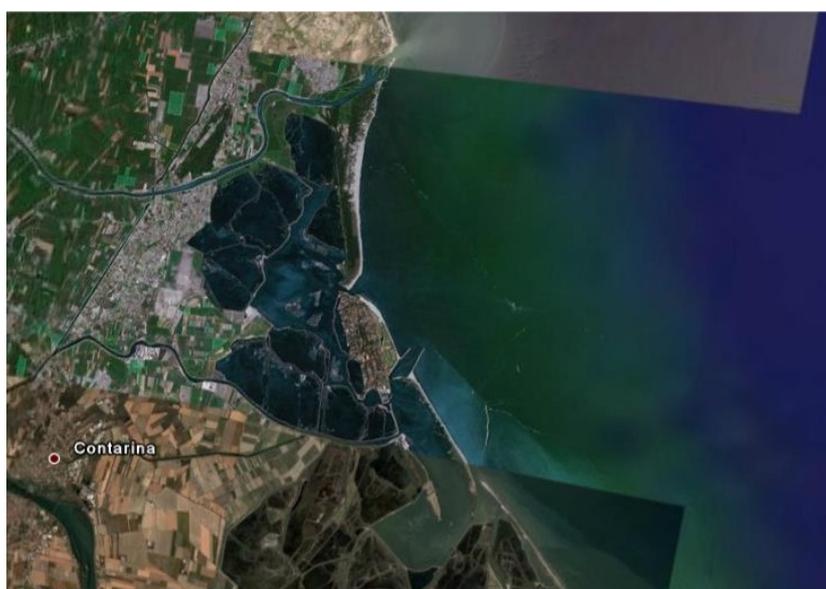




VALORIZZAZIONE DELLA PRODUZIONE  
LOCALE DI VONGOLE VERACI ALLEVATE IN LAGUNA MEDIANTE  
L'ADOZIONE DI UN DISCIPLINARE DI PRODUZIONE  
FINALIZZATO ALL'ACQUISIZIONE DI UN MARCHIO DI QUALITÀ

## Relazione Finale



Realizzato da:



M.A.R.E. Soc. Coop. a r.l.

Via E. Toti, 2 - 47041 Cattolica (RN)

Tel. 0541.830442 - fax 0541.830460

[www.coopmare.com](http://www.coopmare.com)

[mare@coopmare.com](mailto:mare@coopmare.com)

Responsabile Scientifico

*D.ssa Giuliana Giulini*

Cattolica (RN) - Giugno 2006



Regione del Veneto  
DOCUP 2000/2006 – SFOP 2004  
Progetto n. 12/PM/2004

## Indice generale

1.0	Introduzione.....	1
1.1	Inquadramento generale .....	1
1.2	Intendimenti.....	2
1.1.1	Obiettivi generali .....	2
1.1.2	Obiettivi specifici .....	2
1.3	Riassunto del progetto: fasi, tempi, modifiche in corso d'opera.....	3
2.0	Materiali e metodi.....	4
2.1	Indagine conoscitiva .....	4
2.1.1	Caratterizzazione del sito.....	4
2.1.2	Attività produttive .....	6
2.1.3	Indagine di mercato .....	6
2.2	Prodotto allevato - Caratterizzazione qualitativa vongole veraci.....	8
2.2.1	Modalità di campionamento .....	8
2.2.2	Rilevazione e registrazione temperature.....	9
2.2.3	Preparazione campioni .....	9
2.3	caratterizzazione del campione in termini analitici .....	9
2.3.1	Analisi merceologiche .....	10
2.3.2	Analisi chimico - nutrizionali .....	11
2.3.3	Analisi microbiologiche .....	15
2.3.4	Analisi biometriche .....	20
2.4	Trattamento dei dati.....	20
2.5	Definizione di protocolli operativi e di qualità.....	20
2.6	Definizione del percorso di certificazione.....	20
3.0	Risultati.....	22
3.1	Indagine conoscitiva .....	22
3.1.1	Caratterizzazione del sito.....	22
3.2	Prodotto allevato - Caratterizzazione qualitativa vongole veraci.....	25
3.2.1	Rilevazione e registrazione temperature.....	25
3.2.2	Analisi merceologiche .....	30
3.2.3	Analisi nutrizionali .....	34
3.2.4	Analisi microbiologiche .....	39
3.2.5	Analisi biometriche .....	47
3.2.6	Indagine di mercato .....	54
3.3	Definizione di protocolli operativi e di qualità delle vongole veraci allevate in laguna .....	54
3.4	Definizione di un percorso di certificazione per il prodotto del Consorzio Al.m.e.ca. ....	54
4.0	Discussione.....	56
4.1	Caratterizzazione del sito.....	56
4.2	Produzione .....	56
4.3	Certificazione di prodotto .....	57
4.4	Indagini merceologiche effettuate sul prodotto.....	58
4.5	Caratterizzazione nutrizionale del prodotto.....	58
4.6	Indagini microbiologiche effettuate sul prodotto .....	58
5.0	Conclusioni.....	58
6.0	Bibliografia.....	60

## Indice delle tabelle

Tabella 1- Enti contattati per raccolta dati storici zone produzione .....	5
Tabella 2 - Date campionamento e località campionate .....	8
Tabella 3 - Parametri analitici ricercati nei campioni di <i>Tapes philippinarum</i> .....	10
Tabella 4 – Dati idrologici relativi al 2004 (dati ARPAV).....	24
Tabella 5 – Dati idrologici relativi al 2005 (dati ARPAV).....	24
Tabella 6 – Controlli microbiologici su molluschi nel periodo 2002-2005 – (fonte ASL).....	25
Tabella 10- Valori medi (medie geometriche) resa in carne e contenuto in sabbia delle vongole prima e dopo il processo depurativo, relativamente ai mesi di campionamento .....	30
Tabella 11 - Analisi della significatività delle differenze tra valori dei parametri merceologici nel prodotto depurato e non depurato mediante test U di Mann Whitney .....	33
Tabella 12- Valori medi (medie geometriche) dei parametri nutrizionali delle vongole, relativamente ai mesi di campionamento .....	34
Tabella 13- Valori medi (medie geometriche) dei parametri microbiologici delle vongole, prima e dopo il processo depurativo, relativamente ai mesi di campionamento .....	39
Tabella 14- Analisi della significatività delle differenze tra valori dei parametri microbiologici nel prodotto depurato e non depurato mediante test U di Mann Whitney .....	47
Tabella 15- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel periodo in considerazione, espressa in mm. ....	47

## Indice delle figure

Figura 1 – Localizzazione della Laguna di Caleri e Laguna di Marinetta .....	22
Figura 2 – Frequenza della provenienza del vento- periodo 2000-2005 (dati ARPAV).....	23
Figura 3 – Media della forza del vento (km/h) – periodo 2000-2005 (dati ARPAV).....	23
Figura 4 – Distribuzione percentuale della piovosità - media sul periodo 2000-2005 .....	24
Figura 5 – Temperature rilevate sui campioni oggetto di analisi nel periodo 12 e 13-09-2005 .....	26
Figura 6 – Temperature rilevate sui campioni oggetto di analisi nel periodo 17 e 18-10-2005 .....	27
Figura 7 – Temperature rilevate sui campioni oggetto di analisi nel periodo 07 e 08-11-2005 .....	28
Figura 8 – Temperature rilevate sui campioni oggetto di analisi nel periodo 13 e 14-12-2005 .....	29
Figura 9 – Temperature rilevate sui campioni oggetto di analisi nel periodo 11 e 12-01-2006 .....	30
Figura 5- Resa alimentare nelle vongole, depurate e non depurate, nel periodo in considerazione, espressa come % del contenuto in carne.....	32
Figura 6- Quantità di sabbia presente nei molluschi, sia depurati che non depurati, nel periodo in considerazione, espressa in g/1000 g.....	33
Figura 7- Quantità di proteine rilevate nei molluschi nel periodo in considerazione, espressa in %.....	35
Figura 8- Quantità di lipidi rilevati nei molluschi nel periodo in considerazione, espressa in %.....	36
Figura 9- Umidità rilevata nei molluschi nel periodo in considerazione, espressa in %.....	37
Figura 10- Quantitativo di ceneri rilevato nei molluschi nel periodo in considerazione, espresso in %.....	38
Figura 11- Quantitativo di carboidrati rilevato nei molluschi nel periodo in considerazione, espresso in %.....	39
Figura 12- Andamento nel tempo del conteggio di Escherichia Coli, prima e dopo il processo depurativo, espresso in MPN su 100 g di vongole.....	41
Figura 13- Andamento nel tempo del conteggio dei Coliformi fecali, prima e dopo il processo depurativo, espresso in MPN su 100 g di vongole.....	42
Figura 14- Andamento nel tempo del conteggio degli Enterococchi, prima e dopo il processo depurativo, espresso in u.f.c. su g di vongole.....	44
Figura 15- Andamento nel tempo del conteggio dei Germi mesofili aerobi, prima e dopo il processo depurativo, espresso in u.f.c. su g di vongole.....	45
Figura 16- Andamento nel tempo del conteggio dei Germi aerobi a 20°C, prima e dopo il processo depurativo, espresso in u.f.c. su g di vongole.....	46
Figura 17- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nell'intero periodo in considerazione, espressa in mm.....	48
Figura 18- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di giugno 2005, espressa in mm.....	49
Figura 19- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di luglio 2005, espressa in mm.....	49
Figura 20- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di agosto 2005, espressa in mm.....	50
Figura 21- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di settembre 2005, espressa in mm.....	50

Figura 22- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di ottobre 2005, espressa in mm.....	51
Figura 23- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di novembre 2005, espressa in mm.....	51
Figura 24- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di dicembre 2005, espressa in mm.....	52
Figura 25- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di gennaio 2005, espressa in mm.....	52

**Allegato: DISCIPLINARE PER LA CERTIFICAZIONE VOLONTARIA DI PRODOTTO E SISTEMA DI RINTRACCIABILITA' DI FILIERA [DTP 01]**

## Elenco dei collaboratori

COGNOME E NOME	ENTE DI APPARTENENZA
Giuliana Giulini	M.A.R.E. scarl
Mirko Maffei	M.A.R.E. scarl
Maura Pasini	M.A.R.E. scarl
Ettore Iacovitti	SERINT Group
Emanuele Rossetti	Consorzio Cooperative Pescatori del Polesine
Luigino Pelà	Europroject Consulting srl
Elena Giuliani	

Si ringraziano per la preziosa collaborazione:

Boscolo Alberto, Siviero Alessandra e Zago Paolo – presidente, vicepresidente e responsabile produzione del Consorzio AL.M.E.C.A. di Rosolina (RO);

I pescatori del Consorzio AL.M.E.C.A. di Rosolina (RO);

Fumelli Piergiorgio, veterinario libero professionista;

Greguoldo Simona, responsabile del trasferimento campioni.

## **1.0 INTRODUZIONE**

### ***1.1 Inquadramento generale***

La globalizzazione mette il settore ittico nazionale di fronte alla concorrenza dei paesi esteri, troppo spesso basata esclusivamente sul prezzo, sottoponendo i consumatori al rischio di standardizzazione ed anonimato del prodotto. Tale situazione impone ai produttori di alcune specie di prodotti ittici di pesca e/o allevamento di misurarsi sulla valorizzazione delle produzioni in termini di qualità, freschezza, caratteristiche organolettiche, non limitandosi all'adeguamento ai requisiti minimi di qualità internazionalmente riconosciuti e richiesti per legge.

L'andamento dei consumi d'altra parte, rivela una maggiore attenzione per la qualità e l'origine: nel 2000 la domanda interna di prodotti ittici ha attraversato una fase di stasi ed il consumo pro-capite è sceso a 21.5 Kg, a fronte dei 22 Kg registrati per tutta la seconda metà degli anni novanta. Probabilmente, l'andamento dei consumi è stato influenzato dal rallentamento dell'economia italiana e da una crescente sensibilità del consumatore al tema della sicurezza alimentare (Ismea, settembre 2002).

Il timore delle contaminazioni e dei residui tossici negli alimenti, e anche delle frodi, determina sempre più la ricerca di prodotti garantiti; in questo scenario, per stimolare il mercato, appare fondamentale puntare sul concetto di "qualità", ottenendo così una maggiore valorizzazione del prodotto ittico, e ciò vale in particolare per i molluschi bivalvi, in quanto particolarmente sensibili alle variazioni dello status fisico, chimico e microbiologico delle zone di produzione, e soggetti, per alcune specie, ad intenso sfruttamento.

Per tali specie è particolarmente importante poter definire le caratteristiche microbiologiche iniziali, sia quando provengono da zone classificate come A, in quanto destinate al consumo umano diretto, sia quando provengono da zone classificate come B, perché in questo caso il prodotto deve essere sottoposto a trattamenti di risanamento, il cui esito dipende principalmente dalla carica microbica iniziale.

Al ruolo del produttore si affianca in questa filiera quello del Centro di Depurazione Molluschi (CDM), per il prodotto di zona B, e quello del Centro di Spedizione (CSM), che può essere annesso al CDM, in cui avviene il confezionamento e l'apposizione della marchiatura d'identificazione (così chiamata dai Regolamenti che costituiscono il "pacchetto igiene" e che sostituiscono la normativa comunitaria introdotta negli anni '90): ad essi spetta principalmente la responsabilità del prodotto immesso sul mercato e la gestione di un altro punto focale per la sicurezza delle produzioni molluschicole e per una corretta informazione al consumatore: la tracciabilità dei lotti di produzione.

L'identità e la provenienza degli animali devono essere mantenute dal momento della raccolta fino alla fase del confezionamento finalizzato alla vendita al pubblico, fase in cui le informazioni vengono trasferite definitivamente sull'etichetta e quindi rese note al consumatore.

