

# **REPORT SULLA SPERIMENTAZIONE INDUSTRIALE DI INATTIVAZIONE DI LARVE DI ANISAKIS IN PRODOTTI ITTICI SALATI**

**Andrea Lo Voi<sup>1</sup>, Giorgio Smaldone<sup>2</sup>, Domenico Mazzeo<sup>3</sup>, Domenico Cacace<sup>1</sup>, Aniello Anastasio<sup>2</sup>**

**1 Stazione Sperimentale Industria Conserve Alimentari, Parma**

**2 Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli “Federico II”**

**3 ZAROTTI S.p.A., S. Lazzaro (PR)**

## **INTRODUZIONE**

L’infestazione dei prodotti ittici, soprattutto salati e marinati, da parte dei parassiti (in particolare Anisakis) sta diventando una delle emergenze più sentite dalle aziende, come testimoniato dalle numerose richieste di assistenza giunte alla SSICA. Per tenere sotto controllo il fenomeno, il Reg. CE 853/04 impone la bonifica mediante congelamento per 24 ore a -20 °C h per i “prodotti della pesca marinati e/o salati se il trattamento praticato non garantisce la distruzione delle larve di nematodi”, ma non esiste nessuna disposizione normativa che chiarisca quale sia il trattamento di sicurezza.

Per questo motivo, il Reparto Ittico della Stazione Sperimentale per l’Industria delle Conserve Alimentari (SSICA), in collaborazione con la Facoltà di Medicina Veterinaria dell’Università di Napoli “Federico II” e con l’Azienda Zarotti S.p.A. (S. Lazzaro – Parma) hanno avviato un progetto sperimentale su questo problema.

Scopo del progetto è stato valutare se le usuali condizioni di processo seguite nella preparazione di alici salate (in particolare concentrazione di sale e tempi di salagione) fossero atte ad inattivare le larve vitali di anisakidi presenti nella materia prima e quindi mettere in sicurezza il prodotto senza ricorrere al trattamento di bonifica, che risulta poco praticabile, soprattutto per le piccole e medie aziende, per questioni economiche e di qualità, nonché quello di esplorare eventuali metodi alternativi di inattivazione di tali larve.

La caratteristica originale e qualificante del progetto è quella di effettuare analisi chimiche (SSICA) e parassitologiche (Università di Napoli – Facoltà di Medicina Veterinaria) e incrociarne i dati non su matrici da laboratorio ma su prodotto - infestato da larve vitali di Anisakis - sottoposto ad un normale processo produttivo industriale (Zarotti).

## PARTE SPERIMENTALE

Il giorno 13/06/12, 17 cassette di alici (circa 153 kg), pescate il giorno 12/06/12 nel Mare Adriatico - zona di Pescara - e trasportate presso il mercato ittico all'ingrosso di Salerno con automezzo refrigerato, sono state prelevate e trasportate presso lo stabilimento di S. Marco di Castellabate dell'azienda Zarotti, dove sono state scaricate alle 7:45, a meno di 24 h dalla pesca.

Dopo lo scarico, si è proceduto al prelievo di un'aliquota (500 alici – circa 7 kg – 5% del totale) per le analisi chimiche della materia prima e per gli studi di prevalenza di anisakidi e si è successivamente proceduto ad una rapida salatura delle alici tal quali, non decapitate, in modo da evitare l'eviscerazione e quindi l'asportazione dei parassiti presenti in cavità celomatica.

La salagione è stata eseguita con 100 kg di sale fino (rapporto 3:2 alici/sale) ponendo su un tavolo da lavoro le alici ed il sale e mescolando il tutto secondo le usuali tecniche utilizzate dall'azienda.

Il prodotto è stato poi posto in 10 fusti di plastica da 20 litri con peso riportato di seguito (kg):

- 18.8
- 20.0
- 22.8
- 23.4
- 23.8
- 23.8
- 23.2
- 23.8
- 24.4
- 16.8

Una volta riempiti, i fusti sono stati posti su una pedana in un locale a temperatura controllata di 25°C.

Ogni fusto è stato pressato singolarmente con un peso di 25 kg e, per i primi 5 giorni, ricoperto da una pedana con un peso di 100 kg.

Per la valutazione dell'azione del sale sull'inattivazione dei parassiti sono stati eseguiti, per 4 settimane a partire dal "tempo 0", campionamenti settimanali: ad ogni intervallo campionario sono state prelevate n. 65 alici salate (circa 1 kg) da un unico fusto, per non inficiare i prelievi successivi, a varie altezze (superficie, centro e fondo del fusto) ed esaminate per la valutazione dell'infestione e della vitalità dei parassiti e sottoposte ad analisi chimiche (pH, attività dell'acqua, contenuto di NaCl, più altre determinazioni di cui al momento non si riportano i risultati). Il campionamento per le analisi chimiche è poi proseguito, con cadenza meno frequente, fino a 90 gg di maturazione del prodotto.

