 2291, 2292, 2293, 2294, 2295, 2296, 2297, 2298, 2299, 2300, 2301, 2302, 2303, 2304, 2305, 2306, 2307, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312, 2313, 2314, 2315, 2316, 2317, 2318, 2319, 2320, 2321, 2322, 2323, 2324, 2325, 2326, 2327, 2328, 2329, 2330, 2331, 2332, 2333, 2334, 2335, 2336, 2337, 2338, 2339, 2340, 2341, 2342, 2343, 2344, 2345, 2346, 2347, 2348, 2349, 2350, 2351, 2352, 2353, 2354, 2355, 2356, 2357, 2358, 2359, 2360, 2361, 2362, 2363, 2364, 2365, 2366, 2367, 2368, 2369, 2370, 2371, 2372, 2373, 2374, 2375, 2376, 2377, 2378, 2379, 2380, 2381, 2382, 2383, 2384, 2385, 2386, 2387, 2388, 2389, 2390, 2391, 2392, 2393, 2394, 2395, 2396, 2397, 2398, 2399, 2400, 2401, 2402, 2403, 2404, 2405, 2406, 2407, 2408, 2409, 2410, 2411, 2412, 2413, 2414, 2415, 2416, 2417, 2418, 2419, 2420, 2421, 2422, 2423, 2424, 2425, 2426, 2427, 2428, 2429, 2430, 2431, 2432, 2433, 2434, 2435, 2436, 2437, 2438, 2439, 2440, 2441, 2442, 2443, 2444, 2445, 2446, 2447, 2448, 2449, 2450, 2451, 2452, 2453, 2454, 2455, 2456, 2457, 2458, 2459, 2460, 2461, 2462, 2463, 2464, 2465, 2466, 2467, 2468, 2469, 2470, 2471, 2472, 2473, 2474, 2475, 2476, 2477, 2478, 2479, 2480, 2481, 2482, 2483, 2484, 2485, 2486, 2487, 2488, 2489, 2490, 2491, 2492, 2493, 2494, 2495, 2496, 2497, 2498, 2499, 2500, 2501, 2502, 2503, 2504, 2505, 2506, 2507, 2508, 2509, 2510, 2511, 2512, 2513, 2514, 2515, 2516, 2517, 2518, 2519, 2520, 2521, 2522, 2523, 2524, 2525, 2526, 2527, 2528, 2529, 2530, 2531, 2532, 2533, 2534, 2535, 2536, 2537, 2538, 2539, 2540, 2541, 2542, 2543, 2544, 2545, 2546, 2547, 2548, 2549, 2550, 2551, 2552, 2553, 2554, 2555, 2556, 2557, 2558, 2559, 2560, 2561, 2562, 2563, 2564, 2565, 2566, 2567, 2568, 2569, 2570, 2571, 2572, 2573, 2574, 2575, 2576, 2577, 2578, 2579, 2580, 2581, 2582, 2583, 2584, 2585, 2586, 2587, 2588, 2589, 2590, 2591, 2592, 2593, 2594, 2595, 2596, 2597, 2598, 2599, 2600, 2601, 2602, 2603, 2604, 2605, 2606, 2607, 2608, 2609, 2610, 2611, 2612, 2613, 2614, 2615, 2616, 2617, 2618, 2619, 2620, 2621, 2622, 2623, 2624, 2625, 2626, 2627, 2628, 2629, 2630, 2631, 2632, 2633, 2634, 2635, 2636, 2637, 2638, 2639, 2640, 2641, 2642, 2643, 2644, 2645, 2646, 2647, 2648, 2649, 2650, 2651, 2652, 2653, 2654, 2655, 2656, 2657, 2658, 2659, 2660, 2661, 2662, 2663, 2664, 2665, 2666, 2667, 2668, 2669, 2670, 2671, 2672, 2673, 2674, 2675, 2676, 2677, 2678, 2679, 2680, 2681, 2682, 2683, 2684, 2685, 2686, 2687, 2688, 2689, 2690

Page: 1 / 1

Il Direttore del Laboratorio

Don. (Faintly) ...

STEC 100-1010-6
L-8, 100-1010-6
100-1000-1010-6

**Rapporto di prova N°978042021 del 22 Ott 2021 Rev. 0**

Spett.

**DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA SUL COSVAP
Lungomare Fata Morgana MAZARA DEL VALLO**

Data Accettazione 08 Ott 2021 Riferimento Verbale n. 978 / 04
 Data Prelievo 08 Ott 2021 # Ora 17:00 #
 Data Inizio Prova 10 Ott 2021 Data Fine Prova 22 Ott 2021

Prelevatore Cliente-
 Dichiaro di avere effettuato il prelievo secondo quanto previsto dalla I.O. CAM. C.M.A. rev.2 **
 Campione conforme Matrice Pesce Semiconservato
 Etichetta/Lotto # Acciuga CI 13/11/2020

Analisi Chimica

Parametro	Esito	U.M.	Metodo	Incertezza	C.M.A.
Istamina	4	mg/Kg	MP-01 rev.6/2019	+1	200 mg/Kg

C.M.A. = Concentrazione massima ammissibile come riportato dal Reg. CE 2072/05 e successive modifiche

Prelievo come da piano di campionamento NON applicabile se il prelievo è effettuato dal cliente

L'incertezza calcolata è un'incertezza estesa ed è espressa nella stessa unità di misura dell'analisi

U.M. Unità di misura

Per le prove microbiologiche l'incertezza di misura estesa riportata è stata stimata in accordo con la ISO 19036 e si basa su un'incertezza standard moltiplicata per un fattore di copertura di $k=2$, fornendo un livello di confidenza di circa il 95%.

L'incertezza di misure nelle prove quantitative nelle acque è calcolata secondo ISO 29201

Le prove microbiologiche quantitative sono eseguite su singola replica e sue diluizioni consecutive secondo la ISO 7218:2007/Am1:2013

Il laboratorio si assume la responsabilità di tutte le informazioni presenti nel rapporto di prova ad esclusione di quelle fornite dal cliente.

Se il campionamento non è effettuato dal Laboratorio, i risultati si riferiscono al campione ricevuto e campionato dal cliente.

Se i dati relativi al campione comunicati dal cliente, influiscono sulla validità dei risultati il Laboratorio declina la responsabilità dei dati ottenuti.

I risultati analitici si riferiscono esclusivamente al campione esaminato, come pervenuto al laboratorio

Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente, salvo autorizzazione del laboratorio.

** Prova subappaltata

* Tale contrassegno indica "prova non accreditata da ACCREDIA"

Tale contrassegno indica che i dati sono comunicati dal cliente.

Fine rapporto di prova.

Pag. 1 / 1

Il Direttore del Laboratorio

[Firma]
 Centro Scaglione
 S.p.A.
 Strada 10340/10341
 Lab. S.p.A. S.C. S.C.A.
 Isc. Auto n. 10340

**Rapporto di prove N°979012021 del 22 Ott 2021 Rev. C**

Spett.

DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU COSVAP
Lungomare Fata Morgana MAZARA DEL VALLO

Data Accettazione 08 Ott 2021 Riferimento Verbale n. 979 / 01
 Data Prelievo 08 Ott 2021 # Ora 17:00 #
 Data inizio Prova 10 Ott 2021 Data Fine Prova 22 Ott 2021

Prelevatore Cliente-
 Dichiaro di avere effettuato il prelievo secondo quanto previsto dalla I.O. CAM. CLI. rev.2 *

Campione conforme
 Matrice Pesce Sottoserve

Etichetta/Lotto # Acciuga FI 19/11/2020

Analisi Chimica

Parametro	Esito	U.M.	Metodo	Incertezza	C.M.A.
Istamina	13	mg/Kg	MP-01 rev.6/2019	± 2	200 mg/Kg

C.M.A. = Concentrazione massima ammissibile come riportato dal Reg.CE 2073/05 e successive modifiche

Prelievo come da piano di campionamento. NON applicabile se il prelievo è effettuato dal cliente

L'incertezza calcolata è un'incertezza estesa ed è espressa nella stessa unità di misura dell'analisi

U.M.: Unità di misura

Per le prove microbiologiche l'incertezza di misura estesa riportata è stata stimata in accordo con la ISO 19036 e si basa su un'incertezza

standard moltiplicata per un fattore di copertura di k=2, fornendo un livello di confidenza di circa il 95%.

L'incertezza di misura nelle prove quantitative nelle acque è calcolata secondo ISO 29291

Le prove microbiologiche quantitative sono eseguite su singola replica e sue diluizioni consecutive secondo la ISO 7218:2007/Amd.1:2013

Il laboratorio si assume la responsabilità di tutte le informazioni presenti nel rapporto di prova ad esclusione di quelle fornite dal cliente

Se il campionamento non è effettuato dal laboratorio, i risultati si riferiscono al campione ricevuto e campionato dal cliente.

Se i dati relativi al campione comunicati dal cliente, influiscono sulla validità dei risultati il Laboratorio declina la responsabilità dei dati ottenuti.

I risultati analitici si riferiscono esclusivamente al campione esaminato, come pervenuto al laboratorio

Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente, salvo autorizzazione del laboratorio.

**Prova subappaltata

* Tale contrassegno indica "prova non accreditata da ACCREDIA"

Tale contrassegno indica che i dati sono comunicati dal cliente.

-----Fine rapporto di prova-----

Pag. 1 / 1

Il Direttore del Laboratorio

[Firma]
 Dott. Francesco Scaglione
 Centro Scaglione
 Strada 10
 92021 Mazara del Vallo (AG)
 Tel. 0923-822343
 Fax 0923-822343
 Email: info@scaglione.it

**Rapporto di prova N°979022021 del 22 Ott 2021 Rev. 0**

Spett.

**DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU COSVAP
Lungomare Fata Morgana MAZARA DEL VALLO**

Data Accettazione 08 Ott 2021 Riferimento Verbale n. 979 / 02
 Data Prelievo 08 Ott 2021 # Ora 17:00 #
 Data Inizio Prova 10 Ott 2021 Data Fine Prova 22 Ott 2021

Prelevatore **Cliente-**
 Dichiaro di avere effettuato il prelievo secondo quanto previsto dalla I.O. CAM CLI rev2 *

Campione conforme
 Matrice **Pesce Semiconserve**

Etichetta/Lotta **# Sardine CI 13/11/2020**

Analisi Chimica

Parametro	Esito	U.M.	Metodo	Incertezza	C.M.A.
Istamina	74	mg/Kg	MP-01 rev.6/2019	= 12	200 mg/Kg

C.M.A. = Concentrazione massima ammissibile come riportato dal Reg. CE 2073/05 e successive modifiche

Prelievo come da piano di campionamento. NON applicabile se il prelievo è effettuato dal cliente

L'incertezza calcolata è un'incertezza estesa ed è espressa nella stessa unità di misura dell'analisi

U.M.: Unità di misura

Per le prove microbiologiche l'incertezza di misura estesa riportata è stata stimata in accordo con la ISO 19036 e si basa su un'incertezza

standard moltiplicata per un fattore di copertura di k=2, fornendo un livello di confidenza di circa il 95%.

L'incertezza di misura nelle prove quantitative nelle acque è calcolata secondo ISO 29201

Le prove microbiologiche quantitative sono eseguite su singola replica e sue diluizioni consecutive secondo la ISO 7218:2007/Amd.1:2013

Il laboratorio si assume la responsabilità di tutte le informazioni presenti nel rapporto di prova ad esclusione di quelle fornite dal cliente.

Se il campionamento non è effettuato dal laboratorio, i risultati si riferiscono al campione ricevuto e campionato dal cliente.

Se i dati relativi al campione comunicati dal cliente, influiscono sulla validità dei risultati il Laboratorio declina le responsabilità dei dati ottenuti.