Il presente progetto prende in considerazione la possibilità di qualificare le vongole veraci provenienti dall'acquacoltura locale, tramite la messa in atto di un Sistema di Certificazione di prodotto e di filiera ai sensi della norma UNI 10939:2001, che comporta l'adozione di un disciplinare di produzione applicato al sistema di raccolta, alle modalità di trattamento del prodotto a bordo, alle fasi di trasporto, depurazione e confezionamento.

Ciò al fine di acquisire un marchio di qualità legato alle produzioni locali.

## 1.2 *Intendimenti*

### 1.1.1 *Obiettivi generali*

All'interno del quadro delle produzioni conchifere stimate (anno 1999), quella della *Tapes* ammonta a 617.900 quintali, di cui 400.000 (64,7%) attribuibili all'area della sola Laguna di Venezia, mentre il restante 35,3% è ripartito tra Grado (2,4%), Caorle (0,1%), Barbamarco-Basson-Canarin-Scardovari (15,6%), Caleri-Marinetta-Vallona (4,9%), Goro (10,8%), Comacchio-Ravenna-Pialassa (1,5%).

Riassumendo i precedenti dati per Regione si ha che il Friuli Venezia Giulia partecipa alla produzione di *Tapes* per il 2,4%, l'Emilia Romagna per il 12,5% ed il Veneto per il restante 75,1% di cui ben il 64,7% proveniente dalla Laguna di Venezia (Rossi et al., settembre 2000).

In assenza di significativi aumenti delle produzioni, la ricerca della qualità di prodotto costituisce il principale elemento capace di apportare benefici economici in termini di valore aggiunto, consentendo un miglior prezzo medio alla produzione e quindi sostenendo il reddito dei produttori. Ciò rende necessari la promozione ed il consolidamento di iniziative che abbiano come scopo la valorizzazione delle produzioni interne, ottenuta con il raggiungimento di elevati standard qualitativi.

La necessità inoltre di garantire al consumatore la salubrità ed alcuni requisiti qualitativi, legati soprattutto alla resa ed alle caratteristiche organolettiche e nutrizionali, impone un controllo costante delle zone di produzione ed una conoscenza approfondita della biologia e del comportamento delle specie in relazione alla variabilità ambientale.

Le informazioni risultanti dalle attività e dalle indagini realizzate nel presente progetto potranno costituire un importante supporto per l'allevatore, sia in ordine alle scelte gestionali da effettuare per mantenere elevati standard di qualità dei prodotti, sia riguardo al rapporto con gli organi di controllo delegati alla classificazione ed al monitoraggio delle zone di produzione; infatti sempre maggiore risulta essere il coinvolgimento diretto delle organizzazioni di produttori, sia di pesca che di acquacoltura, nella gestione delle risorse e nelle iniziative volte alla loro valorizzazione.

Il disciplinare implementato, ottenuto partendo dall'analisi della situazione esistente sul territorio, e comprendente sia una caratterizzazione di *Tapes philippinarum* nelle aree oggetto d'indagine, sia un profilo del prodotto sottoposto al processo di depurazione, potrà essere utilizzato dai produttori, ed in primo luogo dagli oltre 200 addetti coinvolti nelle attività di settore locali, che potranno così usufruire dei benefici attesi dalla ricerca.

La Regione stessa potrà utilizzare il disciplinare e l'esperienza acquisita dalla sua applicazione per intraprendere un percorso di marchio di qualità delle proprie produzioni molluschiole.

### 1.1.2 *Obiettivi specifici*

Il presente progetto si è prefisso di :

- Caratterizzare dal punto di vista microbiologico (relativamente ai parametri definiti per legge ed a quelli ritenuti significativi nel qualificare il prodotto), merceologico (presenza di sabbia o fango, resa in carne), nutrizionale e biometrico (distribuzione di frequenza delle lunghezze) le vongole allevate localmente, al fine di definire il profilo risultante della specie nel disciplinare di produzione;
- verificare la possibilità di collaborazioni con istituti e organizzazioni che raccolgano dati ambientali e relativi alla specie nelle zone oggetto d'indagine;

- raccogliere informazioni sul trattamento del prodotto in fase di raccolta, stoccaggio a bordo, trasporto, depurazione e confezionamento, tramite la predisposizione di apposite liste di riscontro;
- realizzare un disciplinare di produzione relativo alle fasi sopra indicate;
- applicare in via sperimentale ad una realtà locale il disciplinare messo a punto, comprendendo le fasi previste, ed analizzare le eventuali problematiche emerse;
- mettere in atto un Sistema di Certificazione di prodotto e di filiera per le produzioni locali ed i soggetti coinvolti nella sperimentazione, finalizzato all'acquisizione di un marchio di qualità.

### ***1.3 Riassunto del progetto: fasi, tempi, modifiche in corso d'opera***

L'indagine si è svolta presso alcuni allevamenti di vongole veraci presenti nelle lagune di Caleri e Marinetta, tra i fiumi Adige e Po, in concessione alle cooperative socie del Consorzio AL.M.E.C.A. – Allevatori e Pescatori del Parco del Delta, ed è stata realizzata con il coinvolgimento del suddetto Consorzio, che occupa circa 50 – 60 addetti, e del CDM – CSM del Consorzio Cooperative Pescatori del Polesine.

Lo svolgimento del progetto ha previsto:

- Raccolta di serie storiche di dati fisico-chimici, meteo-marini, atmosferici e microbiologici che interessano l'area di ubicazione delle zone di produzione identificate, sulla base delle informazioni ottenibili dalle fonti disponibili, per una caratterizzazione dell'area di studio;
- Predisposizione di liste di riscontro per la definizione delle varie attività coinvolte nel processo che va dalla raccolta al confezionamento del prodotto; tali check list, nella fase iniziale della sperimentazione, possono favorire l'elaborazione di un disciplinare adeguato, mentre nella fase successiva di messa in atto di un Sistema di Certificazione verranno utilizzate nella valutazione della congruità delle imbarcazioni, delle attrezzature e degli impianti di depurazione al disciplinare proposto;
- Valutazione delle variazioni di temperatura nel tempo del prodotto mediante l'utilizzo di data-logger;
- Determinazioni analitiche sui molluschi comprendenti: analisi biometriche, merceologiche, nutrizionali e microbiologiche;
- Elaborazione dei dati ottenuti dalla fase sperimentale e dalle fonti informative e conseguente definizione di: caratteristiche certificabili di prodotto; disciplinare di produzione, applicabile alle fasi di raccolta, stoccaggio a bordo, trasporto, depurazione e confezionamento; sistema di tracciabilità di filiera;
- Applicazione sperimentale del disciplinare alla filiera, nelle fasi sopra indicate, coinvolgendo un gruppo di produttori, un CDM e un CSM del circuito commerciale esistente per il prodotto locale;
- Realizzazione di un Sistema di Certificazione di prodotto per le produzioni locali, e di un Sistema di Certificazione di filiera, ai sensi della norma UNI 10939:2001, per i soggetti inseriti nella sperimentazione, con il coinvolgimento di un Istituto di Certificazione e di una Società di consulenti d'impresa.

La ricerca ha avuto inizio **ufficialmente** il 03 febbraio 2005; per le attività programmate, di seguito descritte, si era previsto un cronogramma di 12 mesi ed una articolazione in tre fasi:

**I Fase – 8 mesi:**

- Predisposizione liste di riscontro per la definizione delle attività connesse con le fasi di raccolta, stoccaggio a bordo, trasporto, depurazione e confezionamento;
- selezione delle imbarcazioni idonee al progetto;
- accordi con gli enti competenti operanti sul territorio (ARPAV, A.U.S.L., ecc.) per l'acquisizione di dati chimico-fisici, ambientali e microbiologici che interessano le zone di produzione oggetto d'indagine e di dati microbiologici e chimici sulla specie vongola verace;
- definizione del circuito commerciale locale tramite interviste presso gli operatori;
- verifica attività di raccolta, stoccaggio, trasporto, depurazione e confezionamento tramite liste di riscontro;
- prelievo periodico di campioni;
- analisi di laboratorio sui molluschi (biometriche, merceologiche, nutrizionali e microbiologiche e contenuto in sabbia);
- rilevazione e registrazione periodica temperatura prodotto durante le fasi di raccolta, stoccaggio, trasporto, depurazione e confezionamento.

#### **II Fase - 2 mesi:**

- Analisi ed elaborazione dati acquisiti;
- realizzazione del disciplinare di produzione, applicabile alle fasi di raccolta, stoccaggio a bordo, trasporto, depurazione e confezionamento.

#### **III Fase - 2 mesi:**

- Formazione degli addetti alla gestione della produzione secondo principi di qualità;
- Applicazione sperimentale del disciplinare alla filiera;
- Realizzazione del Sistema di Certificazione di prodotto e di filiera;
- Audit effettuato da personale dell'Ente terzo incaricato della certificazione;
- stesura degli elaborati finali.

Il programma ha subito alcune modifiche rispetto ai tempi di esecuzione. Si è avuto uno slittamento di due mesi rispetto al periodo d'inizio, dovuto alla necessità di rimodulare le attività previste sulla base del contributo concesso, e un ulteriore prolungamento della III Fase di ulteriori due mesi, dovuto ai tempi tecnici di applicazione sperimentale del disciplinare richiesti prima dell'audit, applicazione che si è dovuta sospendere per più di un mese a causa della interruzione della raccolta di prodotto in laguna.

## **2.0 MATERIALI E METODI**

### **2.1 Indagine conoscitiva**

#### *2.1.1 Caratterizzazione del sito*

Nell'ambito del presente progetto, con lo scopo principale di evidenziare eventuali correlazioni tra lo stato ambientale e le principali caratteristiche qualitative del prodotto allevato, è stata effettuata una indagine rivolta ad acquisire informazioni caratterizzanti le lagune di Caleri e Marinetta, comprese tra i fiumi Adige e Po di Levante, con le seguenti modalità:

- Raccolta di serie storiche di dati chimico-fisici, meteo-marini, atmosferici e microbiologici relative all'area di insediamento delle zone di produzione identificate (dal 2000 ad oggi), valutando tutte le fonti disponibili;
- Raccolta, con gli stessi criteri, di serie storiche di dati microbiologici e chimici sul prodotto delle zone indagate;

Tra Dicembre 2005 e Marzo 2006, dal consorzio AL.ME.C.A o da Lega Pesca (associazione di categoria a cui il consorzio aderisce), sono stati contattati i seguenti enti:

- A.R.P.A.Veneto (azienda che si occupa di ambiente e salute, educazione per la sostenibilità, EMAS, impatto ambientale, prevenzione industriale, qualità, sicurezza impiantistica attraverso analisi dei rischi sanitari, educazione ambientale, promozione della certificazione ambientale delle imprese, supporto a enti pubblici nelle valutazioni di impatto ambientale, supporto nell'approvazione di progetti riguardanti il rischio industriale e tecnologico, sviluppo del sistema di qualità dell'agenzia e verifiche di funzionalità di impianti in ambienti di lavoro)
- Servizio Veterinario Regione Veneto e ASL n°19 di Adria
- Genio Civile della Provincia di Rovigo;
- Consorzio di Bonifica;
- Magistrato per il Po, con sede a Parma;
- AIPO di Rovigo, (ente che si occupa della progettazione ed esecuzione degli interventi sulle opere idrauliche di prima, seconda e terza categoria sull'intero bacino del Po; nonché dei compiti di Polizia Idraulica a Servizio di Piena sulle opere idrauliche di prima, seconda e terza categoria arginata);

A completamento di questa indagine è stata inoltre svolta una attenta ricerca delle informazioni riportate in vari siti internet presenti in rete.

E' stata svolta una ricerca dei dati storici disponibili negli ultimi cinque anni per la caratterizzazione ambientale dell'area, da porre in relazione con i dati microbiologici relativi agli stessi anni raccolti per le stesse zone di produzione, attraverso il contatto diretto con istituti e organizzazioni. In particolare sono stati contattati i seguenti Enti:

**Tabella 1- Enti contattati per raccolta dati storici zone produzione**

ENTE	TIPOLOGIA DATI	DISPONIBILI	
		SI	NO
AIPO	Flussi di portata Po di Tolle <i>non significativo per Caleri e Marinetta</i>	/	/
ARPAV	Dati meteo climatici	SI	
GENIO CIVILE	Flussi di portata Po di Levante		
SERVIZIO VETERINARIO REGIONE VENETO	Dati molluschi e acqua zone di produzione	SI	
AUSL DI ADRIA	Dati molluschi e acqua zone di produzione	SI	

Sono stati raccolti anche i dati disponibili presso il Consorzio Cooperative Pescatori del Polesine relativi al prodotto in ingresso proveniente dalle lagune, nel periodo 2004-2005.

E' stato inoltre effettuato il monitoraggio dei parametri microbiologici delle zone di produzione di Caleri e Marinetta mediante il prelievo mensile di molluschi nelle aree in concessione al Consorzio, per integrare i dati recenti relativi al sito.

### 2.1.2 Attività produttive

E' stata effettuata un'indagine allo scopo di verificare:

- le fasi e le modalità di allevamento;
- i sistemi, le modalità di raccolta, le fasi e pratiche di manipolazione del prodotto in laguna e a terra (selezione e cernita, lavaggio, confezionamento, trasporti, depurazione, confezionamento ed etichettatura);
- le pratiche di conservazione (catena del freddo);
- le condizioni igieniche generali degli ambienti di lavoro.

Le informazioni sono state raccolte attraverso interviste dirette con gli operatori e osservazioni periodiche sul campo.