Per la prova di prevalenza, 500 alici sono state trasportate presso il "Laboratorio di ricerca sul pescato" sito all'interno del mercato ittico all'ingrosso di Pozzuoli della Facoltà di Medicina

Veterinaria di Napoli "Federico II". Le 500 alici sono state misurate al fine di correlarne la lunghezza al grado di infestione.

Ogni alice veniva posta sul tavolo da lavoro ed eviscerata mantenendo i visceri vicino al corpo; i visceri venivano esaminati con l'ausilio di spatole e pinze al fine di evidenziare i parassiti presenti nel pacchetto viscerale o ancora presenti in cavità celomatica. Come ulteriore prova i singoli filetti venivano sottoposti alla prova della speratura.

La determinazione dell' $a_w$  è stata eseguita sul campione omogeneizzato mediante l'apparecchio Aqualab (Decagon). La misura del pH è stata effettuata utilizzando un pHmetro Crison MicroTT 2022. Il contenuto di NaCl è stato determinato col metodo Volhard sull'estratto dei vari campioni.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

La lunghezza media delle alici esaminate è risultata pari a 13.98 cm; n. 322 alici su 500 analizzate sono risultate infestate e sono stati rinvenute n. 888 larve di anisakidi tutte vive e vitali e la media di infestione è risultata pari a 1.77 anisakidi / alice.

La prevalenza [ $n. \text{ infetti} / (n. \text{ infetti} + n. \text{ soggetti potenzialmente infetti})$ ] di infestione è risultata pari al 64.4%.

In basso è riportata la tabella relativa al grado di infestione in relazione alle categorie di lunghezza delle alici.

Lunghezza (cm)	12-12.9	13-13.9	14-14.9	15-15.9	16-16.9
N. alici	16	205	223	53	3
N. Anis.	12	291	384	170	31
Media Anis.	0.75	1.42	1.72	3.20	10.33
Preval. (%)	56.25	13.48	34.97	16.98	100

Come si evince dalla tabella i campioni maggiormente infestati appartengono alla categoria di lunghezza 16 -16.9 cm con oltre 10 parassiti/alice; si può notare inoltre la diretta correlazione tra la lunghezza del campione e la media di parassiti ritrovata: all'aumentare della taglia vi è un aumento esponenziale del numero di parassiti, come riportato in letteratura; E' tuttavia da considerare che la media di alici esaminate, e quindi quelle maggiormente utilizzate dall'azienda per la lavorazione, rientra nelle categorie di lunghezza 13 – 13.9 e 14 – 14.9 con una media di parassiti/alice rispettivamente di 1.41 ed 1.72.

Le larve presenti sono state localizzate in prevalenza verso le parti craniali del prodotto salato. Le alici salate poste sul fondo del fusto presentavano una minore percentuale di infestione probabilmente dovuta all'azione meccanica del peso posto sul fusto che provocava la fuoriuscita dei visceri e, di conseguenza, dei parassiti.

Una volta isolate le larve, che ad una prima analisi sembravano disvitali, sono state immerse in una piastra Petri con soluzione fisiologica a 37 °C per valutarne l'eventuale vitalità, ma già a partire dalla seconda settimana di salagione i nematodi non risultavano vitali. La valutazione è stata eseguita fino a 30 giorni dalla salagione, ma le larve sono comunque risultate non vitali.

Di seguito è riportata la tabella con i risultati delle analisi chimiche ( $a_w$ , pH, NaCl %) eseguite sui campioni di alici al "tempo 0" e prelevate settimanalmente per durante le prime 4 settimane di maturazione sotto sale.

	<b>0</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>28</b>
<b><math>a_w</math></b>	0.986	0.740	0.740	0.739	0.732
<b>pH</b>	6.18	5.69	5.63	5.58	5.55
<b>NaCl %</b>	0.6	18.0	20.4	22.8	24.5

Come si può notare, i valori di pH e  $a_w$  riscontrati dopo una settimana di salagione si mantengono sostanzialmente invariati fino ai campioni prelevati dopo 4 settimane. Per quanto riguarda il contenuto di NaCl, già dopo 7 giorni raggiunge il valore del 18%, ritenuto di sicurezza dal punto di vista microbiologico in letteratura e aumenta gradatamente nelle settimane successive fino a superare il 24% dopo 4 settimane.

L'incrocio tra i dati parassitologici e chimici permette di concludere che un valore di  $a_w$  attorno a 0.75, raggiunto in particolare grazie ad un contenuto di NaCl nei tessuti delle alici pari a 18-20%, valore ottenuto dopo circa due settimane di salagione effettuata secondo le consolidate pratiche industriali, è sufficiente ad inattivare totalmente le larve di Anisakis, nonostante la loro massiccia presenza nella materia prima.