I risultati analitici si riferiscono esclusivamente al campione esaminato, come pervenuto al laboratorio

Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente, salvo autorizzazione del laboratorio.

**Prova subappaltata

* Tale contrassegno indica "prova non accreditata da ACCREDITIA"

Tale contrassegno indica che i dati sono comunicati dal cliente.

Fine rapporto di prova.

Pag. 1 / 1

Il Direttore del Laboratorio

Dott. Francesco Scaglione

ACCREDITIA
 S.p.A. - Via S. Maria
 10003 - 10003
 10003 - 10003

**Rapporto di prova N°979032021 del 22 Ott 2021 Rev. 0**

Spett.le

DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU COSVA?**Lungomare Fata Morgana MAZARA DEL VALLO**

Data Accettazione 08 Ott 2021 Riferimento Verbale n. 979 / 03
 Data Prelievo 08 Ott. 2021 # Ora 17:00 #
 Data Inizio Prova 10 Ott. 2021 Data Fine Prova 22 Ott 2021

Prelevatore Cliente-
 Dichiaro di avere effettuato il prelievo secondo quanto previsto dalla I.O. CAM. CL1 rev.2 *

Campione conforme
 Matrice Pesce Semiconserva

Etichetta/Lotto # Sardina FI 13/11/2020

Analisi Chimica

Parametro	Esito	U.M.	Metodo	Incertezza	C.M.A.
Istamina	84	mg/Kg	MP-01 rev.6/2019	± 13	210 mg/Kg

C.M.A. = Concentrazione massima ammissibile come riportato dal Reg.CE 2073/05 e successive modifiche

Prelievo come da piano di campionamento. NON applicabile se il prelievo è effettuato dal cliente

L'incertezza espressa è un'incertezza estesa ed è espressa nella stessa unità di misura dell'analisi

U.M.:Unità di misura

Per le prove microbiologiche l'incertezza di misura estesa riportata è stata stimata in accordo con la ISO 19036 e si basa su un'incertezza

standard moltiplicata per un fattore di copertura di k=2, fornendo un livello di confidenza di circa il 95%.

L'incertezza di misure nelle prove quantitative nelle acque è calcolata secondo ISO 29201

Le prove microbiologiche quantitative sono eseguite su singola replica e sue diluizioni conservative secondo la ISO 7218:2007/Ann.1:2013

Il laboratorio si assume la responsabilità di tutte le informazioni presenti nel rapporto di prova ad esclusione di quelle fornite dal cliente.

Se il campionamento non è effettuato dal Laboratorio, i risultati si riferiscono al campione ricevuto e campionato dal cliente.

Se i dati relativi al campione comunicati dal cliente, influiscono sulla validità dei risultati il Laboratorio declina la responsabilità dei dati ottenuti.

I risultati analitici si riferiscono esclusivamente al campione esaminato, come pervenuto al laboratorio

Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente, salvo autorizzazione del laboratorio.

**Prova subappaltata

* Tale contrassegno indica "prova non accreditata da ACCREDIA"

Tale contrassegno indica che i dati sono comunicati dal cliente.

-----Fine rapporto di prova-----

Pag. 1 / 1

Il Direttore del Laboratorio

[Firma]
 Centro Scaglione
 S.p.A. s.r.l.s
 SPECIALISTICA IN ACQUA
 LAD. SANITARIA
 S.p.A. s.r.l.s

**Rapporto di prova N°979042021 del 22 Ott 2021 Rev. 0**

Spett.

DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU COSVAP
Lungomare Fata Morgana MAZARA DEL VALLO

Data Accettazione 08 Ott 2021 Riferimento Verbale n. 979 / 04
 Data Prelievo 08 Ott 2021 # Ora 17:00 #
 Data inizio Prova 10 Ott 2021 Data Fine Prova 22 Ott 2021

Prelevatore **Cliente-**
 Dichiana di avere effettuato il prelievo secondo quanto previsto dalla I.O. CAM. CCL rev.2 *
 Campione conforme
 Matrice **Pesce Semiconserva**
 Etichetta/Lotto **# Acciuga FI 13/11/2020**

Analisi Chimica

Parametro	Esito	U.M.	Metodo	Incertezza	C.M.A.
Istamina	16	mg/Kg	MP-01 rev.6/2019	±3	200 mg/Kg

C.M.A. - Concentrazione massima ammissibile come riportato dal Reg. CE 2075/05 e successive modifiche

Prelievo come da piano di campionamento. NON applicabile se il prelievo è effettuato dal cliente

L'incertezza calcolata è l'incertezza estesa ed è espressa nella stessa unità di misura dell'analisi

U.M.: Unità di misura

Per le prove microbiologiche l'incertezza di misura estesa riportata è stata stimata in accordo con la ISO 19036 e si basa su un'incertezza

standard moltiplicata per un fattore di copertura di k=2, fornendo un livello di confidenza di circa il 95%.

L'incertezza di misure nelle prove quantitative nelle acque è calcolata secondo ISO 29261

Le prove microbiologiche quantitative sono eseguite su singola replica e sue diluizioni consecutive secondo la ISO 7218:2007/Ann.1:2013

Il laboratorio si assume la responsabilità di tutte le informazioni presenti nel rapporto di prova ad esclusione di quelle fornite dal cliente.

Se il campionamento non è effettuato dal Laboratorio, i risultati si riferiscono al campione ricevuto e campionato dal cliente.

Se i dati relativi al campione comunicati dal cliente, influiscono sulla validità dei risultati il Laboratorio declina la responsabilità dei dati ottenuti.

I risultati analitici si riferiscono esclusivamente al campione esaminato, come pervenuto al laboratorio

Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente, salvo autorizzazione del laboratorio.

**Prova subappalzo

* Tale contrassegno indica "prova non accreditata da ACCREDIA"

Tale contrassegno indica che i dati sono comunicati dal cliente.

Fine rapporto di prova.

Pag. 1 / 1

Il Direttore del Laboratorio

[Firma]
 Dott. *[Firma]* Scaglione
 SPECIALIST IN VETERINARY
 LABORATORY MEDICINE
 0923 450000 - 0923 450001

**Rapporto di prova N°979052021 del 22 Ott 2021 Rev. 0**

Spett.

DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU COSVAI
Lungomare Fata Morgana MAZARA DEL VALLO

Data Accettazione 08 Ott 2021 Riferimento Verbale n. 979 / 05
 Data Prelievo 08 Ott 2021 # Ora 17:00 #
 Data Inizio Prova 10 Ott 2021 Data Fine Prova 22 Ott 2021

Prelevatore **Ciente-**
 Dichiaro di avere effettuato il prelievo secondo quanto previsto dalla I.O. CAM. CEL rev.2 *

Campione conforme
 Matrice **Pesce Semiconserva**

Etichetta/Lotta **# Acciuga CI 19/11/2020**

Analisi Chimica

Parametro	Esito	U.M.	Metodo	Incertezza	C.M.A.
Istamina	<3	mg/Kg	MP-01 rev.6/2019	=	200 mg/Kg

C.M.A. = Concentrazione massima ammissibile come riportato dal Reg. CE 2075/05 e successive modifiche

Prelievo effettuato da punto di campionamento. NON applicabile se il prelievo è effettuato dal cliente

L'incertezza calcolata è un'incertezza estesa ed è espressa nella stessa unità di misura dell'analita

U.M.: Unità di misura

Per le prove microbiologiche l'incertezza di misura estesa riportata è stata stimata in accordo con la ISO 19036 e si basa su un'incertezza

standard moltiplicata per un fattore di copertura di $k=2$, fornendo un livello di confidenza di circa il 95%.

L'incertezza di misura nelle prove quantitative nelle acque è calcolata secondo ISO 29201

Le prove microbiologiche quantitative sono eseguite su singole repliche e sue diluizioni consecutive secondo la ISO 7218 2007/Annex 1:2013

Il laboratorio si assume la responsabilità di tutte le informazioni presenti nel rapporto di prova ad esclusione di quelle fornite dal cliente.

Se il campionamento non è effettuato dal Laboratorio, i risultati si riferiscono al campione ricevuto e campionato dal cliente.

Se i dati relativi al campione comunicati dal cliente, influiscono sulla validità dei risultati il Laboratorio declina la responsabilità dei dati ottenuti.

I risultati analitici si riferiscono esclusivamente al campione esaminato, come pervenuto al laboratorio

Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente, salvo autorizzazione del laboratorio.

**Prova subappaltata

* Tale contrassegno indica "prova non accreditata da ACCREDITA"

= Tale contrassegno indica che i dati sono comunicati dal cliente.

-----Fine rapporto di prova-----

Pag. 1 / 1

Il Direttore del Laboratorio

[Firma]
 Dott. Francesco Scaglione
 S.r.l.s
 SPEDIZIONE IN A.B. (art. 1, comma 1, lett. a) del D.L. 31.1.2008 n. 23 del 2008
 SPED. IN A.B. (art. 1, comma 1, lett. a) del D.L. 31.1.2008 n. 23 del 2008

**Rapporto di prova N°979062021 del 22 Ott 2021 Rev. 8**

Spett.le

DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU COSVAP
Lungomare Fata Morgana MAZARA DEL VALLO

Data Accettazione 08 Ott 2021 Riferimento Verbale n. 979 / 06
 Data Prelievo 08 Ott 2021 # Cra 17:00 #
 Data Inizio Prova 10 Ott 2021 Data Fine Prova 22 Ott 2021

Prelevatore Cliente-
 Dichiaro di avere effettuato il prelievo secondo quanto previsto dall' I.O. CAM. CLL rev.2 *

Campione conforme
 Matrice Pesca Semiconserva

Etichetta/Lotto # Sardina CI 3077 11/11/2020

Analisi Chimica

Parametro	Esito	U.M.	Metodo	Incertezza	C.M.A.
Istamina	<3	mg/Kg	MP-01 rev.6/2019	---	200 mg/Kg

C.M.A. = Concentrazione massima ammissibile come riportato dal Reg.CE 2073/05 e successive modifiche

Prelievo come da piano di campionamento. NON applicabile se il prelievo è effettuato dal cliente

L'incertezza calcolata è un'incertezza estesa ed è espressa nella stessa unità di misura dell'analisi

U.M.:Unità di misura

Per le prove microbiologiche l'incertezza di misura espressa riportata è stata stimata in accordo con la ISO 19036 e si basa su un'incertezza

standard moltiplicata per un fattore di copertura di k=2, fornendo un livello di confidenza di circa il 95%.

L'incertezza di misura nelle prove quantitative nelle acque è calcolata secondo ISO 29201

Le prove microbiologiche quantitative sono eseguite su singola replica e sue diluizioni consecutive secondo la ISO 7218:2007/Amd.1:2013

Il laboratorio si assume la responsabilità di tutte le informazioni presenti nel rapporto di prova ad esclusione di quelle fornite dal cliente

Se il campionamento non è effettuato dal Laboratorio, i risultati si riferiscono al campione ricevuto e campionato dal cliente.

Se i dati relativi al campione comunicati dal cliente, influiscono sulla validità dei risultati il Laboratorio declina la responsabilità dei dati ottenuti.

I risultati analitici si riferiscono esclusivamente al campione esaminato, come pervenuto al laboratorio

Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente, salvo autorizzazione del laboratorio.

***Prova subappaltata

* Tale contrassegno indica "prova non accreditata da ACCREDITA"

Tale contrassegno indica che i dati sono comunicati dal cliente.