### 2.1.3 Indagine di mercato

Per completare le informazioni sulla filiera commerciale, e indirizzare quindi in base alle indicazioni ottenute alcune specifiche del disciplinare, è stata inserita nella ricerca un'indagine di mercato su un campione di acquirenti dei prodotti locali.

Il campione è stato ricavato da una lista dei clienti del Consorzio AL.M.E.C.A. e del CDM – CSM del Consorzio Cooperative Pescatori del Polesine, attraverso il quale i produttori vendono parte del proprio raccolto.

L'indagine è stata svolta tramite intervista diretta con i commercianti, con l'ausilio di un questionario.

#### QUESTIONARIO - DEFINIZIONE CIRCUITO COMMERCIALE LOCALE vongole veraci

<b>1</b>	<b>Quanto è percentualmente il prodotto locale che commercializza rispetto al totale</b>		
<b>2</b>	<b>A quali categorie di clienti viene venduto il prodotto locale</b>	Altri grossisti	
		Dettaglianti	
		Ristoratori	
		Grande distribuzione	
<b>3</b>	<b>In che percentuale</b>	Altri grossisti	
		Dettaglianti	
		Ristoratori	
		Grande distribuzione	

<b>4</b>	<b>Quanto è percentualmente il prodotto locale che vende fuori regione</b>		
<b>5</b>	<b>A quali categorie</b>	Altri grossisti	
		Dettaglianti	
		Ristoratori	
		Grande distribuzione	
<b>6</b>	<b>In che percentuale</b>	Altri grossisti	
		Dettaglianti	
		Ristoratori	
		Grande distribuzione	

<b>7</b>	<b>Quanto è percentualmente il prodotto locale che vende all'estero</b>		
<b>8</b>	<b>A quali categorie</b>	Altri grossisti	
		Dettaglianti	
		Ristoratori	
		Grande distribuzione	
<b>9</b>	<b>In che percentuale</b>	Altri grossisti	
		Dettaglianti	
		Ristoratori	
		Grande distribuzione	

<b>Intervistato</b>	
<b>Intervistatore</b>	

<b>Data</b>	
-------------	--

## 2.2 Prodotto allevato - Caratterizzazione qualitativa vongole veraci

### 2.2.1 Modalità di campionamento

Nel corso della sperimentazione sono stati effettuati otto campionamenti, a cadenza mensile; per ogni campionamento è stato analizzato il prodotto sia prima che dopo il processo di depurazione (ad eccezione delle analisi nutrizionali, condotte esclusivamente sul prodotto già depurato), conducendo ogni analisi in 3 repliche.

In particolare, sono state condotte le analisi a partire dal mese di giugno 2005 fino al mese di gennaio 2006 (vedi Tabella 2).

**Tabella 2 - Date campionamento e località campionate**

DATA CAMPIONAMENTO	AREA DI PRODUZIONE
27/06/05	Caleri conc. n° 108/96
11/07/05	Caleri conc. n° 95/99
01/08/05	Marinetta conc. n° 23/2003
12/09/05	Marinetta conc. n° 12/03
17/10/05	Caleri conc. n° 108/96
07/11/05	Marinetta conc. n° 010/2003
13/12/05	Marinetta conc. n° 012/2003
11/01/06	Caleri conc. n°095/99

La materia prima utilizzata nella sperimentazione è stata reperita dagli allevamenti di vongole veraci in concessione alle cooperative socie del Consorzio AL.M.E.C.A. – Allevatori e Pescatori del Parco del Delta, nelle lagune di Caleri e Marinetta: sono stati prelevati due sacchi di circa 10 Kg l'uno per ogni campionamento, provenienti dalla stessa partita., di cui uno da sottoporre a depurazione.

I campionamenti sono stati effettuati dal Consorzio stesso, che ha provveduto alla consegna dei campioni al CDM – CSM del Consorzio Cooperative Pescatori del Polesine, per la depurazione e il confezionamento; Il prodotto da depurare è stato sottoposto ad un processo di risanamento di 12-24 ore, mentre quello non depurato è stato stoccato in cella senza subire alcun trattamento per un periodo equivalente. I campioni sono stati successivamente trasportati con frigo portatile a 4 °C fino al laboratorio della coop. M.A.R.E. per l'esecuzione delle analisi: il laboratorio ha fornito al Consorzio le istruzioni sulle modalità di prelievo e sui dati da allegare.

### 2.2.2 *Rilevazione e registrazione temperature*

Nel corso dei campionamenti sono state effettuate le seguenti misurazioni di temperatura sui molluschi:

- sul prodotto da analizzare prima del processo di depurazione, la misurazione è stata effettuata dal momento della raccolta a quello della consegna al laboratorio M.A.R.E. scarl, comprendendo quindi le fasi di raccolta prodotto, trasporto al CDM – CSM, stoccaggio in cella presso il CDM – CSM, trasporto refrigerato presso laboratorio M.A.R.E. scarl;
- sul prodotto da analizzare dopo il processo di depurazione la misurazione è stata effettuata dal momento della raccolta a quello della consegna al laboratorio M.A.R.E. scarl, comprendendo in questo caso le fasi di raccolta prodotto, trasporto al CDM – CSM, depurazione presso il CDM – CSM,, trasporto refrigerato presso laboratorio M.A.R.E. scarl..

Per le misurazioni è stato impiegato un termometro dotato di memoria magnetica in grado di registrare le variazioni di temperatura in relazione al tempo trascorso (TESTOSTOR 175, Testo spa); inoltre gli operatori del Consorzio AL.M.E.C.A. e del CDM – CSM provvedono a registrare le note informative necessarie ad individuare le varie fasi produttive, secondo la scheda predisposta ad hoc (Allegato 1).

### 2.2.3 *Preparazione campioni*

Per ogni campionamento si sono utilizzati circa 16 kg di prodotto tra depurato e non depurato.

Preliminarmente i molluschi sono stati sottoposti alle seguenti operazioni:

- lavaggio con acqua potabile;
- cernita degli individui per l'allontanamento degli esemplari morti o con valve rovinata e/o rotte;

Sugli esemplari da sottoporre a determinazione della quantità di sabbia è stata effettuata una ulteriore pulitura, spazzolatura e lavaggio, per allontanare il sedimento dalle valve.

A questo punto, il campione è stato diviso come segue:

- 2 kg di campione di prodotto depurato destinato all'analisi biometrica
- 2 kg di campione di prodotto depurato destinato alle analisi chimico-nutrizionali
- 3 kg di campione di prodotto non depurato e 3 kg di depurato destinati alle analisi microbiologiche
- 3 kg di campione di prodotto non depurato e 3 kg di depurato destinati alle analisi merceologiche

### 2.3 *caratterizzazione del campione in termini analitici*

Nel corso della sperimentazione, i molluschi oggetto di studio sono stati sottoposti ad analisi di tipo merceologico, chimico- nutrizionale, microbiologico.

I parametri ricercati sono riportati nella tabella seguente.

**Tabella 3 - Parametri analitici ricercati nei campioni di *Tapes philippinarum***

PARAMETRI NUTRIZIONALI	PARAMETRI MICROBIOLOGICI	PARAMETRI MERCEOLOGICI	PARAMETRI BIOMETRICI
Contenuto in proteine	Coliformi fecali	Contenuto in carne	Lunghezza
Contenuto in lipidi	<i>Escherichia coli</i>	Contenuto in sabbie	
Contenuto in acqua	Salmonella spp.		
Contenuto in ceneri	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		
Contenuto in carboidrati	<i>Listeria monocytogenes</i>		
	Enterococchi vancomicina resistenti		
	Carica batterica totale aerobi a 25°C		

### 2.3.1 Analisi merceologiche

Nel corso della ricerca il prodotto è stato caratterizzato dal punto di vista di parametri importanti a livello qualitativo, quali il contenuto in carne e la presenza di sabbia, che, una volta definiti, potranno essere inclusi a livello di documento tecnico di prodotto.

Il contenuto in carne, inteso come rapporto percentuale del contenuto in carne sul peso complessivo dei molluschi, viene utilizzato negli scambi comunitari come importante fattore di scelta del prodotto nel caso dei mitili, mentre per le vongole veraci non assume ancora questa importanza a livello commerciale. Tale parametro pare essere influenzato principalmente dalla stagionalità.

Il Contenuto in sabbie, che incide sensibilmente sulla gradevolezza al palato dei molluschi, è influenzato dalle condizioni meteo-marine e dal processo di depurazione effettuato sul prodotto.

#### *Descrizione delle analisi merceologiche:*

Nello schema seguente si riportano i metodi impiegati per le singole determinazioni:

Ricerca/determinazione	Metodo impiegato
<b>Analisi merceologiche</b>	
<b>Contenuto in carne</b>	M. int. MARE (cod. C498)
<b>Contenuto in sabbie</b>	M. int. MARE (cod. C499)

### *Determinazione del Contenuto in carne*

Per la determinazione del contenuto in carne (% sul peso totale) è stato pesato un campione di 1Kg di prodotto già selezionato.

Successivamente 750 ml di acqua sono stati versati dentro un contenitore in acciaio della capacità di 5 litri.

Tale acqua è stata portata ad ebollizione, quindi sono stati aggiunti i molluschi, lasciati per circa 4 minuti.

Trascorso questo tempo il contenitore è stato lasciato a temperatura ambiente per 10 minuti allo scopo di raffreddare il contenuto e poter così incominciare a separare la carne dalle valve. Tramite pinzetta ogni conchiglia è stata accuratamente pulita della carne, raccolta in un contenitore per determinarne il peso, dopo sgocciolamento.

La percentuale del contenuto in carne (% sul peso totale), deriva dal valore del peso totale della carne diviso il peso totale delle vongole, moltiplicato per 100.

### *Determinazione del Contenuto in sabbie*

La determinazione è stata fatta su 500 g di campione, precedentemente selezionato in modo da avere a disposizione solo molluschi integri, perfettamente chiusi e privi di rumore sordo.

Il campione è stato lavato e pulito con una spazzola, avendo cura di eliminare ogni sedimento dalla superficie e, infine, risciacquato abbondantemente sotto un getto di acqua corrente.

Il campione è stato posizionato all'interno di un contenitore di acciaio della capacità di 5 litri, contenente 350 ml di acqua distillata portata ad ebollizione, per la durata di 5 minuti, fino all'apertura delle valve.

A questo punto ogni singolo mollusco è stato lavato con acqua distillata; il lavaggio interno di ogni mollusco si prolungava sino a quando il controllo visivo effettuato all'interno del mantello e tra mantello e valva evidenziava la completa asportazione di ogni sedimento.

Al termine del lavaggio interno, l'acqua di apertura diventata ormai "liquido di lavaggio", è stata filtrata su un setaccio in nylon con maglia da 1 mm, al fine di separare dal liquido gli eventuali frammenti di valva, poi il liquido è stato nuovamente filtrato su un setaccio in nylon con maglia da 53  $\mu$ .

Il residuo ottenuto è stato trasferito in un crogiolo di porcellana e posto in stufa a 105°C per 24h, incenerito in muffola a 600°C per 4-6 ore e di nuovo pesato fino a peso costante.

Il risultato viene riportato in g di sedimento su 1000 g di campione fresco.

### *2.3.2 Analisi chimico - nutrizionali*

Nel corso della ricerca il prodotto è stato caratterizzato dal punto di vista di parametri nutrizionali quali la percentuale in proteine, lipidi, acqua, ceneri e carboidrati. La determinazione di tali caratteri si rendeva interessante al fine di evidenziare eventuali correlazioni con la stagionalità e/o con gli altri parametri analitici ricercati.

Il profilo nutrizionale dei molluschi vede una composizione simile a quella del pesce magro: il contenuto in acqua oscilla tra 80-85 g per 100 g di parte edibile, mentre i grassi sono contenuti in quantità molto bassa, 1-2 g per 100 g di parte edibile. La maggior parte sono grassi strutturali (fosfolipidi), presenti a livello delle membrane cellulari. La loro composizione è caratterizzata dalla presenza dello stesso tipo di acidi grassi insaturi presenti

nei pesci, tra i quali hanno molta importanza quelli della serie  $\omega$  3 (o n-3): come emerso da numerosi studi, essi mostrano benefici effetti sull'organismo umano, tra cui la capacità di migliorare la fluidità del sangue.

La composizione in carboidrati varia da 1 a 6 g per 100 g; le proteine sono di elevata qualità, ed il loro contenuto oscilla dagli 8 ai 15 g per 100 g; hanno un basso contenuto in triptofano mentre sono molte ricche dell'amminoacido lisina, per cui è ottimale, a livello nutrizionale, il loro abbinamento con le proteine di origine vegetale, povere in lisina e ricche in triptofano.

I molluschi sono poi una buona fonte di sali minerali, quali zinco, magnesio, iodio e ferro, e di vitamine, in particolare quelle appartenenti al gruppo B e la vitamina A (INRAN, 2000).

*Descrizione delle analisi chimico-nutrizionali:*

Nello schema si riportano i metodi impiegati per le singole determinazioni:

Ricerca/determinazione	Metodo impiegato
<b>Analisi nutrizionali</b>	
Contenuto in proteine	Chemical methods Manual of Canadian food Inspection Agency, cap 2 sez 3.
Contenuto in lipidi	Method 945,16 AOAC Official Methods of Analysis Modificato.
Contenuto in acqua	Chemical methods Manual of Canadian food Inspection Agency, cap. 2 sez.2
Contenuto in ceneri	Chemical methods Manual of Canadian food Inspection Agency, cap. 2 sez.1
Contenuto in carboidrati	Ottenuti per calcolo.

*Determinazione del Contenuto in Proteine*

Il campione da analizzare è stato accuratamente omogeneizzato, quindi è stata pesata una quantità di 0,8-1 grammo di omogeneato.

Il campione è stato trasferito in un provettone da Kjeldahl, poi sono stati aggiunti in sequenza 18 g di K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 g di CuSO<sub>4</sub>, 5-6 palline di vetro e 15 ml di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrato.

A questo punto il provettone è stato trasferito nell'apposita unità di digestione delle proteine, modello DK6 della Velp Scientifica. La digestione è stata condotta a 420°C per circa 20 minuti; a digestione avvenuta la soluzione appariva incolore.

Terminata la digestione, dopo raffreddamento della soluzione, iniziava la distillazione, nell'apposita unità di distillazione, modello UDK 126D della Velp Scientifica. E' stato inserito un matraccio Erlenmeyer contenente 25 ml di soluzione al 4% di acido borico sulla piattaforma dell'unità di distillazione, ed il provettone col campione digerito, a cui sono stati aggiunti 50 ml di NaOH 35% con sistema automatico d'immissione. Si procedeva quindi con la distillazione, raccogliendo almeno 100 ml di distillato nel matraccio.

Avveniva poi la titolazione, aggiungendo 10 gocce di indicatore di Tashiro (preparato sciogliendo 0.6g di rosso metile in 50 ml di alcol etilico al 95% e mescolandoli con una soluzione di 0.1 g di blu di metilene in 50 ml di acqua distillata) e titolando il contenuto del matraccio con HCl 0.2 N.

Calcoli:

La % di proteine sul peso tal quale =  $((A*B*0,014)*6.25)/$  peso in g del campione\*100

% N =  $(A-B)*0,14/$  peso in g del campione

con:

A = Normalità dell'acido utilizzato

B = ml dell'acido utilizzato

6.25= Fattore di Conversione per le Proteine (FCP), che moltiplicato per la quantità di azoto presente nel campione dà la quantità di proteine nel campione.

Il risultato viene espresso riferendosi a 100 g di polpa fresca di molluschi.

#### *Determinazione del Contenuto in Lipidi*

Il campione, costituito da circa 5g di polpa di molluschi, è stato sgocciolato su carta bibula per 10 minuti, quindi essiccato in stufa a 75-85°C per 24 ore.

Successivamente sono stati pesati circa 3 g di essiccato, posto in un pallone opportunamente tarato.

Sono poi stati aggiunti al campione 5 g di Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Il campione è stato trasferito nel ditale per Soxhlet, chiuso con del cotone, e posto nell'estrattore collegato al pallone; successivamente è stato aggiunto etere di petrolio, montato il refrigerante sopra l'estrattore e posto a bagnomaria.

L'estrazione è stata condotta per circa 4 ore, successivamente è stato rimosso il pallone e lasciato evaporare sotto cappa per 30 minuti. In seguito il pallone è stato posto in stufa termostata a 120°C per 30 minuti fino a peso costante, quindi pesato (PF).

Calcoli:

PESO FINALE(PF) – TARA pallone

LIPIDI TOTALI ( su 100 g di campione fresco sgocciolato) = -----(100 –% acqua)

PESO CAMPIONE SECCO

#### *Determinazione del Contenuto in Acqua*

La determinazione è stata effettuata su circa 5 g di polpa di molluschi, precedentemente lasciati sgocciolare su carta bibula per 10 minuti.

Il campione, dopo sgocciolamento, è stato posto in una capsula di porcellana precedentemente tarata in stufa termostata a 75-85°C per circa 10 minuti, raffreddata in essiccatore e pesata.

Il campione è stato poi inserito nella stufa termostata a 75-85°C per 24 ore, raffreddato in essiccatore e pesato. La perdita di peso rappresenta la quantità di acqua del campione fresco.

#### *Determinazione del Contenuto in Ceneri*

La determinazione è stata effettuata su 5 g di campione polpa di molluschi, precedentemente lasciati sgocciolare su carta bibula per 10 minuti.

Il campione, dopo sgocciolamento, è stato posto in un crogiolo precedentemente tarato in stufa termostata a 75-85°C per circa 10 minuti, raffreddato in essiccatore e pesato.

Il campione è stato poi carbonizzato su fiamma, quindi calcinato in muffola a 600°C sino all'ottenimento di ceneri bianche. Il crogiolo è stato pesato dopo raffreddamento; il risultato viene poi riportato a 100 g di polpa fresca di molluschi.

*Determinazione del Contenuto in Carboidrati*

Il contenuto in carboidrati è stato determinato per calcolo, sottraendo i valori ottenuti nella determinazione degli altri principi nutritivi.

### 2.3.3 *Analisi microbiologiche*

La scelta del profilo microbiologico da ricercare è stata fatta in modo tale da valutare sia i parametri richiesti per legge che altri indicatori ritenuti significativi nel qualificare il prodotto.

Questo allo scopo di caratterizzare il prodotto allevato localmente, valutare l'efficacia del processo depurativo ed individuare i parametri microbiologici di maggiore interesse da includere nel disciplinare. La caratterizzazione del prodotto rappresentava un passo importante nella successiva stesura del disciplinare, onde evitare di produrre documenti tecnici di Prodotto o inapplicabili (con limiti microbiologici eccessivamente restrittivi per la realtà in oggetto) o di scarso interesse nel qualificare il prodotto (limiti poco significativi).

#### *Parametri microbiologici indicati dalla normativa vigente*

Allo scopo di valutare la conformità del prodotto ai parametri minimi indicati dalla normativa vigente, sono stati ricercati:

- *Escherichia coli*
- Salmonella.

Il vecchio D.Lgs. di riferimento per il settore, n° 530 del 30 dicembre del 1992, è stato recentemente sostituito dal Regolamento CE n. 2073/2005 del 15/11/2005; all'inizio della conduzione delle prove era ancora in vigore il D.Lgs. n° 530, per cui ci si è riferiti ai criteri dettati da tale normativa.

Precedentemente, in seguito all'emanazione della nota del Ministero della salute del 29/11/04 (prot.n° DGVA /IX/37197/P), fu decretata l'esclusione del parametro Coliformi fecali tra le analisi cogenti, lasciando il solo parametro *Escherichia coli* quale indicatore nella valutazione dell'idoneità al consumo umano del prodotto. Ciò che condusse a tale decisione l'Istituto superiore di Sanità fu la rilevazione che la qualificazione dei Coliformi fecali era stata fatta erroneamente, ed in particolare che "il rilevamento dei Coliformi fecali a 44°+/-1°C, così come previsto dai metodi in uso, può dar luogo ad un'alta percentuale di risultati falsi positivi, trattandosi di microrganismi termotolleranti di possibile origine ambientale, dove, come già riportato, possono anche trovare le condizioni idonee alla loro riproduzione".

Per avere un profilo più completo del prodotto, nel caratterizzare i molluschi oggetto della ricerca è stato monitorato comunque anche il parametro Coliformi fecali.

#### *Caratteristiche dei microrganismi ricercati*

*Escherichia coli* è una specie batterica appartenente alla famiglia delle Enterobacteriaceae ed è caratterizzata dalla capacità di crescita a 44°C su terreni complessi, dalla capacità di fermentare lattosio e mannitolo con produzione di gas e acido e di produrre indolo dal tripotofano. Nel 1887, Escherich osservò che quello che noi ora chiamiamo *Escherichia coli*, era sempre presente nelle deiezioni umane. Conseguentemente Sharding, nel 1892, suggerì di utilizzare questa specie batterica come indicatore di contaminazione fecale in quanto poteva essere coltivata molto più facilmente rispetto alle salmonelle. Non sempre però ad un basso livello di questi indicatori corrisponde l'assenza di patogeni; diverse ricerche riportano esempi di germi patogeni isolati da prodotti ittici provenienti da acque considerate salubri (Wait, 1983; Fraiser e Koberger, 1984; Hood et al. 1983; Abeyta, 1986; Cook e Ruple 1989; Levrè et al., 1991).

*Escherichia coli* rappresenta quindi un ottimo "marker" di contaminazione fecale, essendo il coliforme fecale dominante nelle feci umane ed animali; diverso il discorso, come descritto

precedentemente, per i coliformi fecali: essi comprendono batteri come le *klebsiellae* termotolleranti che si sono rivelate molto più ubiquitarie di quanto si ritenesse in passato.

Le salmonelle sono microrganismi conosciuti sin dal 1884, quali agenti patogeni di infezioni di tipo setticemico (febbre tifoide) o di tipo gastroenterico (salmonellosi), e ancora oggi rappresentano un rilevante problema di sanità pubblica sia nei paesi industrializzati, che in quelli in via di sviluppo. Mentre la febbre tifoide ha assunto un andamento sporadico con una tendenza senz'altro in diminuzione nei paesi a maggior sviluppo socio-economico, per le salmonellosi la morbosità è decisamente elevata in tutto il globo. L'aumento di morbosità è in parte reale e legato a fattori che predispongono alla diffusione di infezioni veicolate da alimenti, quali refezioni collettive, allevamenti intensivi, distribuzione di massa degli alimenti, utilizzo di cibi "pronti", movimenti migratori, ecc., ed in parte non reale ma legata al notevole miglioramento delle tecniche di analisi microbiologiche.

Le salmonelle possono essere suddivise in due gruppi in base alla loro capacità di adattamento:

- Salmonelle strettamente adattate ad un definito ospite, come il sierotipo *Typhi* (9,12,(Vi):d: - ), agente eziologico della febbre tifoide strettamente adattato all'uomo, unico serbatoio di infezione; altri sierotipi strettamente umani sono i sierotipi Paratyphi A (1,2,12:a: - ) e Sendai (1,9,,12:a:1,5). Analogamente, altri sierotipi risultano strettamente adattati a determinate specie animali: *Abortusovis* (4,12,:c:1,6) agli ovini, *Abortusequi* (4,12: - :e,n,x,) agli equini, *Gallinarum* (1,9,12: - : - ) ai volatili.

L'adattamento ad un ospite particolare si accompagna ad esigenze nutritive più elevate (sierotipi auxotrofi) mentre i sierotipi che non riconoscono un ospite specifico sono per la gran parte prototrofi.

- Salmonelle appartenenti a sierotipi ubiquitari dette anche salmonelle "minori", caratterizzate da un minor potere patogeno rispetto ai sierotipi del precedente gruppo, potendo sostenere forme cliniche - tipo "tossinfezione alimentare" - di regola localizzate nel tubo intestinale, senza disseminazione ematica.

Le differenze tra questi due gruppi comportano anche diverse modalità di trasmissione. Le salmonelle del primo gruppo, ad esempio la *Salmonella enterica* sierotipo *Typhi*, comunemente riportata come *Salmonella typhi*, riconoscendo come unico serbatoio l'uomo, può essere trasmessa o per contagio interumano o per contagio indiretto (uomo-ambiente-uomo); in quest'ultimo caso i veicoli più frequentemente implicati sono l'acqua e gli alimenti contaminati dall'acqua ed in particolar modo alcuni molluschi bivalvi che filtrano e concentrano il contenuto microbico dell'acqua. Da questa modalità di trasmissione deriva una forte correlazione tra fecalizzazione ambientale e diffusione dell'infezione tifoidea.

Le salmonelle del secondo gruppo, rappresentate da sierotipi a diffusione ubiquitaria, hanno come serbatoio di infezione gli animali, ma è anche possibile la loro trasmissione da persona a persona; i veicoli sono gli alimenti, contaminati sin dall'origine o contaminati dall'uomo nelle diverse fasi di preparazione e/o conservazione.

La dose infettante di salmonella è usualmente considerata elevata, superiore a  $10^5$  organismi, ma esiste l'evidenza epidemiologica che in alcuni casi anche un numero ridotto di organismi può causare infezione. Ciò avviene in relazione alla virulenza del ceppo, a fattori dell'ospite (età, stato immunitario) e alle caratteristiche dell'alimento veicolo. Cantoni (1985) riporta un caso di tossinfezione alimentare che ha colpito 50 persone, correlata al consumo di tartufi di mare (*Venus verrucosa*) crudi, dai quali sono state isolate *Salmonella typhimurium* (1,4,(5),12:i:1,2) e *Salmonella mbandaka* (6,7: z10:e,n,z15) in quantità comprese tra 400 ed 800 germi per mollusco che, considerando ragionevolmente il consumo di 3-4 tartufi pro capite, corrisponderebbero all'ingestione di  $10^2$ - $10^3$  salmonelle.

Le salmonelle possono rappresentare un serio problema sanitario per il consumo soprattutto di molluschi bivalvi vivi, tanto più che è radicata, in alcune zone del nostro Paese, l'abitudine di consumare alcuni molluschi crudi per gustarne meglio il sapore e la freschezza.