-----Fine rapporto di prova-----

Pag. 1 / 1

Il Direttore del Laboratorio

Dott. Anna Maria Scaglione
 DIRETTORE
 SPED. IN A.B. 10/2014
 L. 31/01/2017 N. 12
 Gen. 2020 n. 1266

Allegato 4: Procedura per la determinazione dell'istamina su *S. pilchardus* e *E. encrasicolus* salata

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

**ISTRUZIONE OPERATIVA - PROCEDURA PER LA
DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA MP-01**

REDAZIONE	VERIFICA	APPROVAZIONE ED EMISSIONE
Direttore generale	Responsabile qualità	Direttore generale
(Dott. Francesco Scaglione)	(Dott.ssa Giulia Scaglione)	(Dott. Francesco Scaglione)

Edizione	Revisione	Natura del documento (Emissione/revisione)	Motivo dell'emissione	Data
1	2	Revisione	Modifiche a seguito NC accredia	2014
1	3	Revisione	Modifica nominativi verifica documenti	11.06.2017
1	4	Revisione	Nuova procedura di diluizione	03.09.2018
1	5	Revisione	Modifica pti: mod di esecuzione prova, dosaggio, curva di taratura	18.10.2018
1	6	Revisione	Nuovi Lod e Loq	19.10.2019
1	7	Revisione	Inserimento fonti bibliografiche pag 2	09.02.2021

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

Scopo e campo di applicazione

Il metodo consente la ricerca dell'istamina mediante cromatografia in fase liquida ad elevate prestazioni (HPLC) nei prodotti della pesca freschi, refrigerati, preparati, trasformati, conservati, congelati.

Documenti di riferimento

- MANUALE QUALITÀ
- IO VAL. MET.: Procedure di validazione dei metodi interni
- ISO/IEC/EN 17025:2018 Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e taratura
- A.L. Cinquina, F. Longo, A. Cali, L. De Santis, R. Baccelliere, R. Cozzani - "Validation and comparison of analytical methods for determination of histamine in tuna fish samples" - Journal of Chromatography A., 1032 (2004) 79 - 85
- Regolamento (CE) N. 1441/2007 della Commissione del 5 dicembre 2007 che modifica il Regolamento (CE) N.2073/2005 sui criteri Microbiologici applicabili ai prodotti Alimentari.
- Regolamento UE 1019/2013 del 23 ottobre 2013, che modifica l'allegato I, capitolo I del Regolamento CE n. 2073/2005 relativo all'istamina nei prodotti della pesca.

Definizioni

L'istamina è una ammina biogena, con caratteristiche tossiche, che deriva dalla decarbossilazione dell'amminoacido istidina ad opera di batteri proteolitici.

Abbreviazioni

- HPLC =High Performance Liquid Chromatography
- UV= ultravioletto
- $\lambda_{\max}$ = lunghezza d'onda del massimo di assorbimento nello spettro UV.
- p.a= reagente puro per analisi
- RL= Responsabile laboratorio
- RQ= Responsabile qualità
- MQ= Manuale qualità

Responsabilità

Il Responsabile del Laboratorio ha la responsabilità di:

- garantire la corretta applicazione della presente procedura;
- affidare l'esecuzione della presente procedura a personale opportunamente addestrato;
- controllare la correttezza dei risultati e la verifica degli stessi.

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

Il personale incaricato ha la responsabilità della corretta esecuzione della procedura operativa sopra descritta, per le fasi di propria competenza.

Criteri operativi

Strumenti ed apparecchiature

- Bilancia analitica Mettler mod. AL 204, sensibilità 0.0001 mg
- Bilancia tecnica Scaltec mod. SAC 68, sensibilità 0.1 g
- Bagno ad ultrasuoni VWR International Mod. USC 200-2600
- Centrifuga ALC mod. 4222
- Column oven HITACHI mod. L-2300
- Pump HITACHI mod. L-2130
- UV detector HITACHI mod. L-2400
- Colonna cromatografica purospher STAR RP-18 endcapped (5µm) o similari
- Tubi da centrifuga in polipropilene da 15 ml e 50 ml, graduati, con tappo a vite
- Matraci tarati da 10, 50 e da 100 ml di vetro classe A
- Imbuti di vetro diametro 6 cm
- Carta da filtro rapida
- Microfiltri 0.45 µm, 25 mm
- Siringa Hamilton per HPLC o equivalente.

Stato della taratura degli strumenti utilizzati nella prova

Le apparecchiature di prova e misura soggette a taratura, indicate in questa MP dispongono di certificati di taratura validi.

Reagenti, materiali di riferimento

- Acido perclorico p.a.
- Acetonitrile per HPLC
- Potassio monofosfato p.a
- Potassio difosfato triidrato p.a
- Acido decansolfonico p.a.
- Acqua deionizzata
- Standard di Istamina dicloridrato, purezza minima 98%
- Solvente di estrazione: acido perclorico 6%
- Acetonitrile per HPLC
- Metanolo per HPLC
- Soluzione tampone fosfato a pH 6.9 (1,70 g di KH_2PO_4 , 2,85 g di $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e 0,49 g di $\text{C}_{10}\text{H}_{21}\text{O}_3\text{SNa}$ in 1 L di acqua)

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

- Soluzione standard di Istamina a 1 mg/ml
- Fase mobile [Soluzione tampone fosfato a pH 6.9 76% + Metanolo 12% + Acetonitrile 12%]
- Sodio cloruro p.a.
- Ac. Cloridrico 0.1 N

Misure di sicurezza dell'operatore:

Vedere istruzione operativa misure di sicurezza in laboratorio

Luogo di lavoro e condizioni ambientali

- Le attrezzature di laboratorio, le aree di prova, le sorgenti di energia, illuminazione, condizionamento e ventilazione hanno prestazioni adeguate alle prove accreditate.
- Il laboratorio garantisce che nei locali di prova sussistano le seguenti condizioni ambientali:
 - temperature tra 18° C e 27° C;
 - ventilazione adeguata.
- Le condizioni sopra descritte vengono realizzate per mezzo di sistemi di condizionamento (impianto di riscaldamento e di climatizzazione, condizionatori, ecc.).
- I parametri sopra elencati vengono controllati mediante l'uso di termometri che sono giornalmente consultati dagli operatori per verificarne la corrispondenza ai valori prefissati.
- I valori letti giornalmente, nel caso in cui non rientrino nei range specificati, vengono segnalati al RL che potrà aprire una NC e procedere in due modi: gestire il laboratorio stesso in autonomia (es. nuova curva di taratura, sostituzione della colonna) oppure chiedere l'intervento della ditta esterna in casi più gravi.

Preparazione dei campioni da sottoporre alla prova

a) Prodotti ittici non confezionati

Prelevare parte del campione da diversi punti dello stesso, in modo da ottenere un sub-campione di almeno 50g, rappresentativo del prodotto in esame, omogeneizzare.

b) Prodotti ittici salati

Lavare accuratamente il pesce salato con una soluzione satura di cloruro di sodio. Porre il campione in un setaccio a larghe maglie per almeno 10 minuti, in modo da ottenere un prodotto ben sgocciolato.

c) Prodotti ittici confezionati

Eliminare il più possibile i corpi estranei al prodotto ittico. Nel caso in cui i campioni siano costituiti da prodotti ittici e liquidi (olio, liquidi di governo, ecc.), porre il campione in un setaccio a larghe maglie per almeno 10 minuti, in modo da ottenere un prodotto ben sgocciolato. Asciugare strizzando tale prodotto in carta bibula

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

Modalità di esecuzione della prova

▪ Estrazione

- ⌋ Pesare alla bilancia analitica circa 10 g di campione omogeneizzato con l'approssimazione di 0,1 mg in un provettone per centrifuga e 10 g di campione per il fortificato.
- ⌋ Aggiungere al campione da fortificare 1 ml della soluzione standard a 1000 mg/I
- ⌋ Aggiungere 10 ml di acido perclorico al 6%
- ⌋ Omogeneizzare al vortex per 1 min e porre in bagno a ultrasuoni per 10 minuti
- ⌋ Travasare in due tubi da centrifuga da 15 ml e tappare
- ⌋ Centrifugare per 15 minuti a 3000 rpm.
- ⌋ Recuperare il surnatante e trasferirlo in un matraccio tarato da 50 ml.
- ⌋ Ripetere le ultime due operazioni per altre due volte
- ⌋ Portare a volume con acido perclorico al 6%
- ⌋ Filtrare la soluzione su carta da filtro rapida
- ⌋ Filtrare la soluzione su microfiltro da 0,45 µm.
- ⌋ Caricare la siringa ed iniettare

▪ Dosaggio

- ⌋ Condizionare la colonna con la fase mobile a temperatura di 30°C per circa un'ora.
- ⌋ Controllare i parametri relativi al corretto funzionamento del cromatografo (flusso, pressione, lampada, linea di base) ed eseguire le operazioni di manutenzione quotidiana
- ⌋ Richiamare il Parameter file "DOSAGGIO ISTAMINA" o impostare manualmente le seguenti condizioni strumentali:
 - ⌋ Colonna: Colonna cromatografica purospher STAR RP-18 endcapped (5µm) o similari
 - ⌋ Loop: 20 µl
 - ⌋ Flusso: 1.0 ml/minuto
 - ⌋ Stop time: 20 minuti
 - ⌋ Detector: UV ($\lambda_{\max}$ =214 nm)
 - ⌋ Modalità: Isocratica
 - ⌋ Eluenti: Tampone a pH 6.9 + Metanolo per HPLC + Acetonitrile per HPLC

time (min)	flow (mL/min)	%A	%B	%C	%D
20.0	1.0	0,0	0.0	100.0	0.0

- Iniettare 20 µl di filtrato in HPLC

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

▪ *Curva di taratura*

- Si costruisce la curva di taratura, su foglio excel, riportando l'area del picco in funzione della concentrazione di analita, utilizzando cinque punti, oltre lo zero, corrispondenti alle concentrazioni di istamina 10-50-100-200-400 mg/I per le matrici prodotti ittici confezionati ed in olio e prodotti ittici salati., mentre per la matrice del pesce fresco si utilizzano le seguenti concentrazioni: 10-50-100-200 mg/I Nel caso in cui le letture non dovessero essere congrue al valore di riferimento viene ripetuta la preparazione dei campioni e la lettura.
- Se si utilizza una curva di taratura costruita in una seduta analitica diversa, occorre verificarne l'accettabilità, mediante una soluzione standard (diversa da quella utilizzata durante la costruzione della curva) all'interno del campo di linearità strumentale. Nel caso in cui il valore ottenuto non rientra tra 200 ± 20 mg/Kg viene ripetuta la preparazione dei campioni e la lettura.
- Se le condizioni di accettabilità non sussistono, deve essere costruita una nuova curva di taratura.

▪ *Identificazione dell'istamina*

- Verificare l'identità dell'istamina dai dati cromatografici, in base al tempo di ritenzione secondo la seguente relazione:

$$TR(c) = TR(s) \pm 2.5 \% \text{ minuti dove:}$$

TR (c) = tempo di ritenzione dell'analita nel campione

TR (s) = tempo di ritenzione dell'analita nella soluzione di riferimento

- verificare l'identità dell'analita mediante il seguente procedimento cromatografico. Un estratto del campione da confermare viene additivato mediante aggiunta di quantitativo adeguato della soluzione di taratura. Il quantitativo di analita aggiunto deve essere simile a quello stimato rilevato nell'estratto del campione. Deve aumentare soltanto l'altezza del picco dell'analita tenuto conto sia del quantitativo aggiunto che della diluizione dell'estratto. L'ampiezza del picco, a metà della sua altezza massima deve corrispondere all'altezza originale con uno scostamento massimo del 10%.

▪ *Determinazione quantitativa dell'analita*

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

- Misurare l'area dei picchi relativa all'analita, mediante integrazione su curva di taratura su carta millimetrata
- La concentrazione di istamina nel campione viene calcolata in base alla seguente formula:

$$C(c) = \frac{C(s) * V}{P * R}$$

dove:

C(c) concentrazione di analita nel campione espressa in mg/Kg
C(s) concentrazione di analita nell'estratto campione (mg/l), determinata per interpolazione sulla curva di taratura
V volume finale in ml dell'estratto campione
p peso in grammi del campione
R recupero medio

Qualora la concentrazione dell'analita risultasse superiore al campo di misura si procede ad una diluizione. La concentrazione reale nel campione viene così calcolata:

$$C(C) = \frac{C(s) * V}{P * R} * F$$

F = fattore di diluizione.

Validazione dei metodo ed incertezza di misura

▪ Parametri di validazione

Secondo le modalità descritte nella I.O. VAL.MET

▪ Incertezza di misura

Secondo le modalità descritte nella sezione 5.4.6 del MQ,

Calcolare l'incertezza di tipo composta relativa

$$U_c = \sqrt{(u_{\text{ripetibilità}})^2 + (u_{\text{pesata}})^2 + (u_{\text{taratura}})^2 + (u_{\text{recupero}})^2 + \dots}$$

Calcolare l'incertezza tipo composta assoluta moltiplicando l'incertezza composta relativa per il risultato delle misure $\bar{y}$:

$$U_c = U_c \times \bar{y}$$

Dai valori ottenuti, calcolare l'incertezza estesa del metodo per ogni livello di concentrazione

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

$$U_e = U_c \times t_{p=0,95;v(eff)}$$

$$U_e = U_c \times k$$

U_c = incertezza tipo composta relativa

$\bar{y}$ = valore medio di n misure di concentrazione eseguite in condizioni di ripetibilità

$(\bar{y})_m$ = concentrazione media di analita nel campione, risultante da m repliche indipendenti.

U_e = incertezza estesa del metodo per ogni livello di concentrazione

$t_{p=0,95;v(eff)}$ = valore del t di Student per una probabilità $p = 95\%$ ed un numero $v(eff)$ di gradi di libertà effettivi del sistema; quando $v(eff)$ è almeno pari o superiore a 10 si può sostituire il valore di $t_{p=0,95;v(eff)}$ con un fattore di copertura $K = 2$

Espressione dei risultati

- Il risultato analitico viene espresso indicando il valore della concentrazione di analita nel campione e, ove richiesto, la relativa incertezza estesa di misura.
- Il risultato analitico e la relativa incertezza estesa di misura vengono espressi con numeri interi (senza decimali), con le stesse unità di misura (mg/Kg):

$$\text{Risultato analitico} = \text{misura} \pm U_e$$

Conclusioni

Dai calcoli effettuati dal nostro laboratorio si evince che tutti i parametri sopra descritti sono soddisfatti in quanto i valori rientrano nel campo di accettabilità.

Il metodo si considera Accettato ed Applicabile nella routine di laboratorio.

Il Responsabile di laboratorio

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

(Scheda 1)

Scheda soluzioni di lavoro e reagenti: Soluzione tampone fosfato a pH 6.9

Composizione

Potassio monofosfato anidro	1.70 gr
Potassio fosfato bibasico triidrato	2.85 gr
Acido decansolfonico	0.49 gr
Acqua deionizzata	q.b. a 1000 ml

Preparazione

Pesare su bilancia analitica 1.70 gr di potassio monofosfato anidro, 2.85 gr di potassio fosfato bibasico triidrato e 0.49 gr di acido decansolfonico, trasferirli in un pallone tarato da 1000 ml, solubilizzarli in acqua e portare a volume

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

(Scheda 2)

SCHEDA OPERATIVA TECNICA

SOLUZIONI STANDARD ISTAMINA

CONCENTRAZIONE 1 mg/ml

Composizione

Istamina dicloridrato	167.7 mg
Acido cloridrico	q.b. a 100 ml

Preparazione

Pesare su bilancia analitica 167.7 mg di istamina dicloridrato, trasferirli in un matraccio tarato da 100 ml e portare a volume con acido cloridrico 0.1 N

Conservazione

La soluzione va conservata in frigo alla temperatura di $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ed ha validità di mesi tre dal momento della preparazione

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

(Scheda 3a)

SCHEDA OPERATIVA TECNICA

SOLUZIONI STANDARD ISTAMINA PER PRODOTTI ITTICI CONFEZIONATI ED IN OLIO E PRODOTTI ITTICI SALATI

CONCENTRAZIONE 10-50-100-200-400 µg /ml

Composizione

- Soluzione standard di istamina 10 µg /ml
Soluzione standard di istamina 1 mg/ml
Acido perclorico 6%
1 ml
q.b. a 100 ml
- Soluzione standard di istamina 50 µg /ml
Soluzione standard di istamina 1 mg/ml
Acido perclorico 6%
5 ml
q.b. a 100 ml
- Soluzione standard di istamina 100 µg /ml
Soluzione standard di istamina 1 mg/ml
Acido perclorico 6%
10 ml
q.b. a 100 ml
- Soluzione standard di istamina 200 µg /ml
Soluzione standard di istamina 1 mg/ml
Acido perclorico 6%
20 ml
q.b. a 100 ml
- Soluzione standard di istamina 400 µg /ml
Soluzione standard di istamina 1 mg/ml
Acido perclorico 6%
40 ml
q.b. a 100 ml

Preparazione

- Soluzione a 10 µg /ml: prelevare un ml della soluzione standard di istamina 1 mg/ml, trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acido perclorico;
- Soluzione a 50 µg /ml: prelevare 5 ml della soluzione standard di istamina 1 mg/ml, trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acido perclorico;
- Soluzione a 100 µg /ml: prelevare 10 ml della soluzione standard di istamina 1 mg/ml, trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acido perclorico;
- Soluzione a 200 µg /ml: prelevare 20 ml della soluzione standard di istamina 1 mg/ml, trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acido perclorico;
- Soluzione a 400 µg /ml: prelevare 40 ml della soluzione standard di istamina 1 mg/ml, trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acido perclorico;

Conservazione

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

La soluzione va preparata al momento dell'uso

(Scheda 3b)

SCHEDA OPERATIVA TECNICA

SOLUZIONI STANDARD ISTAMINA PER PRODOTTI ITTICI FRESCHI

CONCENTRAZIONE 10-25-50-100-200 µg /ml

Composizione

- Soluzione standard di istamina 10 µg /ml
Soluzione standard di istamina 1 mg/ml
Acido perclorico 6%
1 ml
q.b. a 100 ml
- Soluzione standard di istamina 25 µg /ml
Soluzione standard di istamina 1 mg/ml
Acido perclorico 6%
2,5 ml
q.b. a 100 ml
- Soluzione standard di istamina 50 µg /ml
Soluzione standard di istamina 1 mg/ml
Acido perclorico 6%
5 ml
q.b. a 100 ml
- Soluzione standard di istamina 100 µg /ml
Soluzione standard di istamina 1 mg/ml
Acido perclorico 6%
10 ml
q.b. a 100 ml
- Soluzione standard di istamina 200 µg /ml
Soluzione standard di istamina 1 mg/ml
Acido perclorico 6%
20 ml
q.b. a 100 ml

Preparazione

- Soluzione a 10 µg /ml: prelevare un ml della soluzione standard di istamina 1 mg/ml, trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acido perclorico;
- Soluzione a 25 µg /ml: prelevare 2,5 ml della soluzione standard di istamina 1 mg/ml, trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acido perclorico;
- Soluzione a 50 µg /ml: prelevare 5 ml della soluzione standard di istamina 1 mg/ml, trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acido perclorico;
- Soluzione a 100 µg /ml: prelevare 10 ml della soluzione standard di istamina 1 mg/ml, trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acido perclorico;
- Soluzione a 200 µg /ml: prelevare 20 ml della soluzione standard di istamina 1 mg/ml, trasferire in un matraccio tarato da 100 ml, portare a volume con acido perclorico;

Conservazione

La soluzione va preparata al momento dell'uso

	Centro Scaglione srls		
	MP-01	DETERMINAZIONE DELL'ISTAMINA NEI PRODOTTI DELLA PESCA	09 Febbraio 2021 Rev. 7

ALLEGATO 1

Dati di validazione

Analita: ISTAMINA							
Matrice: PRODOTTI ITTICI FRESCHI							
Livello	Concentrazione mg/Kg	Ripetibilità mg/Kg	Incertezza estesa	LOD mg/kg	LOQ mg/kg	Campo di misura	Recupero medio %
Basso	50	1,21	3,61	1,3	2,9	3-200	94
Medio	100	2,413	7,88				
Alto	200	4,49	14,66				

Analita: ISTAMINA							
Matrice: PRODOTTI ITTICI SALATI							
Livello	Concentrazione mg/Kg	Ripetibilità mg/Kg	Incertezza estesa	LOD mg/kg	LOQ mg/kg	Campo di misura	Recupero medio
Basso	100	2,504	8,18	1,3	2,9	3-400	96,3
Medio	200	4,507	14,97				
Alto	400	8,77	29,11				

Analita: ISTAMINA							
Matrice: PRODOTTI ITTICI CONFEZIONATI ED IN OLIO							
Livello	Concentrazione mg/Kg	Ripetibilità mg/Kg	Incertezza estesa	LOD mg/kg	LOQ mg/kg	Campo di misura	Recupero medio
Basso	100	2,39	7,95	1,3	2,9	3-400	96,2
Medio	200	4,664	14,97				
Alto	400	9,164	30,26				

Allegato 5: Esame microbiologico *S. aurata*: Conta dei microrganismi a 30 °C



Sede amministrativa e laboratorio
Via Isoella n° 50 91100 Trapani
☎ 0923-24622 – fax 0923 437084
P. IVA 01481110813 – CCIAA 85713
E-mail: idrolab@idrolab.com
web site: www.idrolab.com



LAB N° 1040 L

Aut. Ministero della Sanità P.700.7.A/59.423/0851- D.L.531/92 – D.L. 286/94 Aut. Ministero della Sanità P.700.7/59.423/2131 D.P.R. 227/92 –
D.Lgs. 530/92 D.Lgs. 537/92 – 65/93 – D.P.R. 54/97- D.P.R. 309/98.