*altri parametri microbiologici caratterizzanti il prodotto*

Nel corso della sperimentazione, sono stati ricercati anche altri microrganismi, quali:

- *Vibrio parahaemolyticus*
- *Listeria monocytogenes*
- Enterococchi

E caratterizzato il prodotto in termini di:

- Conta Batterica Totale a 22°C
- Conta Batterica Totale a 37°C

*Caratteristiche dei microrganismi ricercati:*

*Vibrio parahaemolyticus* rappresenta un microrganismo autoctono" o "indigeno", ovvero fisiologicamente presente nelle acque, la cui presenza all'origine è del tutto inevitabile. Appartiene alla famiglia delle *Vibrionaceae*, sempre più frequentemente chiamata in causa in episodi di gastroenteriti alimentari connesse con il consumo di prodotti ittici (Ottaviani et al. , 1994). In particolare il nostro interesse si è rivolto verso *Vibrio parahaemolyticus*, poiché è un patogeno spesso isolato sia dall'acqua di mare che dal sedimento, dai pesci, dai molluschi e dal plankton. Per dare una misura dell'importanza di questo microrganismo basti ricordare che in Giappone, dove è radicata l'abitudine di consumare prodotti ittici crudi, per molti anni *Vibrio parahaemolyticus* è stato considerato la causa di almeno il 70% di tutti i casi di gastroenteriti. Inoltre alcuni studi hanno evidenziato la resistenza di questo vibrione a trattamenti termici non spinti, infatti Ma-Lin e Benchat (1980) verificarono che, partendo da inoculi di  $5 \times 10^5$  cellule/ml di *Vibrio parahaemolyticus* in ostriche, era possibile trovare germi vivi dopo un trattamento termico a 80°C per 15 minuti. Ne consegue che in presenza di prodotti con alti titoli di *Vibrio parahaemolyticus* anche la cottura può non essere sempre sufficiente a bonificare il prodotto, quindi risulta senz'altro importante, nell'ambito della definizione di qualità igienico-sanitaria dei prodotti ittici indagati, valutare l'entità di tale presenza.

*Listeria monocytogenes* è un patogeno "emergente" in quanto solamente nell'ultimo decennio la listeriosi è emersa come un'affezione a trasmissione alimentare. In particolare la sua spiccata psicrofilia ne accresce l'interesse nell'ambito dei prodotti ittici, dove la conservazione refrigerata costituisce un'imprescindibile condizione per la conservazione delle caratteristiche qualitative del prodotto. Questo patogeno è un parassita intracellulare che entra nell'organismo per via intestinale e può causare episodi morbosi dopo un periodo di incubazione che può variare da un giorno a più di un mese. Il quadro nosografico non è frequente ma grave e talvolta letale. Nell'uomo la fase enterica della malattia non è particolarmente rilevante; in alcuni casi si manifesta con dolori addominali e diarrea, ma in altri casi non presenta sintomi gastroenterici. Può invece causare gravi setticemie, encefaliti, meningiti o aborti. La listeriosi non è frequente negli individui in buona salute ma si manifesta preferenzialmente in gruppi di popolazione a rischio quali le donne in gravidanza, i neonati e gli immunodepressi. *Listeria monocytogenes* è abbondantemente diffusa in natura ed è stata isolata anche in Italia in diversi tipi di alimenti, anche di origine marina (Nanni et al., 1997). Tuttavia, nonostante il consumo di alimenti ittici sia stato epidemiologicamente associato ad episodi di listeriosi (Falcinelli et al., 1989; Mc Lauchlin J., 1987), la letteratura in proposito è ancora relativamente scarsa ed è quindi interessante valutare l'incidenza di questo patogeno nei prodotti ittici freschi.

Gli enterococchi sono microrganismi ubiquitari, normali commensali del tratto intestinale dell'uomo e degli animali; tuttavia negli ultimi anni si è assistito ad un aumento del numero di infezioni nosocomiali causate da questi batteri. Responsabili della maggior parte dei casi registrati sono ceppi appartenenti alle specie *Enterococcus faecalis* e, in misura minore, *Enterococcus faecium* (Franz et al., 1999).

Per quanto riguarda la caratterizzazione delle vongole veraci in termini di cariche batteriche totali a 22 e 37°C, va detto che in bibliografia non esistono molti dati riguardanti la microflora dei molluschi bivalvi vivi, per cui risulta difficile sia fissare dei limiti da includere in un Disciplinare di Produzione, sia definire se effettivamente il carico microbico totale rappresenti un parametro caratterizzante a livello qualitativo il prodotto, e quindi valga o meno la pena d'includerlo nel disciplinare.

Studi condotti indicano che al momento della cattura la carica batterica può attestarsi a concentrazioni di  $10^3$ - $10^5$  UFC/g; generalmente una o due unità logaritmiche più elevata rispetto a quella dell'acqua in cui vengono pescati. La variabilità è legata anche al tipo di metodo impiegato: cariche microbiche più elevate sono ottenute aggiungendo al terreno di coltura 3% di cloruro di sodio (Colwell R.R., Liston J., 1960).

*Descrizione delle determinazioni analitiche:*

Nello schema si riportano i metodi impiegati per le singole determinazioni:

Ricerca/determinazione	Metodo impiegato
<b>Analisi microbiologiche</b>	
Coliformi fecali ed <i>Escherichia coli</i>	D.M. 31/07/1995
Salmonella sp.	D.M. 31/07/1995
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> - ricerca qualitativa	HPB Method-MFHPB-15/1997
Conta totale germi a 22°C	(PCA + 3%NaCl-25°C), secondo Colwell e Liston (1960)
Conta totale germi a 37°C	HPB Method - MFHPB 33/97 Health Protection Branch - Government of Canada
<i>Listeria monocytogenes</i> -	O.M. 07/12/1993, G.U. n. 291
Enterococchi	Compendium APHA 1984

*Coliformi fecali*

- Determinazione secondo il metodo riportato in D.M. 31/07/1995

*Escherichia coli*

- Determinazione secondo il metodo riportato in D.M. 31/07/1995

*Salmonella spp*

- Determinazione secondo il metodo riportato in D.M. 31/07/1995

*Vibrio parahaemolyticus*

- Determinazione qualitativa secondo HPB Method-MFHPB-15/1997

*Carica batterica tot. aerobi 25 °C*

- Determinazione secondo il metodo suggerito da Colwell e Liston (1960) (PCA+3% NaCl a 20°C)

*Carica batterica tot. aerobi 37 °C*

- Determinazione secondo il metodo HPB Method - MFHPB 33/97 Health Protection Branch - Government of Canada

### *Listeria monocytogenes*

- Valutazione mediante metodica stabilita da O.M. 07/12/1993, G.U. n. 291, escluso saggio in vivo

### *Enterococchi*

- Determinazione secondo il metodo del Compendium APHA del 1984.

#### **2.3.4 *Analisi biometriche***

Nel corso della ricerca il prodotto è stato caratterizzato in termini di distribuzione di frequenza delle lunghezze.

Le analisi dei campioni sono state effettuate mensilmente su un campione rappresentativo di 2 Kg di prodotto, su cui sono successivamente condotte le analisi nutrizionali.

La misura della lunghezza degli individui è stata effettuata con calibro analogico (incertezza  $\pm 0,2$  mm), arrotondando la misura al mm inferiore.

#### **2.4 *Trattamento dei dati***

Per la registrazione dei dati ci si è avvalsi del programma Microsoft EXCEL 2000.

Per le successive elaborazioni e rilevazioni statistiche è stato utilizzato il programma SPSS 11.0.

#### **2.5 *Definizione di protocolli operativi e di qualità***

Per la definizione dei protocolli operativi e di qualità inseriti nel disciplinare, è stata svolta un'indagine conoscitiva sulle procedure operative adottate dai produttori in ogni fase di attività, dalla semina del novellame alla collocazione sul mercato del prodotto destinato al consumo, e sui comportamenti degli addetti.

Le informazioni sono state raccolte tramite interviste dirette con gli operatori e visite in laguna e i processi produttivi sono stati successivamente visualizzati tramite diagrammi di flusso.

#### **2.6 *Definizione del percorso di certificazione***

L'intera fase di progettazione delle attività ha richiesto una serie di riunioni preliminari tra tutti i soggetti coinvolti nella ricerca. In particolare, nella fase di avvio del progetto, è stato contattato, al fine di ottenere un parere tecnico qualificato, il Certiquality, Ente di certificazione italiano, riconosciuto a livello internazionale e accreditato dal Sincert (organismo nazionale di accreditamento).

Sulla base delle indicazioni emerse negli incontri effettuati, delle valutazioni degli esperti coinvolti nella ricerca, e delle informazioni raccolte, si è stabilito quale potesse essere il percorso di certificazione migliore da intraprendere.

In particolare sono stati scelti e integrati tra loro due schemi di riferimento:

- 1. Certificazione volontaria di prodotto;**
- 2. Certificazione di rintracciabilità di filiera.**

### **1. Certificazione volontaria di prodotto agroalimentare**

Certificare un prodotto agroalimentare significa essenzialmente valorizzare quelle caratteristiche di qualità che lo rendono unico e lo differenziano dagli altri.

La certificazione volontaria di prodotto, attestata da un Ente terzo indipendente, è finalizzata ad assicurare il mercato ed i consumatori sulle caratteristiche qualitative peculiari di uno o più prodotti, definite in apposite norme o specifiche tecniche. Permette, inoltre, di adottare un processo di miglioramento continuo in modo da fornire la garanzia del costante rispetto degli standard qualitativi, attraverso periodiche verifiche di mantenimento.

Il certificato e il marchio di certificazione apposto sull'etichetta del prodotto diventano, in questo modo, degli ottimi strumenti di comunicazione e promozione del valore aggiunto e dei fattori differenzianti offerti dal prodotto certificato.

### **2. Certificazione di rintracciabilità di filiera**

La rintracciabilità di filiera è la logica integrazione della certificazione volontaria di prodotto in un'ottica di gestione della produzione e degli eventuali problemi di sicurezza. Ha come obiettivo principale la sicurezza dei consumatori attraverso approfonditi controlli sulla provenienza, sulla produzione e sulla distribuzione del prodotto.

La certificazione di rintracciabilità della filiera agroalimentare permette di identificare e tenere traccia di ogni aspetto dell'attività delle organizzazioni coinvolte nel processo. L'impegno comune e coordinato di più soggetti, che hanno come obiettivo comune la salvaguardia dell'integrità dell'alimento, consente di documentare la storia o la provenienza di un prodotto o delle sue componenti principali, sia all'interno di una singola azienda sia lungo l'intera filiera agroalimentare.

In definitiva la certificazione congiunta di prodotto e di rintracciabilità della filiera agroalimentare esplicitano e rendono più affidabili i processi aziendali; consentono inoltre di comunicare impegno e responsabilità al mercato dei consumatori con l'obiettivo di conquistare la loro fiducia.

### 3.0 RISULTATI

#### 3.1 Indagine conoscitiva

##### 3.1.1 Caratterizzazione del sito

Le zone oggetto della presente indagine sono la Laguna di Caleri e la Laguna di Marinetta, entrambe situate nella parte più settentrionale del delta del Po veneto, nel territorio del comune di Rosolina (Figura 1).

La Laguna di Caleri presenta una superficie di circa 1.150 ha ed una profondità media di circa 2 metri, è collegata al mare attraverso una bocca dell'ampiezza di circa 150 metri denominata Porto di Caleri, che separa l'isola di Albarella dal litorale di Rosolina Mare, mentre nella parte più meridionale si collega alla Laguna di Marinetta attraverso il varco Pozzatini.

La Laguna di Marinetta presenta una superficie di circa 350 ha ed una profondità media compresa tra 1,5 e 2 metri. Comunica con il mare attraverso la foce del Po di Levante, che separa l'isola di Albarella, a nord, dallo Scanno Cavallari.

Entrambe queste lagune si caratterizzano per ampi scambi con il mare attraverso le bocche di porto, che rendono più marinizzata le porzioni più orientali, mentre le zone più distanti dalle bocche possono presentare difficoltà nel ricambio idrico, favorendo fenomeni di distrofici con conseguenti insorgenze di ipo/anossie.



Figura 1 – Localizzazione della Laguna di Caleri e Laguna di Marinetta

Per quanto riguarda gli apporti di acqua dolce la Laguna di Caleri risente maggiormente dell'influenza del fiume Adige, mentre nella laguna di Marinetta si immette direttamente il Po di Levante.

In Laguna di Caleri le zone adibite a venericoltura sono situate nella parte più vivificata e dove risulta migliore il ricambio idrico, in prossimità quindi della bocca di porto e dei principali canali adduttori. In questa zona erano presenti, fino a poco tempo fa, insediamenti per la miticoltura del tipo a pali fissi, ora abbandonati a favore della più remunerativo allevamento della vongola filippina. In Laguna di Marinetta gli insediamenti di venericoltura sono posti nella porzione più settentrionale, compresa tra lo sbocco del Po di Levante e la bocca di porto.

Entrambe le lagune sono sottoposte con maggiore frequenza a venti provenienti dal I quadrante, ed in minor misura, dal II e III quadrante (Figura 2). Nel periodo indagato, riferito agli anni 2000-2005, i venti più frequenti si sono disposti da Nord Est per oltre il 15% del tempo, da Sud Est e Ovest per circa il 10%.

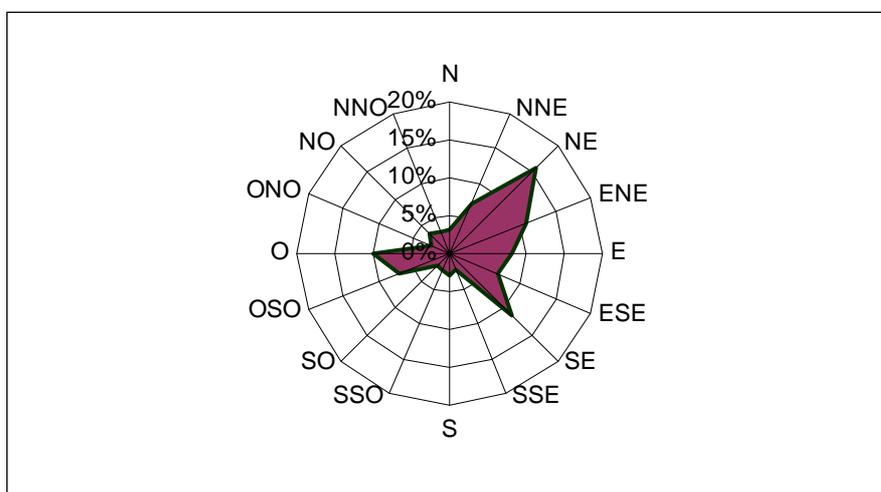


Figura 2 – Frequenza della provenienza del vento- periodo 2000-2005 (dati ARPAV)

Per quanto riguarda l'intensità del vento, dalla Figura 3 si può osservare che i venti più intensi provengono dal I quadrante Est Nord Est, con un leggero picco anche dal III quadrante Sud Ovest.