Rapporto di prova n° BTA 436/20**Richiedente****Indirizzo****Data Referto****Campione/i****Campionamento²****Data ricevimento campione****Data inizio e fine analisi****Temperatura al ricevimento****Richiesta****Note****COSVAP- DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU**

Area Porto Nuovo-Lungomare Fata Morgana (snc) Presso Mercato Ittico- Agroalimentare - 91026 Mazara del Vallo (Tp)

29/12/2020

Tessuto di pesce: Orate

A cura del richiedente

Effettuato 02/12/2020

02/12/2020

INIZIO: 02/12/2020**FINE:** 19/12/2020

Da 1,5 °C a 3,8 °C

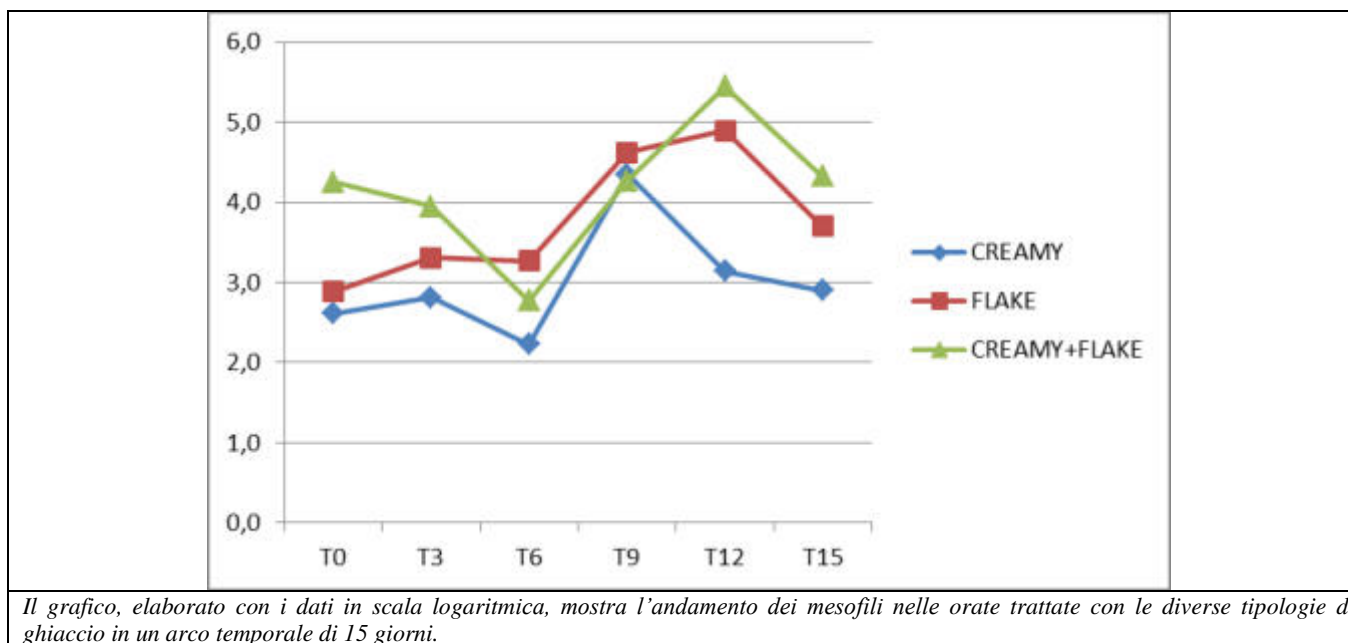
Esame microbiologico: Conta dei microrganismi a 30 °C

Metodo di prova: **UNI EN ISO 4833-1:2013**

Contrassegnato	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)					
	T ₁₀ (02/12/2020)	T ₃	T ₆	T ₉	T ₁₂	T ₁₅
Creamy 1	750	90	250	32000	2200	1500
Creamy 2	64	1200	90	13000	550	100
Logaritmo del valore medio	2,6	2,8	2,2	4,4	3,1	2,9

Contrassegnato	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)					
	T ₁₀ (02/12/2020)	T ₃	T ₆	T ₉	T ₁₂	T ₁₅
Flake 1	640	1600	2000	36000	100000	8200
Flake 2	880	2500	1700	48000	56000	1900
Logaritmo del valore medio	2,9	3,3	3,3	4,6	4,9	3,7

Contrassegnato	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)					
	T ₀ (02/12/2020)	T ₃	T ₆	T ₉	T ₁₂	T ₁₅
Creamy + Flake 1	25000	11000	800	15000	240000	4100
Creamy + Flake 2	11000	6700	390	22000	320000	38000
Logaritmo del valore medio	4,3	3,9	2,8	4,3	5,4	4,3



N.B.1: i valori riportati si riferiscono al campione sottoposto ad analisi.

N.B.2: non è oggetto di accreditamento. Il campionamento, qualora eseguito da personale Idrolab, è stato condotto secondo PG 7.3 – CAMPIONAMENTO.

Le informazioni indicate nei campi: Contrassegnato, Data campionamento, Campionamento effettuato da (nel caso di campionamento effettuato dal cliente) sono fornite dal cliente, pertanto il laboratorio su tali informazioni declina ogni responsabilità. I risultati analitici si riferiscono solo ed esclusivamente al campione così come ricevuto.

N.B.3: N.A. = Non applicabile; Ass. = assente; U. M.= unità di misura.

L'incertezza di misura associata ai risultati delle prove microbiologiche è espressa come incertezza estesa secondo la ISO 19036:2019 (p 95% K=2), ovvero come Intervallo di fiducia secondo la UNI EN ISO 8199:2008.-

Per le prove chimiche è espressa come incertezza estesa secondo JCGM 100:2008.

Essa è ottenuta moltiplicando l'incertezza tipo per il fattore di copertura k corrispondente ad un livello di fiducia del 95% (Fattore $k = 2$)

***N.B.4:** la presenza del simbolo * ad apice del parametro indica che la prova non è accreditata da ACCREDIA.*

Inoltre il documento non può essere riprodotto parzialmente salvo approvazione scritta del laboratorio.

FINE RAPPORTO DI PROVA



Allegato 6: Esame microbiologico *M. salmoides*: Conta dei microrganismi a 30 °C



Sede amministrativa e laboratorio
Via Isoella n° 50 91100 Trapani
☎ 0923-24622 – fax 0923 437084
P. IVA 01481110813 – CCIAA 85713
E-mail: idrolab@idrolab.com
web site: www.idrolab.com



LAB N° 1040 L

Aut. Ministero della Sanità P.700.7.A/59.423/0851- D.L.531/92 – D.L. 286/94 Aut. Ministero della Sanità P.700.7/59.423/2131 D.P.R. 227/92 –
D.Lgs. 530/92 D.Lgs. 537/92 – 65/93 – D.P.R. 54/97- D.P.R. 309/98.

Rapporto di prova n°**BTA 71/21****Richiedente****COSVAP- DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU****Indirizzo**

Area Porto Nuovo-Lungomare Fata Morgana (snc) Presso Mercato Ittico- Agroalimentare - 91026 Mazara del Vallo (Tp)

Data Referto

19/03/2021

Campione/i

Tessuto di pesce: Persico trota

Campionamento²

A cura del richiedente

Effettuato 23/02/2021

Data ricevimento campione

23/02/2021

Data inizio e fine analisi**INIZIO:** 23/02/2021**FINE:** 12/03/2021**Temperatura al ricevimento**

Da 1,2 °C a 3,9 °C

Richiesta

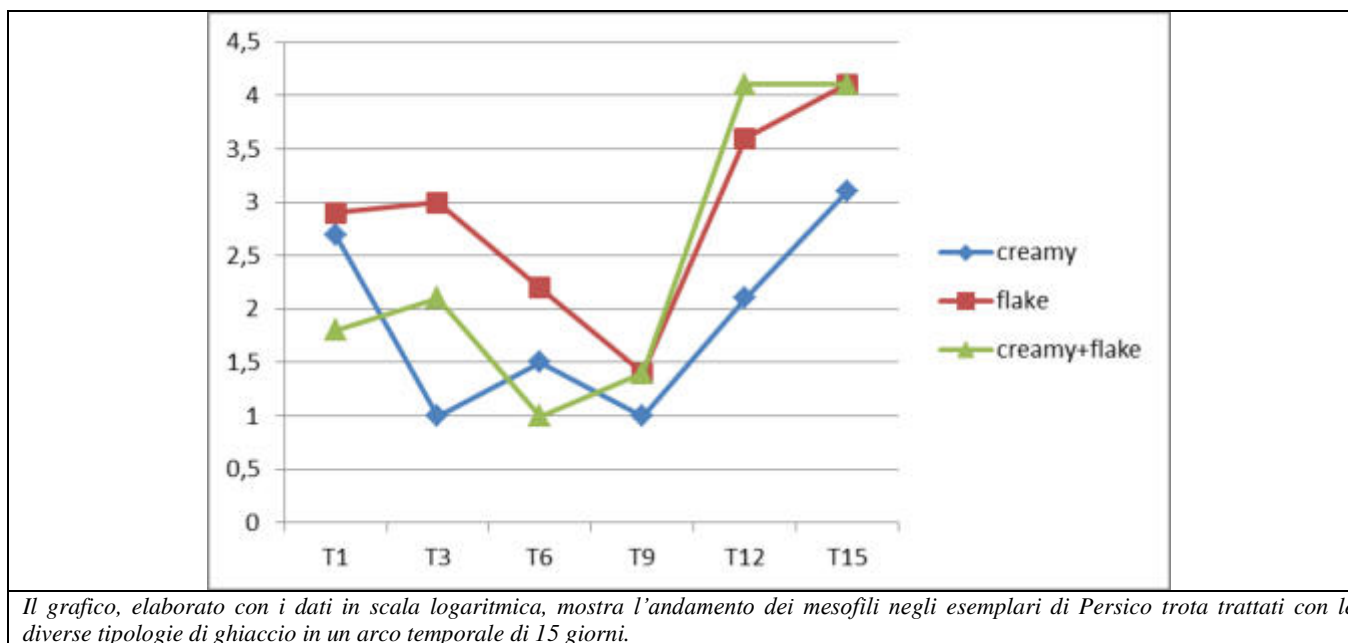
Esame microbiologico: Conta dei microrganismi a 30 °C

NoteMetodo di prova: **UNI EN ISO 4833-1:2013**

Contrassegnato	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)					
	T ₁₀ (23/02/2021)	T ₃	T ₆	T ₉	T ₁₂	T ₁₅
Creamy 1	290	10	45	10	240	1900
Creamy 2	780	10	18	10	45	840
Logaritmo del valore medio	2,7	1,0	1,5	1,0	2,1	3,1

Contrassegnato	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)					
	T ₁₀ (23/02/2021)	T ₃	T ₆	T ₉	T ₁₂	T ₁₅
Flake 1	1700	54	18	10	2300	11000
Flake 2	63	2160	300	36	5500	13000
Logaritmo del valore medio	2,9	3,0	2,2	1,4	3,6	4,1

Contrassegnato	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)					
	T ₁₀ (23/02/2021)	T ₃	T ₆	T ₉	T ₁₂	T ₁₅
Creamy + Flake 1	54	100	10	10	12000	6000
Creamy + Flake 2	90	160	10	45	12000	17000
Logaritmo del valore medio	1,8	2,1	1,0	1,4	4,1	4,1



N.B.1: i valori riportati si riferiscono al campione sottoposto ad analisi.

N.B.2: non è oggetto di accreditamento. Il campionamento, qualora eseguito da personale Idrolab, è stato condotto secondo PG 7.3 – CAMPIONAMENTO.

Le informazioni indicate nei campi: Contrassegnato, Data campionamento, Campionamento effettuato da (nel caso di campionamento effettuato dal cliente) sono fornite dal cliente, pertanto il laboratorio su tali informazioni declina ogni responsabilità. I risultati analitici si riferiscono solo ed esclusivamente al campione così come ricevuto.

N.B.3: N.A. = Non applicabile; Ass. = assente; U. M.= unità di misura.

L'incertezza di misura associata ai risultati delle prove microbiologiche è espressa come incertezza estesa secondo la ISO 19036:2019 (p 95% K=2), ovvero come Intervallo di fiducia secondo la UNI EN ISO 8199:2008.-

Per le prove chimiche è espressa come incertezza estesa secondo JCGM 100:2008.

Essa è ottenuta moltiplicando l'incertezza tipo per il fattore di copertura k corrispondente ad un livello di fiducia del 95% (Fattore $k = 2$)

***N.B.4:** la presenza del simbolo * ad apice del parametro indica che la prova non è accreditata da ACCREDIA.*

Inoltre il documento non può essere riprodotto parzialmente salvo approvazione scritta del laboratorio.

FINE RAPPORTO DI PROVA



Allegato 7: Esame microbiologico *P. longirostris* e *A. foliacea*: Conta dei microrganismi a 30 °C



Sede amministrativa e laboratorio
Via Isolella n° 50 91100 Trapani
☎ 0923-24622 – fax 0923 437084
P. IVA 01481110813 – CCIAA 85713
E-mail: idrolab@idrolab.com
web site: www.idrolab.com



LAB N° 1040 L

Aut. Ministero della Sanità P.700.7.A/59.423/0851- D.L.531/92 – D.L. 286/94 Aut. Ministero della Sanità P.700.7/59.423/2131 D.P.R. 227/92 –
D.Lgs. 530/92 D.Lgs. 537/92 – 65/93 – D.P.R. 54/97- D.P.R. 309/98.

Rapporto di prova n° BTA 420/21**Richiedente****Indirizzo****Data Referto****Campione/i****Campionamento²****Data ricevimento campione****Data inizio e fine analisi****Temperatura al ricevimento****Richiesta****Note****COSVAP- DISTRETTO DELLA PESCA E CRESCITA BLU**

Area Porto Nuovo-Lungomare Fata Morgana (snc), presso Mercato Ittico-Agroalimentare - 91026 Mazara del Vallo (Tp)

10/11/2021

Materia prima: Gambero

A cura del richiedente

20/10/2021

INIZIO: 20/10/2021

Da 1,5 °C a 3,8 °C

Esame microbiologico: Conta dei microrganismi a 30 °C

Metodo di prova: **UNI EN ISO 4833-1:2013**

Effettuato 20/10/2021

FINE: 29/10/2021

	Risultato¹⁻³ (UFC/g)			
	T₁ (20/10/2021)	T₃ (22/10/2021)	T₅ (25/10/2021)	T₇ (26/10/2021)
Contrassegnato: P. longirostris				
Creamy A	370	330	70	125
Creamy B	280	240	10	150

	Risultato¹⁻³ (UFC/g)			
	T₁ (20/10/2021)	T₃ (22/10/2021)	T₅ (25/10/2021)	T₇ (26/10/2021)
Contrassegnato: P. longirostris				
Flake A	170	200	160	150
Flake B	300	350	120	200

	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)			
Contrassegnato: A. folicia	T ₁ (20/10/2021)	T ₃ (22/10/2021)	T ₅ (25/10/2021)	T ₇ (26/10/2021)
Creamy A	70	100	100	60
Creamy B	100	80	50	150

	Risultato ¹⁻³ (UFC/g)			
Contrassegnato: A. folicia	T ₁ (20/10/2021)	T ₃ (22/10/2021)	T ₅ (25/10/2021)	T ₇ (26/10/2021)
Flake A	220	200	400	130
Flake B	170	150	300	120

N.B.1: i valori riportati si riferiscono al campione sottoposto ad analisi.

N.B.2: non è oggetto di accreditamento. Il campionamento, qualora eseguito da personale Idrolab, è stato condotto secondo PG 7.3 – CAMPIONAMENTO.

Le informazioni indicate nei campi: Contrassegnato, Data campionamento, Campionamento effettuato da (nel caso di campionamento effettuato dal cliente) sono fornite dal cliente, pertanto il laboratorio su tali informazioni declina ogni responsabilità. I risultati analitici si riferiscono solo ed esclusivamente al campione così come ricevuto.

N.B.3: N.A. = Non applicabile; Ass. = assente; U. M. = unità di misura.

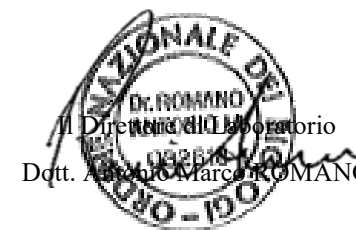
L'incertezza di misura associata ai risultati delle prove microbiologiche è espressa come incertezza estesa secondo la ISO 19036:2019 (p 95% K=2), ovvero come Intervallo di fiducia secondo la UNI EN ISO 8199:2008.-

Per le prove chimiche è espressa come incertezza estesa secondo JCGM 100:2008.

Essa è ottenuta moltiplicando l'incertezza tipo per il fattore di copertura k corrispondente ad un livello di fiducia del 95% (Fattore k = 2)

N.B.4: la presenza del simbolo * ad apice del parametro indica che la prova non è accreditata da ACCREDIA.

Inoltre il documento non può essere riprodotto parzialmente salvo approvazione scritta del laboratorio.



FINE RAPPORTO DI PROVA

Allegato 8: Relazione finale della Bio&Tec Soc. Coop.



**SUPERICE - Supporto e promozione della ricerca e dell'innovazione
nella conservazione e commercializzazione dei prodotti della pesca in Sicilia**

**Campionamenti di *Sardina pilchardus*, *Engraulis engrasicolous*, *Sparus aurata*,
Micropterus salmoides, *Parapenaeus longirostris* e *Aristaeomorpha foliacea***

Azioni preliminari

Preliminarmente alle attività di campo e secondo quanto previsto per il coordinamento di tutte le attività in progetto, sono state avviate le attività propedeutiche.

Il personale della Bio&Tec Soc. Coop. ha partecipato a 3 incontri a Mazara del Vallo presso i locali dove è installata la macchina produttrice di ***Creamy ice (CI)***, al fine di coordinare la logistica con il personale di Medica Air e il personale del Distretto.

Si è proceduto, successivamente, all'individuazione e il reclutamento delle barche da coinvolgere nella fase del campionamento delle specie previste, sulla base della stagione di pesca e del periodo dell'anno, in accordo con Il Distretto, con l'Istituto di Biologia Marina e con gli operatori di Medica air.

- Acciuga (*Engraulis encrasicolus*)
- Pesce sciabola (*Lepidopus caudatus*)
- Triglia di fango (*Mullus barbatus*)
- Gambero rosa (*Parapenaeus longirostris*)
- Gambero rosso (*Aristaeomorpha foliacea*)

Primo campionamento

Il 4 novembre 2020 ha avuto inizio il primo campionamento per il progetto SuperIce. La prima specie scelta è stata l'Acciuga (*Engraulis encrasicolus*) e ci è avvalsi della "Stella II" (03PE00737), un motopesca della marineria di Sciacca che opera con la rete a circuizione.

A bordo è stato portato il seguente materiale:

- n° 2 freezer portatili Mobicool da 38 litri ciascuno.
- n° 4 cassette in polistirolo con coperchio (cm 38,5 x 27 x 15,5), riempite ciascuna con circa 4 kg di ghiaccio **CI** a Mazara del Vallo;



- n° 2 mastelli in plastica da 50 litri da utilizzare per la baiatura del prodotto;
- n° 6 termometri digitali con sonda ad immersione.

Come da protocollo suggerito dai rappresentanti di Medica Air, il **CI** che è stato prelevato a Mazara del Vallo appena prodotto, dal personale di Medic Air, immediatamente prima della partenza per la battuta di pesca. Il **CI** è stato posto in sacchetti di plastica e conservato nei freezer portatili a -10/15°C. I freezer contenenti il **CI** sono stati trasportati al porto di partenza utilizzando un furgone frigorifero appositamente noleggiato.

Il ghiaccio a scaglie o **Flake Ice (FI)** utilizzato come controllo è stato invece prodotto direttamente a bordo del peschereccio.

A dispetto dei diversi tentativi effettuati dall'equipaggio, durante la battuta di pesca, è stata effettuata esclusivamente una cattura, peraltro abbondante, di Sardina (*Sardina pilchardus*). Vista l'impossibilità di catturare Acciuga, in accordo con gli operatori di Medic Air e con il Distretto, si è deciso di procedere comunque al campionamento della Sardina, secondo il protocollo previsto.

In ciascuno dei due mastelli sono stati baiati contemporaneamente le medesime quantità di Sardina, utilizzando il **CI** in uno, il **FI** nel secondo, con un rapporto pesce ghiaccio di 1:1. In alcuni pesci non ancora baiati è stata registrata la variazione di temperatura corporea, tramite termometro digitale, dal momento in cui sono stati ricoperti di ghiaccio **CI** o **FI**. La sonda ad immersione di 3 mm di diametro è stata inserita nel muscolo dorsale, parallela alla colonna vertebrale, per monitorare la variazione della temperatura interna.

Il **CI** conservato nei freezer portatili, aveva perso la sua consistenza cremosa e si era trasformato in un blocco unico che è stato frantumato per consentirne l'utilizzazione.

Il 05/11/2020 si è fatto rientro a Sciacca e i due mastelli con il pesce baiato sono stati trasportati a Mazara del Vallo, dove, nei locali del COSVAP, si è provveduto a incassettare il pescato:

- n° 6+6 cassette in polistirolo con coperchio con pesce baiato con **CI**, ulteriormente ricoperto con **CI** appena prodotto (con una temperatura di -2,7 °C);
- n° 6+6 cassette in polistirolo con coperchio con pesce baiato con **FI** (con una temperatura di -0,1 °C), ulteriormente ricoperto con **FI** fresco.



Come previsto dal protocollo concordato con i tecnici della Medic Air, Le cassette sono state stoccate in due celle frigorifere diverse, quelle con **CI** sono state conservate a $-2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, quelle con **FI** sono state conservate in una cella a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Le prime 4 cassette (2 repliche con **CI**, 2 repliche con **FI**) sono state consegnate lo stesso giorno all'Istituto di Biologia Marina di Trapani, entro le ore 9 come concordato, per le analisi previste.

Contestualmente, sono state consegnate anche le tabelle delle temperature al core dei pesci, rilevate a bordo con i termometri digitali e le foto scattate durante il campionamento.

Come da accordi, si è proceduto alla consegna delle quattro cassette per ognuno dei tempi previsti dal protocollo (T0, T1, T3, T6, T9, T12) per la valutazione della *shelf life*. Nei giorni previsti della consegna e comunque ogni due giorni, personale incaricato dal Distretto ha provveduto alla sostituzione/aggiunta del **CI** e del **FI** nelle rispettive cassette, che mantenevano, rispettivamente, la temperatura di $-2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

All'arrivo di ogni consegna in laboratorio, secondo la tempistica prevista dal protocollo, sono stati prelevati due esemplari di *Sardina* da ciascuna cassetta, imbustati in sacchetti sterili da *Stomacher* e consegnati al laboratorio di Idrolab Consult per le analisi microbiologiche previste.

Secondo campionamento

Il 12 novembre 2020 ha avuto inizio il secondo campionamento, con l'obiettivo di campionare Acciuga (*Engraulis encrasicolus*). Anche stavolta ci è avvalsi della "Stella II" (03PE00737), il motopesca a circuizione della marineria di Sciacca.

Come avvenuto nel primo campionamento, il ghiaccio **CI** è stato prelevato a Mazara del Vallo appena prodotto (ad una temperatura di $-2,6\text{ }^{\circ}\text{C}$) e portato a bordo utilizzando un furgone frigorifero appositamente noleggiato; il **FI** è stato invece prodotto direttamente a bordo e miscelato con altro stoccato prima della partenza (ad una temperatura di $-0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$).

La partenza dal porto di Sciacca è avvenuta il 12/11/2020 e, a seguito di una buona cattura di Acciuga, si è proceduto al campionamento come da protocollo.

L' Acciuga è stata baiata contemporaneamente, utilizzando il **CI** e il **FI**, in due mastelli



diversi, nelle condizioni precedentemente descritte.

Come previsto dal protocollo, in alcuni pesci è stata registrata la variazione di temperatura corporea come già descritto.

Al rientro in porto (13/11/2020) i due mastelli con il pesce baiato sono stati trasportati a Mazara del Vallo e si è provveduto a confezionare:

- n° 6+6 contenitori in polipropilene richiudibili con pesce baiato con **CI**, ulteriormente ricoperti con **CI** appena prodotto;
- n° 6+6 contenitori in polipropilene richiudibili con pesce baiato con **FI**, ulteriormente ricoperti con **FI** fresco.

Ognuno dei 6 contenitori e la sua replica sono stati posti in cassette di polistirolo, contenente la tipologia di ghiaccio corrispondente e poi conservati presso il COSVAP in due celle frigorifere diverse a seconda se il pesce era stato trattato con **CI** (cella a -1,5 °C) o con **FI** (cella a 0 °C).