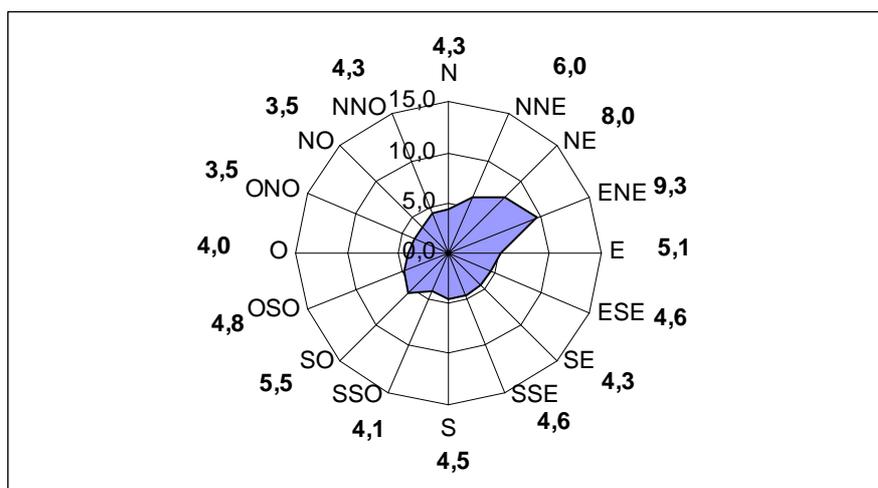
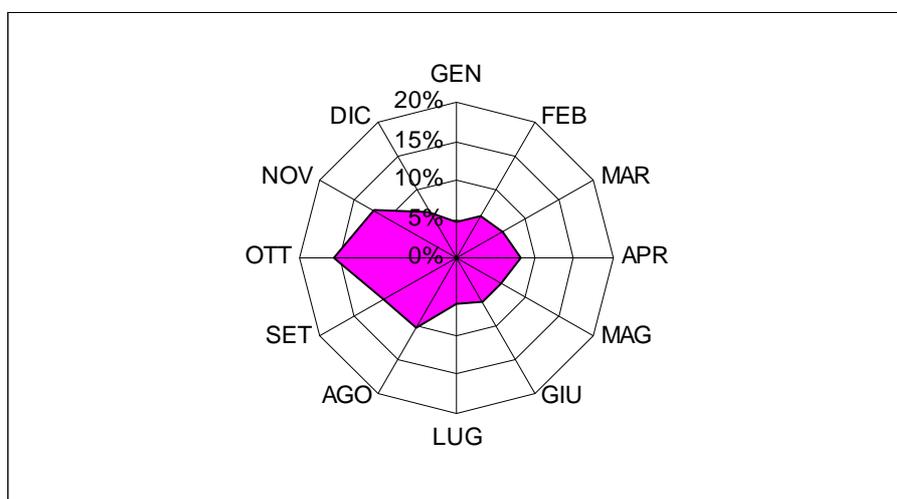


Figura 3 – Media della forza del vento (km/h) – periodo 2000-2005 (dati ARPAV)

I mesi in cui, nel periodo considerato, è stato registrato il maggiore livello di precipitazioni sono quelli autunnali, compresi tra agosto e novembre, con punte massime nel mese di ottobre, dove si è registrato oltre il 16% delle precipitazioni totali (Figura 4).



**Figura 4 – Distribuzione percentuale della piovosità - media sul periodo 2000-2005**

I dati idrologici, riferiti agli anni 2004 e 2005, tratti dal monitoraggio realizzato dall'ARPAV relativo alle acque adibite alla molluschicoltura sono esposti in e . Per la laguna di Caleri sono previsti due punti di campionamento (210, 220), mentre per la Laguna di Marinetta abbiamo un solo punto (230) (ARPAV, 2005; ARPAV 2006).

Queste informazioni, seppure parziali, in quanto riferite a campionamenti di tipo trimestrale, forniscono indicazioni relativamente alle caratteristiche dell'ambiente in cui si svolge l'allevamento.

**Tabella 4 – Dati idrologici relativi al 2004 (dati ARPAV)**

Anno - 2004	210 W - Caleri 1				220 W - Caleri 2 sud				230 W - Marinetta 1			
	marzo	giugno	settembre	dicembre	marzo	giugno	settembre	dicembre	marzo	giugno	settembre	dicembre
Salinità g/l	10,0	18,0	7,0	10,0	5,1	19,0	4,0	11,0	7,0	17,0	11,0	14,0
Temperatura °C	8,0	26,0	22,0	7,0	8,0	26,5	22,0	7,0	9,0	25,5	22,0	7,0
pH	7,9	8,2	8,3	8,1	7,8	8,3	8,4	8,0	7,8	8,2	8,3	7,9
Ossigeno mg/l	8,7	5,1	9,9	10,9	8,3	6,9	9,8	10,9	9,0	4,6	6,9	10,1
Ossigeno % sat.	78,0	69,0	117,0	95,0	72,0	94,0	114,0	96,0	81,0	60,0	86,0	97,0
solidi sospesi mg/l	16,0	6,0	6,0	8,0	15,0	8,0	5,0	12,0	5,0	15,0	4,0	25,0

**Tabella 5 – Dati idrologici relativi al 2005 (dati ARPAV)**

Anno - 2005	210 W - Caleri 1				220 W - Caleri 2 sud				230 W - Marinetta 1			
	marzo	giugno	settembre	dicembre	marzo	giugno	settembre	dicembre	marzo	giugno	settembre	dicembre
Salinità g/l	22,0	24,0	18,0	10,0	15,0	22,0	18,0	15,0	21,0	24,0	19,0	10,5
Temperatura °C	10,5	18,0	18,0	4,5	10,5	18,0	18,0	4,0	10,5	18,0	18,0	4,5
pH	8,3	8,4	8,6	8,6	8,3	8,4	8,5	8,2	8,1	8,3	8,2	8,2
Ossigeno mg/l	11,5	3,8	11,4	13,1	13,2	8,0	10,6	11,2	11,5	6,5	8,5	10,9
Ossigeno % sat.	117,0	46,0	133,0	106,0	128,0	95,0	123,0	94,0	116,0	78,0	99,0	89,0
solidi sospesi mg/l	8,0	15,0	12,0	8,0	10,0	12,0	20,0	4,0	6,0	10,0	7,0	10,0

Per quanto riguarda la salinità, dall'analisi delle tabelle si evince una forte variabilità, con valori che per Caleri oscillano tra il 7‰ e 4‰ del settembre 2004 ed il 24‰ e 22‰ del 2005, mentre per Marinetta il valore più basso è del marzo 2004 e quello più elevato del giugno 2005, rispettivamente 7‰ e 24‰.

La temperatura, per entrambe le lagune, oscilla tra i 4°C-4,5°C del dicembre 2005, ai 25,5°C- 26,5°C del giugno 2004.

Il pH si mantiene relativamente costante, con i valori che rientrano all'interno dell'intervallo compreso tra 7,8 e 8,6 unità.

Il valore inferiore di ossigeno è stato registrato nel giugno 2005 in laguna di Caleri, 3,8 mg/l e 46% di saturazione, mentre in Laguna di Marinetta il valore inferiore è stato registrato nel giugno 2004, con 4,6 mg/l e 60% di saturazione.

Nell'ambito del medesimo programma di campionamento, da parte dell'ARPAV, sono state effettuate rilevazioni anche sui molluschi, allo scopo di individuare la presenza di contaminanti quali metalli pesanti e coliformi fecali, stazioni 211 e 221 per Caleri e 231 per Marinetta (ARPAV, 2005; ARPAV 2006). Per quanto riguarda il metalli pesanti i valori riscontrati rientrano all'interno dei parametri di legge, mentre per i coliformi fecali i limiti vengono superati nel marzo 2004, in Caleri 2 (221), nel giugno 2004, in tutte e tre le stazioni, nel settembre e dicembre 2004, in Caleri 1 (211), mentre nel 2005 il limite di 300 MPN/100g è superato nei prelievi di settembre e dicembre, per tutte e tre le stazioni.

**Tabella 6 – Controlli microbiologici su molluschi nel periodo 2002-2005 – (fonte ASL)**

	Caleri		Marinetta	
Giorni di campionamento	42		35	
Totale controlli	63	100,0%	47	100,0%
Negativi <i>E. coli</i>	41	65,1%	35	74,5%
Positivi <i>E. coli</i> ( $\geq 230$ MPN/100g)	22	34,9%	11	23,4%
Positivi <i>E. coli</i> ( $\geq 230$ MPN/100g $\leq 4600$ MPN/100g)	15	23,8%	6	12,8%
Positivi <i>E. coli</i> ( $> 4600$ MPN/100g)	7	11,1%	5	10,6%
Min <i>E. coli</i> (MPN/100g)	<200		<200	
Max <i>E. coli</i> (MPN/100g)	160900		160900	
Positivo Salmonella	1		1	

Nel periodo 2002-2005 la ASL locale (n° 19) ha effettuato 63 controlli di tipo microbiologico, distribuiti su 43 giornate, su vongole provenienti dalla laguna di Caleri e 47 controlli, su 35 giornate, su vongole provenienti dalla laguna di Marinetta, i risultati relativi sono esposti il . In alcuni casi, quindi, in una stessa giornata sono stati prelevati campioni da punti differenti per ognuna delle due lagune. Per quanto riguarda la laguna di Caleri si evidenzia che solamente 7 campioni, pari all'11% circa del totale, superano la soglia limite di 4.600 MPN/100g, riferita a zone di produzione di tipo B, mentre ben il 65% dei valori rientra all'interno dei limiti riferiti alle zone di produzione di tipo A. Per la laguna di Marinetta su un numero complessivo di 47 campioni, il limite di 4.600 MPN/100 g è superato in 5 casi, pari al 10,6% del totale. Per quest'ultima area la ricerca di *E. coli* è risultata negativa per circa il 75% dei casi. Sia per la laguna di Caleri che per quella di Marinetta il limite massimo registrato è stato di 160.900 MPN/100 g.

Nel periodo considerato, in entrambe le lagune è stato registrato un unico caso di positività alla salmonella (Tabella 6).

### **3.2 Prodotto allevato - Caratterizzazione qualitativa vongole veraci**

#### **3.2.1 Rilevazione e registrazione temperature**

**PRODOTTO DEPURATO**

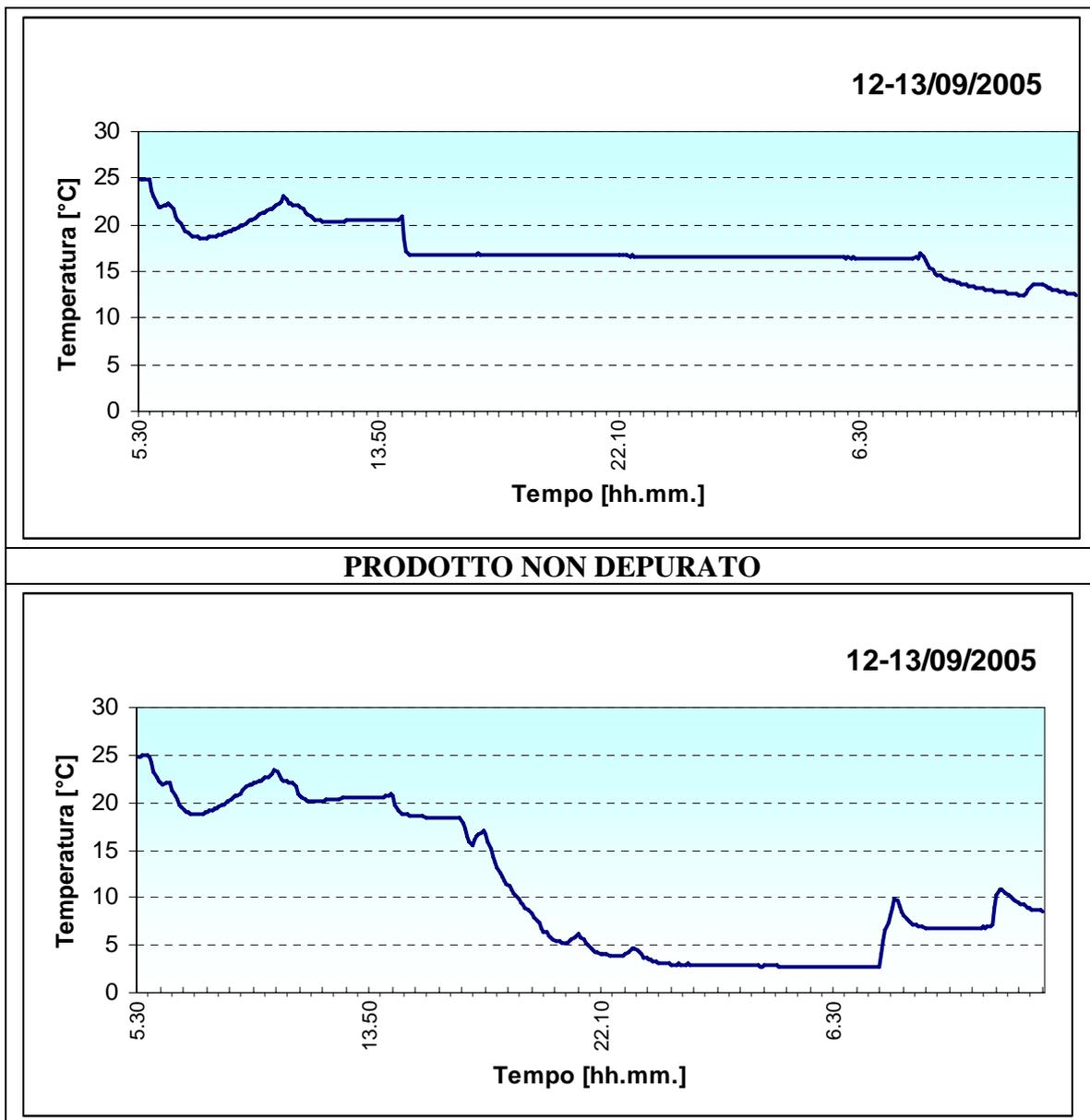


Figura 5 – Temperature rilevate sui campioni oggetto di analisi nel periodo 12 e 13-09-2005