Durante la valutazione della shelf life di *S. pilchardus*, come osservato durante la fase di baiatura e di monitoraggio della temperatura al core e come segnalato dal personale dell'Istituto di biologia Marina, i pesci mantenuti in **CI**, vista la temperatura di produzione di questa tipologia di ghiaccio e la conservazione in celle a -2,5°C (in accordo al protocollo suggerito da Medic air), andavano incontro a congelamento dei tessuti. Per questo motivo, per ovviare a questo inconveniente, la temperatura della cella di mantenimento dei campioni conservati in CI è stata alzata a -1,5°C.

Come previsto dal protocollo, per ognuno dei tempi previsti (T0, T1, T3, T6, T9, T12) si è proceduto alla consegna delle cassette all'Istituto di Biologia Marina di Trapani per le analisi previste per la valutazione della *shelf life* e alla consegna di due esemplari di Acciuga da ciascun contenitore, imbustati in sacchetti sterili da *Stomacher* al laboratorio di Idrolab Consult per le analisi microbiologiche.

Anche questa volta, per tutto il periodo di conservazione, il personale del Distretto ha provveduto alla sostituzione/aggiunta del **CI** e del **FI** nei giorni previsti della consegna e comunque ogni due giorni.



Terzo campionamento

Come da accordi intercorsi tra il Distretto e i funzionari del Dipartimento Pesca e in accordo con l'Istituto di Biologia Marina, è stata introdotta una modifica al protocollo sperimentale, con l'aggiunta una nuova specie di acquacoltura, *Sparus aurata*, non prevista nel progetto originario e che ha sostituito la Triglia di fango (*Mullus barbatus*).

A differenza di quanto previsto per le specie pescate, l'obiettivo di questa attività era quello di valutare la possibilità di utilizzare il **CI** per la mattazione dei pesci allevati.

L'Istituto di Biologia Marina, ha valutato gli effetti dell'uso di **CI**, rispetto ad un controllo trattato con **FI**, sullo stress indotto sui pesci dalla procedura di mattazione, sulla qualità e sulla *shelf life*.

Durante i due campionamenti precedenti, sia con *S. pilchardus* che con *E. encrasicolus*, è stato notato che la produzione e l'utilizzazione di **CI** ad una temperatura di -2,5/-2,0 °C provocava, come atteso, il congelamento dei pesci.

I risultati preliminari ottenuti dall'Istituto di Biologia Marina, in accordo con la letteratura scientifica, indicano che i pesci congelati vanno incontro ad una perdita delle caratteristiche organolettiche e della qualità. Per ovviare a questo inconveniente il **CI** utilizzato dovrebbe esser prodotto ed utilizzato ad una temperatura di -1,5/-1,0°C. A questa temperatura, come dimostrato dalla letteratura scientifica, si conservano i vantaggi offerti dallo *slurry ice*, e si evitano i problemi determinati dal congelamento dei pesci. Con i tecnici di Medic Air si sta verificando la possibilità di produrre e mantenere il **CI** a queste temperature.

In attesa di modificare i parametri di produzione del **CI**, in accordo con il Distretto, con l'Istituto di Biologia Marina, nel protocollo di campionamento, è stato introdotto un terzo trattamento che prevede la conservazione in ghiaccio a scaglie di un lotto di pesci sottoposto alla mattazione in **CI**, ad una temperatura di -0,1/0,0 °C che non determina il congelamento del prodotto.

Il giorno 1/12/2020 presso l'impianto di allevamento in gabbie galleggianti della Azienda Ittica San Giorgio di Licata, è stato effettuato il campionamento di orate allevate.

Nell'ambito di una pescata commerciale, sono stati prelevati:

- 60 esemplari e immediatamente baiati in una miscela di ghiaccio a scaglie e acqua.
- 120 esemplari e immediatamente baiati in una miscela di ghiaccio a scaglie e acqua, secondo



la procedura abituale dell'impianto.

I pesci sono stati trasportati presso l'impianto di lavorazione ed immediatamente incassettati secondo lo schema seguente:

- orate baiate in una miscela di ghiaccio a scaglie e acqua e conservate in cassette di polistirolo coperte con ghiaccio a scaglie (**FI**)
- orate baiate in *Creamy ice* e conservate in cassette di polistirolo coperte con *Creamy ice* (**CI**)
- orate baiate in *Creamy ice* e conservate in cassette di polistirolo coperte con ghiaccio a scaglie (**CI+FI**).

Per ogni trattamento sono stati preparate due repliche per i seguenti tempi di *shelf life*: T1, T3, T6, T9, T12, T15. In questo caso, a differenza di quanto effettuato per la sardina e per l'acciuga, vista la diversa tipologia di prodotto, caratterizzata da una maggiore conservabilità, è stato introdotto un altro tempo di shelf life a 15 giorni dalla pescata.

Anche per questa specie è stato notato che la temperatura troppo bassa del *creamy ice*, prodotto a -3,5/3,3 °C e conservato nei freezer portatili a -15 °C, come a protocollo, provocava da un lato la morte quasi istantanea dei pesci ma, d'altro canto, determinava il congelamento quasi immediato dei pesci trattati con questa tipologia di ghiaccio.

Durante la fase di campionamento, si è provveduto anche al monitoraggio della variazione della temperatura al core, durante la mattazione in **FI** e in **CI**, come già descritto.

Le cassette contenenti i pesci, una volta trasportate presso la sede del distretto, sono state conservate in cella a 0 °C, quelle contenenti i pesci baiati e conservati con **FI** e quelle contenenti i pesci baiati con **CI** e conservati con **FI**; in una cella a -1,5 °C quelle contenenti i pesci baiati e conservati con **CI**.

Le cassette per il T1 dei tre trattamenti sono state trasportate in laboratorio per le analisi previste dal protocollo e i campioni per le valutazioni microbiologiche sono stati consegnati a Idrolab.

Quarto campionamento

Anche per il quarto campionamento è stata introdotta una modifica al protocollo sperimentale concordata con il Distretto Pesca, i funzionari del Dipartimento Pesca e l'Istituto di Biologia Marina, con la sostituzione del Pesce sciabola (*Lepidopus caudatus*) con il Persico



trota (*Micropterus salmoides*), specie d'acqua dolce allevata.

Anche per questa specie è stato effettuato un terzo trattamento che prevede che un lotto di pesci, dopo la mattazione in **CI**, sia conservato con ghiaccio a scaglie, ad una temperatura di $-0,1/0,0$ °C, che non determina il congelamento del prodotto.

Il giorno 22/02/2021, presso l'azienda acquaponica Mangrovia di Scicli è stato effettuato il campionamento di Persico trota. L'azienda Mangrovia alleva questa specie in un sistema acquaponico a bassa densità che permette di non impattare l'ambiente e ridurre lo spreco di acqua. Inoltre, essendo un sistema chiuso, è privo di contaminazione dall'ambiente esterno come le microplastiche e i metalli pesanti.

Nell'ambito di un'unica pescata, sono stati prelevati:

- 60 esemplari e immediatamente baiati in una miscela di ghiaccio a scaglie e acqua.
- 120 esemplari e immediatamente baiati in una miscela di ghiaccio a scaglie e acqua.

I pesci sono stati incassettati presso lo stesso l'impianto di produzione secondo lo schema seguente:

- persico trota baiate in una miscela di ghiaccio a scaglie e acqua e conservate in cassette di polistirolo coperte con ghiaccio a scaglie (**FI**)
- persico trota in *Creamy ice* e conservate in cassette di polistirolo coperte con *Creamy ice* (**CI**)
- persico trota baiate in *Creamy ice* e conservate in cassette di polistirolo coperte con ghiaccio a scaglie (**CI+FI**).

Per ogni trattamento sono stati preparate due repliche per i seguenti tempi di *shelf life*: T1, T3, T6, T9, T12, T15.

Anche per questa specie è stato notato che la bassa temperatura del *Creamy ice*, prodotto a $-3,5/3,3$ °C e conservato nei freezer portatili a -15 °C, provocava da un lato la morte quasi istantanea dei pesci ma, d'altro canto, determinava il congelamento quasi immediato dei pesci trattati con questa tipologia di ghiaccio.

Come per le altre specie precedentemente campionate, si è provveduto anche alla valutazione della variazione della temperatura al core, durante la baiatura in **FI** e in **CI**.

Come previsto dal protocollo, le cassette contenenti i pesci, una volta trasportate presso la sede del Distretto Pesca a Mazara del Vallo, sono state conservate in cella a 0 °C, quelle contenenti i pesci baiati e conservati con **FI** e quelle contenenti i pesci baiati con **CI** e conservati



con **FI**; in una cella a -1,5 °C quelle contenute i pesci baiati e conservati con **CI**.

Nei giorni previsti per la valutazione dei tempi di *shelf life*, una cassetta per ciascuno dei tre trattamenti è stata trasportata presso l'Istituto di Biologia Marina per le analisi previste dal protocollo e i campioni per le valutazioni microbiologiche prelevati da ciascun contenitore, imbustati in sacchetti sterili da *Stomacher*, sono stati consegnati al laboratorio di Idrolab Consult.

Quinto e sesto campionamento

Il 19 ottobre 2021 è stato effettuato nel corso della stessa bordata di pesca il campionamento di Gambero rosa (*Parapenaeus longirostris*) e di Gambero Rosso (*Aristaeomorpha foliacea*) con il "Nuova Madonna delle Grazie" (00TP01406), motopesca della marineria di Trapani che opera con la rete a strascico.

Come per gli altri campionamenti, il ghiaccio **CI** è stato prelevato a Mazara del Vallo appena prodotto (temperatura di -3,5 °C) e portato a bordo in contenitori termici utilizzando un furgone frigorifero; il **FI** è stato invece prodotto direttamente dalla macchina per il ghiaccio presente a bordo del motopesca.

Per questo campionamento il **CI** non è stato trasportato utilizzando i freezer portatili, e al momento dell'utilizzazione si presentava più acquoso, ma conservava l'aspetto cremoso.

Per queste due specie di gamberi si è tornati al campionamento con soli due trattamenti, quello che prevede mattazione e conservazione con **CI** e quello con mattazione e conservazione con **FI**.

È stato campionato prima il Gambero rosa. baiando i due mastelli separati le medesime quantità di gambero, utilizzando il **CI** in uno, il **FI** nel secondo, con un rapporto gambero-ghiaccio di 1:1.

In alcuni gamberi è stata registrata la variazione di temperatura al core, tramite termometro digitale, durante la baiatura. La sonda ad immersione è stata inserita nel muscolo dorsale dalla parte inferiore del carapace, per monitorare la variazione della temperatura interna.

La stessa procedura è stata seguita per il successivo campionamento di Gambero rosso.



Entrambe le specie sono stati incassettate a bordo prima dello sbarco. Per ciascuna specie sono stati preparati:

- n° 6+6 contenitori in polipropilene richiudibili con gambero baiato con **CI**, ulteriormente ricoperti con **CI**;
- n° 6+6 contenitori in polipropilene richiudibili con gambero baiato con **FI**, ulteriormente ricoperti con **FI** fresco.