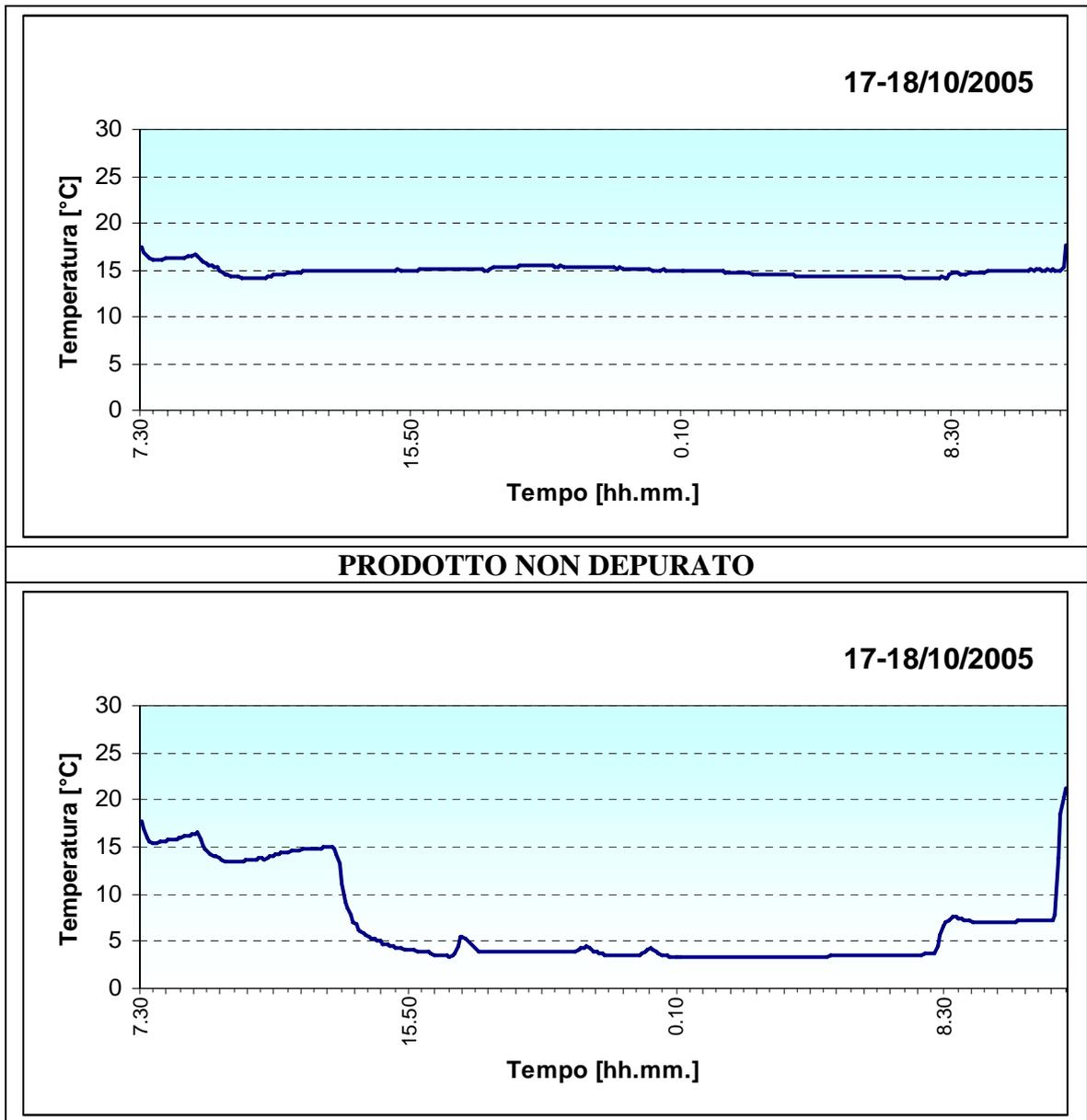
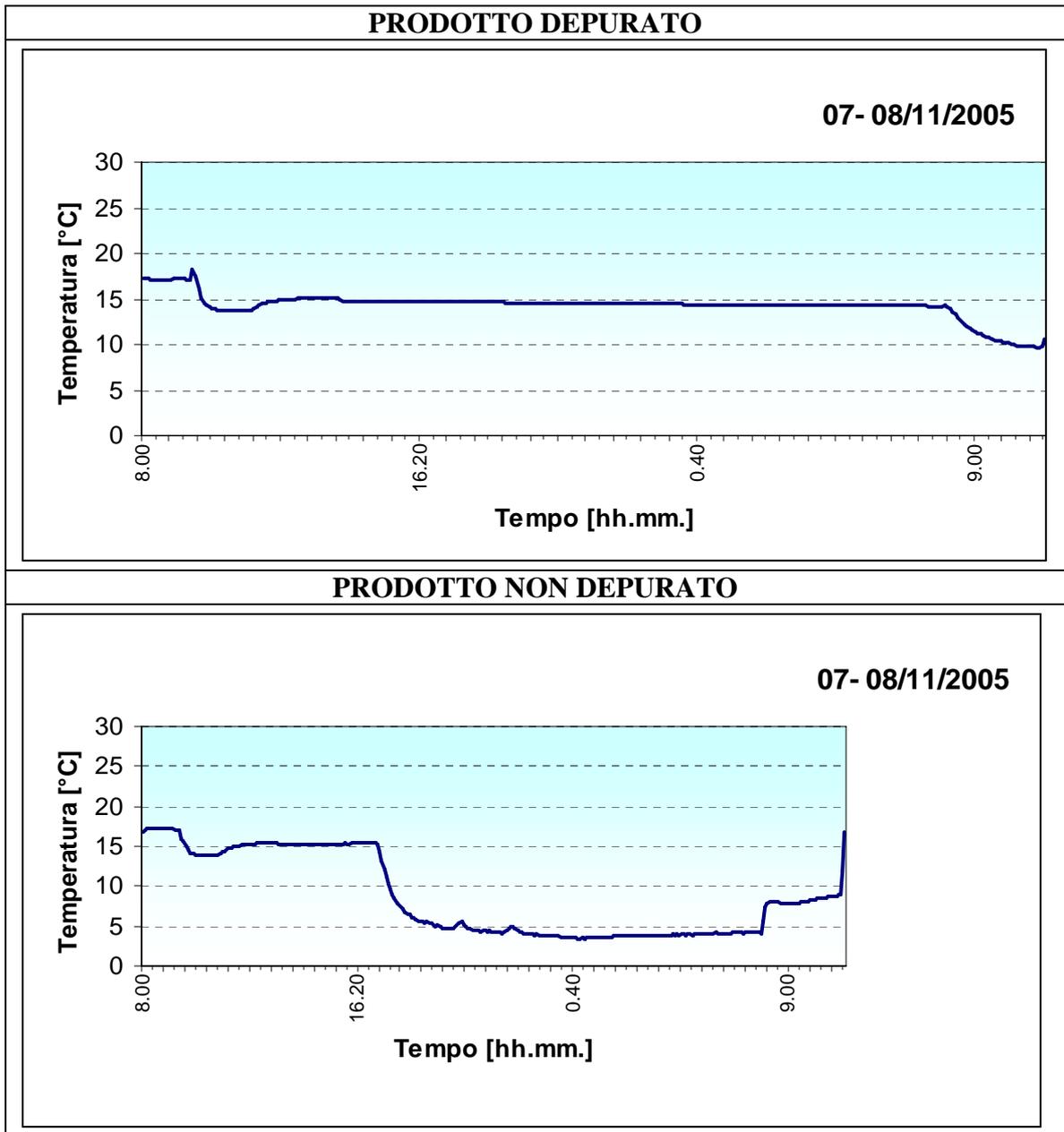


Figura 6 – Temperature rilevate sui campioni oggetto di analisi nel periodo 17 e 18-10-2005



**Figura 7 – Temperature rilevate sui campioni oggetto di analisi nel periodo 07 e 08-11-2005**

**PRODOTTO DEPURATO**

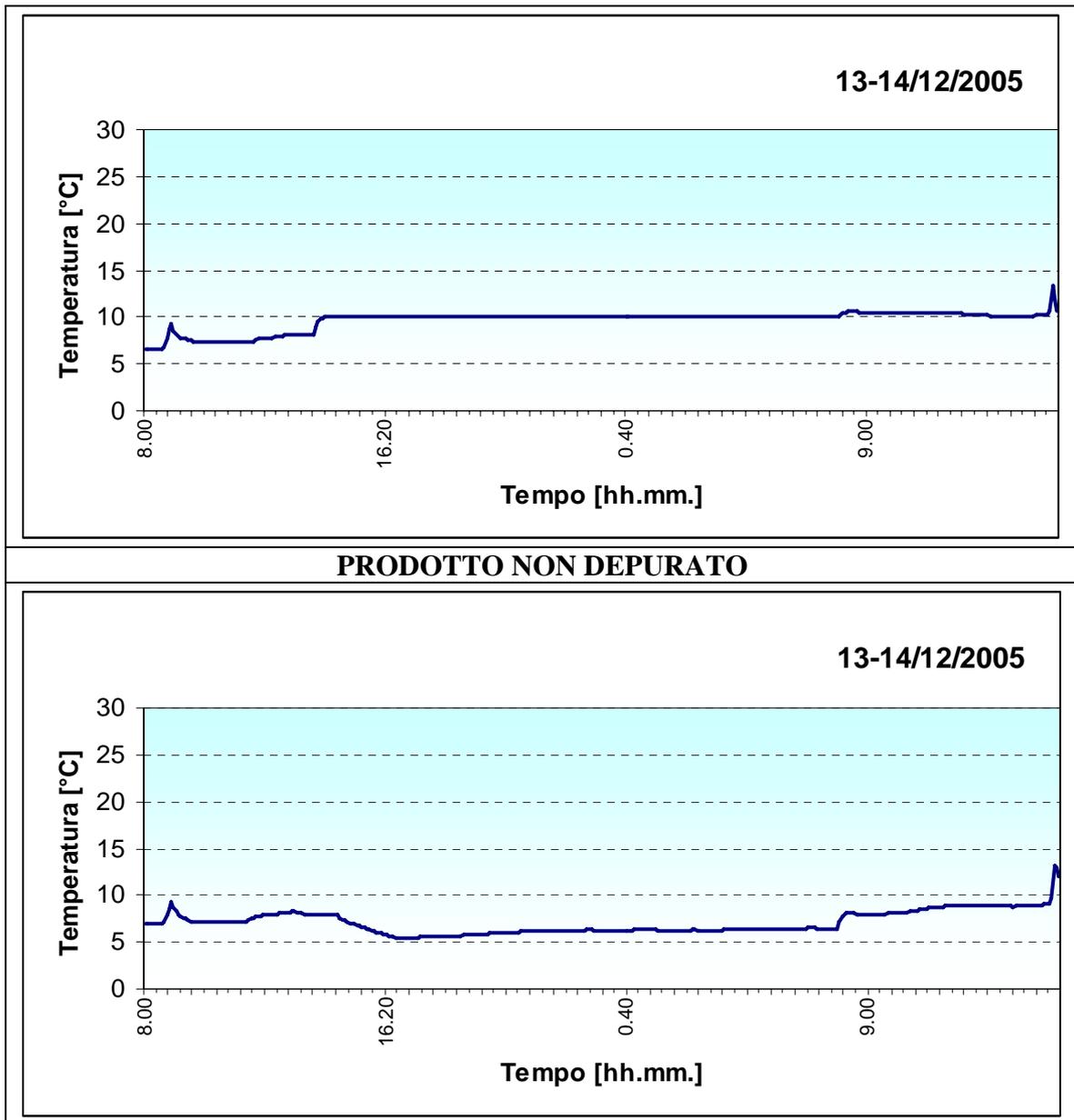


Figura 8 – Temperature rilevate sui campioni oggetto di analisi nel periodo 13 e 14-12-2005