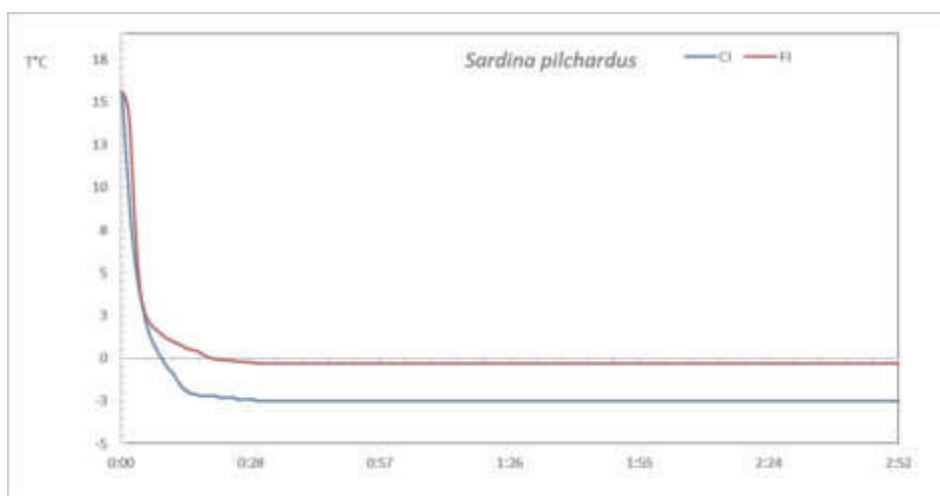
Ognuno dei 6 contenitori e la sua replica sono stati inseriti in una cassetta di polistirolo contenente la tipologia di ghiaccio corrispondente. Tutte le cassette di polistirolo confezionate come descritto, sono state trasportate con furgone frigorifero e poi conservate a Marsala in due celle frigorifere cella a -1,5 °C per i campioni in **CI** e a 0 °C per i campioni in **FI**.

Periodicamente veniva eliminata l'acqua che si raccoglieva sul fondo del contenitore per lo scioglimento del ghiaccio e aggiunto **CI** o **FI** a seconda del trattamento.

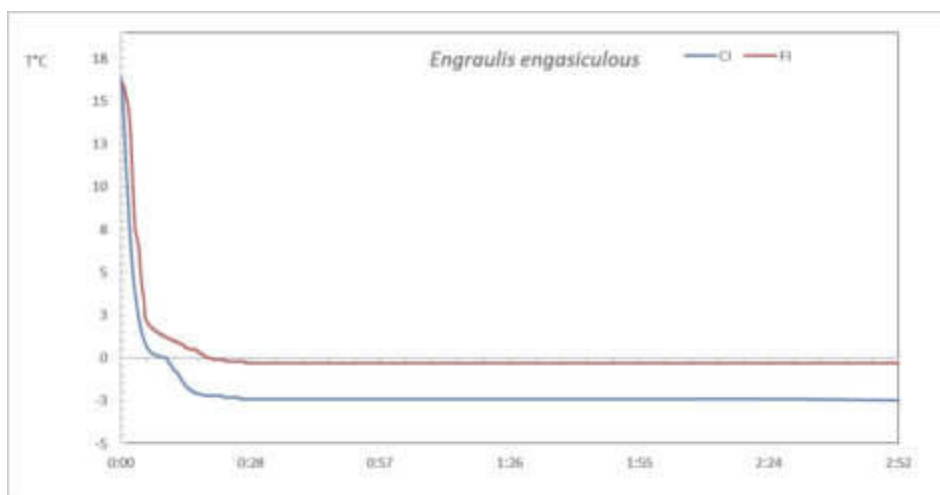
Come da protocollo, nei giorni previsti si è proceduto alla consegna delle cassette all'Istituto di Biologia Marina di Trapani per le analisi previste per ognuno dei tempi previsti (T1, T3, T5, T7, T9, T12) per la valutazione della *shelf life* e alla consegna di due esemplari di ciascuna specie di gambero da ciascun contenitore, imbustati in sacchetti sterili da *Stomacher* e consegnati al laboratorio di Idrolab Consult per le analisi microbiologiche previste.

Trapani, 17 novembre 2021

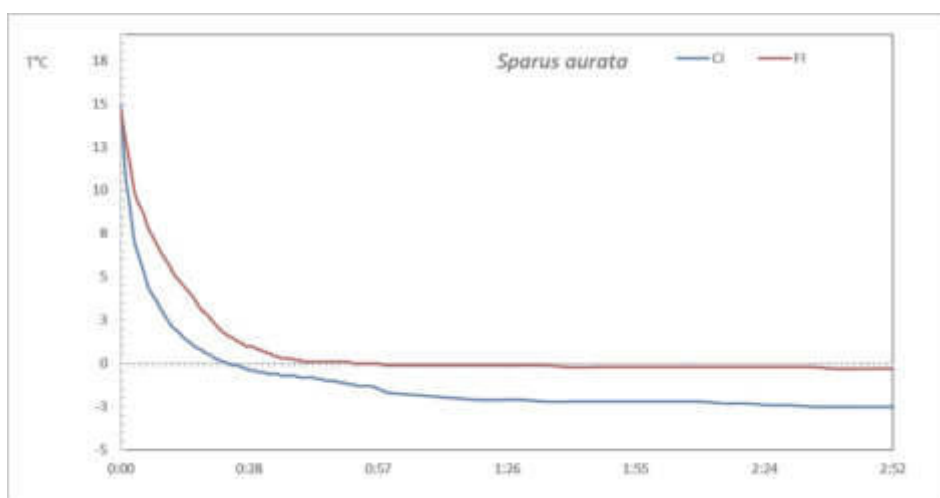
Dott. Francesco Bertolino
(Bio&Tec Soc. Coop.)



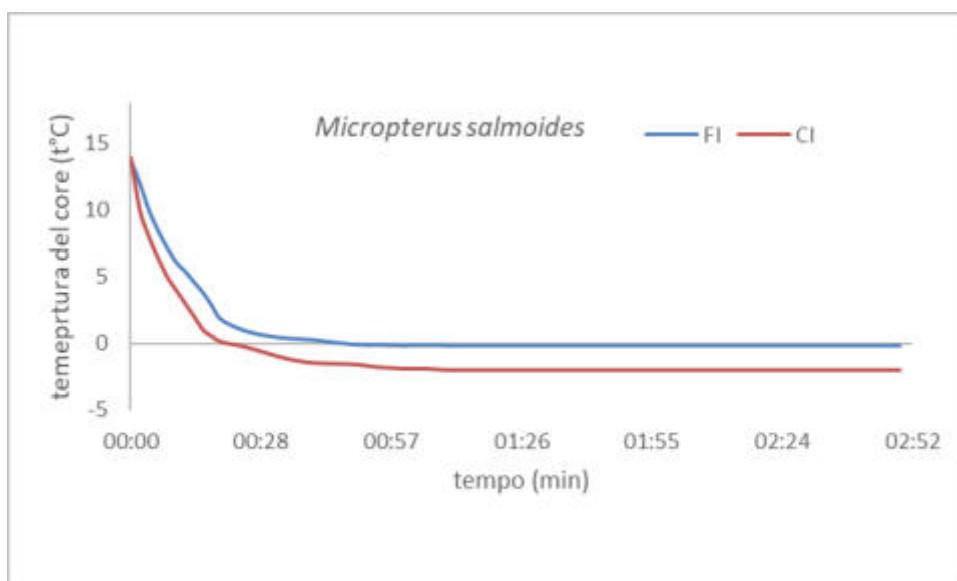
Variazione della temperatura al core in Sardine baiate con *Creamy Ice* e con *Flake Ice*.



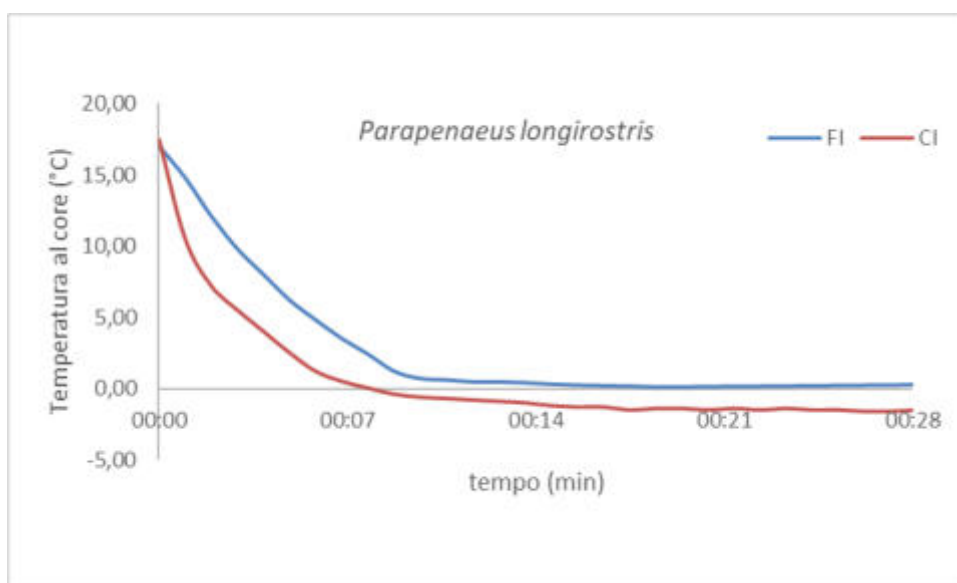
Variazione della temperatura al core in Acciughe baiate con *Creamy Ice* e con *Flake Ice*.



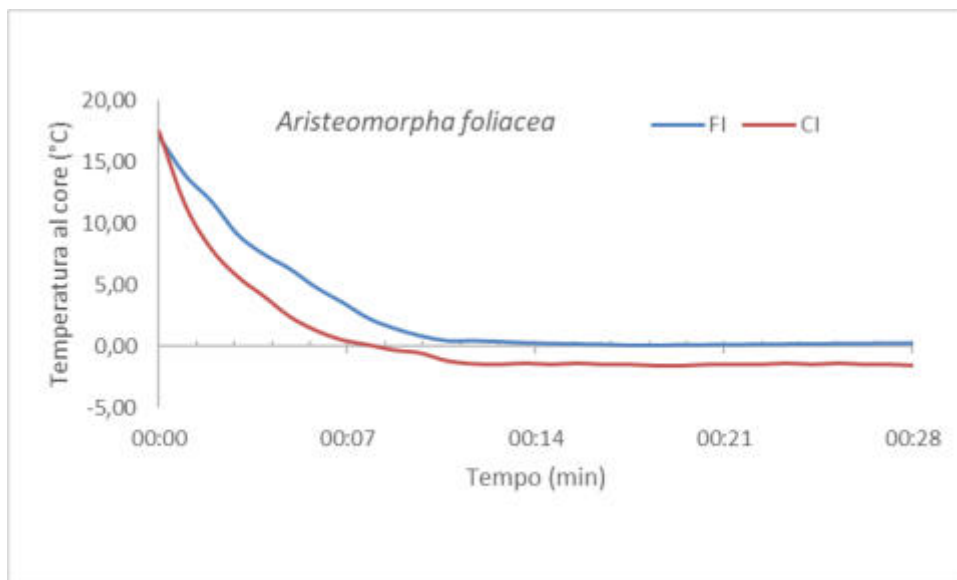
Variazione della temperatura al core in Orate baiate con *Creamy Ice* e con *Flake Ice*.



Variazione della temperatura al core in Persico trota baiati con *Creamy Ice* e con *Flake Ice*.



Variazione della temperatura al core in Gamberi rosa baiati con *Creamy Ice* e con *Flake Ice*.



Variazione della temperatura corporea in Gamberi Rossi baiati con *Creamy Ice* e con *Flake Ice*.



Alcune immagini del campionamento della Sardina (*Sardina pilchardus*).



Alcune immagini del campionamento dell'Acciuga (*Engraulis encrasicolus*).



Alcune immagini del campionamento dell'Orata (*Sparus aurata*).



Alcune immagini del campionamento del Persico trota (*Micropterus salmoides*).



Alcune immagini del campionamento del Gambero rosa (*Parapenaeus longirostris*).



Alcune immagini del campionamento del Gambero rosso (*Aristaeomorpha foliacea*).