**PRODOTTO DEPURATO**

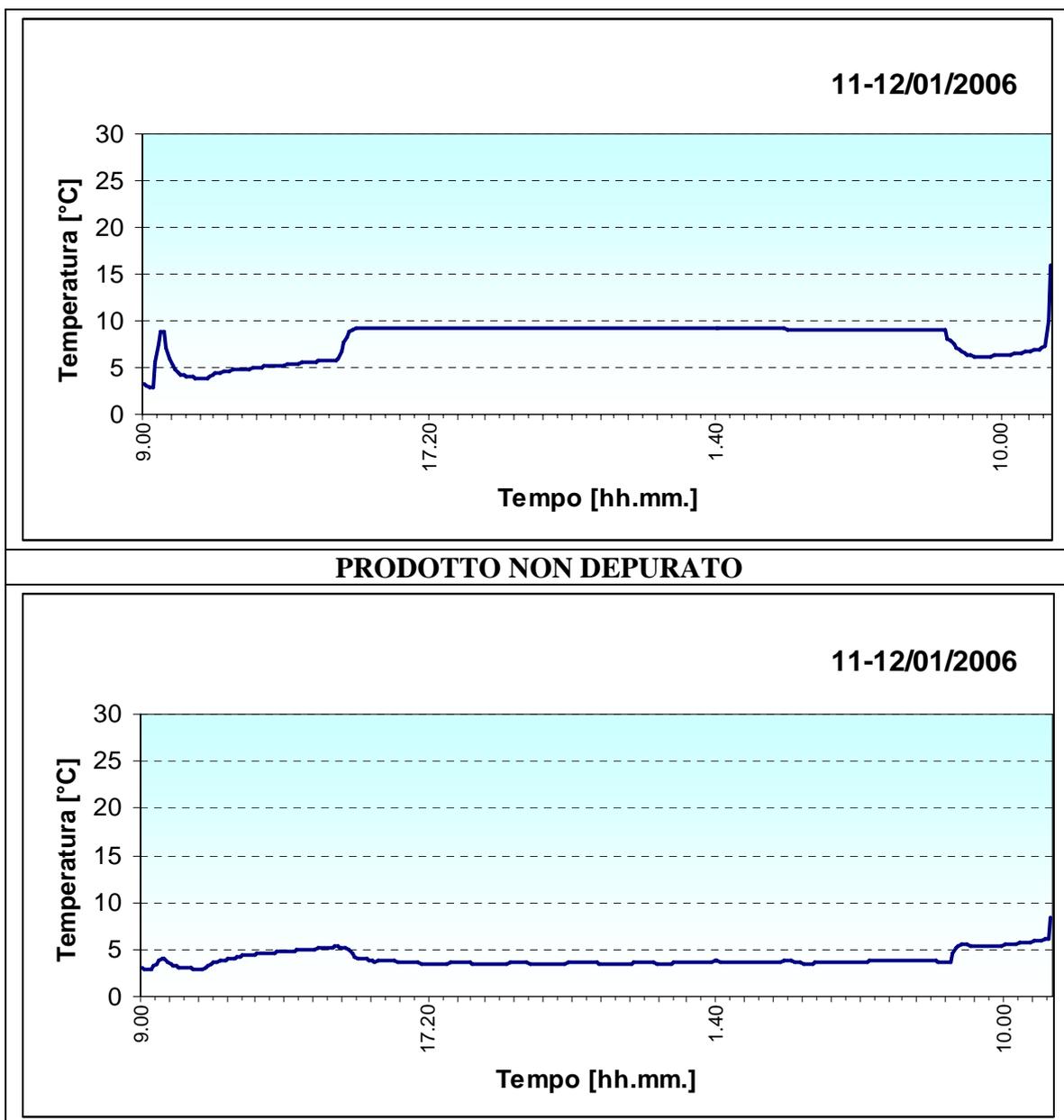


Figura 9 – Temperature rilevate sui campioni oggetto di analisi nel periodo 11 e 12-01-2006

### 3.2.2 Analisi merceologiche

Nel corso della ricerca il prodotto è stato caratterizzato dal punto di vista di parametri quali il contenuto in carne e la presenza di sabbia.

I risultati vengono riportati in Tabella 10:

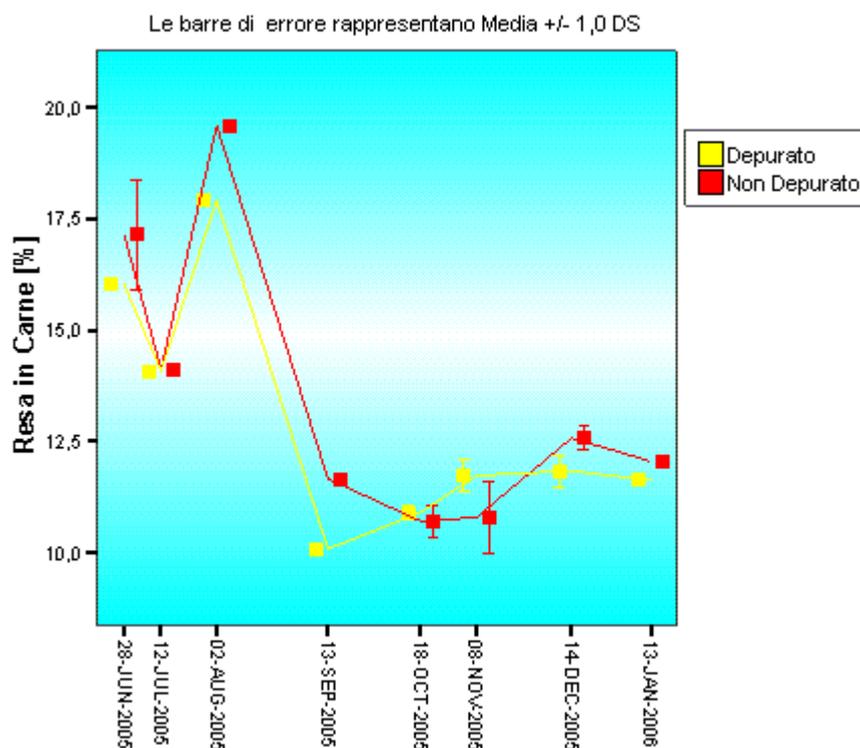
Tabella 10- Valori medi (medie geometriche) resa in carne e contenuto in sabbia delle vongole prima e dopo il processo depurativo, relativamente ai mesi di campionamento

Depurazione			DATA							Totale		
			28-JUN-2005	12-JUL-2005	02-AUG-2005	13-SEP-2005	18-OCT-2005	08-NOV-2005	14-DEC-2005		13-JAN-2006	
Resa in Carne [%]	Depurato	N	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	24,000	
		Media	16,040	14,082	17,918	10,085	10,899	11,733	11,834	11,624	13,027	
		D.S.	,101	,126	,096	,092	,154	,337	,364	,117	2,619	
	Non Depurato	N	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	24,000	
		Media	17,142	14,124	19,586	11,658	10,708	10,793	12,575	12,050	13,579	
		D.S.	1,219	,050	,040	,138	,343	,828	,262	,142	3,101	
	Sabbia [g/1000g]	Depurato	N	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	24,000
			Media	,746	,265	,342	,062	,061	,465	,480	,066	,311
			D.S.	,118	,059	,036	,014	,003	,095	,213	,006	,250
Non Depurato		N	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	24,000	
		Media	,784	,740	1,126	,447	1,471	1,202	,799	1,237	,976	
		D.S.	,151	,028	,077	,092	,345	,084	,112	,395	,363	

### *Contenuto in carne*

Come evidenziabile in Tabella 10 e in Figura 10, l'andamento nel tempo della resa alimentare delle vongole mostra un calo nel passaggio dai mesi estivi a quelli autunnali, probabilmente in relazione alle diverse fasi del ciclo riproduttivo dei molluschi. Considerando i risultati relativi a tutto il periodo considerato si ottiene un valore medio di resa in carne pari a 13%. Rispetto a quanto avviene nel circuito commerciale dei mitili, nel caso delle vongole veraci la resa commerciale non viene usata come parametro qualitativo negli scambi commerciali, per cui i dati reperibili in bibliografia sono scarsi; osservando però dati di precedenti sperimentazioni mirate a studiare la depurabilità di *Tapes philippinarum* (Serratore P., 2003) si osservano valori comparabili a quelli rilevati nel corso della presente ricerca, sia in termini di valori assoluti che in termini di andamento stagionale: anche in quel caso si osservarono infatti rese in carne molto più elevate nei mesi estivi, che vedevano poi un calo a partire dal mese di settembre.

Come ci si poteva aspettare, non si evidenziano grosse differenze tra prodotto depurato e non depurato relativamente a questo parametro.



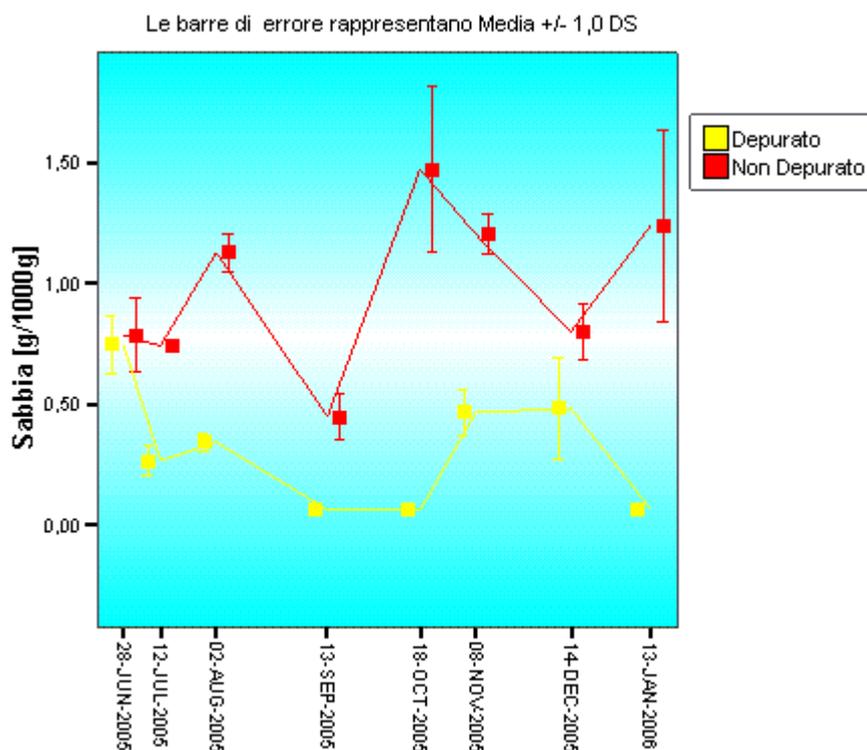
**Figura 10- Resa alimentare nelle vongole, depurate e non depurate, nel periodo in considerazione, espressa come % del contenuto in carne**

#### *Contenuto in sabbie*

Come evidenziabile in Tabella 10 e in Figura 11, si denota come il processo di depurazione sia efficace nel ridurre la quantità di sedimenti con diametro inferiore ai 53 micron; relativamente all'influenza esercitata dalla stagionalità si evidenziano livelli più alti nei mesi di ottobre e novembre, periodi caratterizzati da condizioni meteo marine avverse e, quindi, da una intensa risospensione dei sedimenti e da un maggiore apporto di origine terrigena. Si denota comunque come in questi casi il processo depurativo sia ampiamente in grado di dimezzare il quantitativo di sedimenti nel prodotto.

Va sottolineato come questo parametro sia a nostro avviso importante nel caratterizzare le vongole, e quindi meriti una definizione, anche a livello quantitativo, nel Disciplinare di produzione delle vongole veraci. Un limite che potrebbe essere preso in considerazione è quello introdotto in bibliografia nel lavoro di Giulini et al., 2000, pari 1 g di sabbia/1000 g di vongole *Chamelea gallina* fresche, che si potrebbe estendere anche alle vongole veraci.

Si evidenzia come tutti i campioni depurati rientrano all'interno del limite proposto, ed, in particolare, il quantitativo di sabbia si sia collocato quasi sempre al di sotto dei 0,5 g/1000g di prodotto, per cui si ritiene di poter evidenziare una buona qualità merceologica per questo parametro.



**Figura 11- Quantità di sabbia presente nei molluschi, sia depurati che non depurati, nel periodo in considerazione, espressa in g/1000 g**

Al fine di valutare se esistessero delle differenze significative tra prodotto depurato e non depurato, per quanto riguarda i parametri merceologici indagati, si è proceduto all'analisi della significatività attraverso l'applicazione di un test inferenziale non parametrico: U di Mann Whitney (MW).

I risultati sono riportati in Tabella 11.

**Tabella 11 - Analisi della significatività delle differenze tra valori dei parametri merceologici nel prodotto depurato e non depurato mediante test U di Mann Whitney**

	Test <sup>a</sup>			Sig. Asint. a 2 code
	U di Mann-Whitney	W di Wilcoxon	Z	
Resa in Carne [%]	244,000	544,000	-,907	,364
Sabbia [g/1000g]	33,000	333,000	-5,258	,000

a. Variabile di raggruppamento: Depurazione

Come evidenziabile anche dalle Figura 10 e Figura 11, le differenze esistenti tra prodotto depurato e non depurato relativamente al parametro “quantitativo in sabbia” sono statisticamente significative, mentre non lo sono quelle relative al parametro “resa in carne”. Quindi il processo depurativo risulta una discriminante importante nell'accrescere la qualità

merceologica del prodotto, determinando una diminuzione statisticamente significativa nel contenuto in sabbia dei molluschi, mentre non influenza la resa in carne.

### 3.2.3 Analisi nutrizionali

Nel corso della ricerca il prodotto è stato caratterizzato dal punto di vista di parametri chimico-nutrizionali quali la percentuale in proteine, in lipidi, in acqua, in carboidrati ed in ceneri. Tali determinazioni sono state introdotte nella sperimentazione allo scopo di evidenziare eventuali correlazioni con la stagionalità e/o con gli altri parametri analitici ricercati, mentre non sono state indagate le influenze del processo depurativo, visto che non dovrebbe modificare le caratteristiche nutrizionali dei molluschi.

I risultati vengono riportati in Tabella 12:

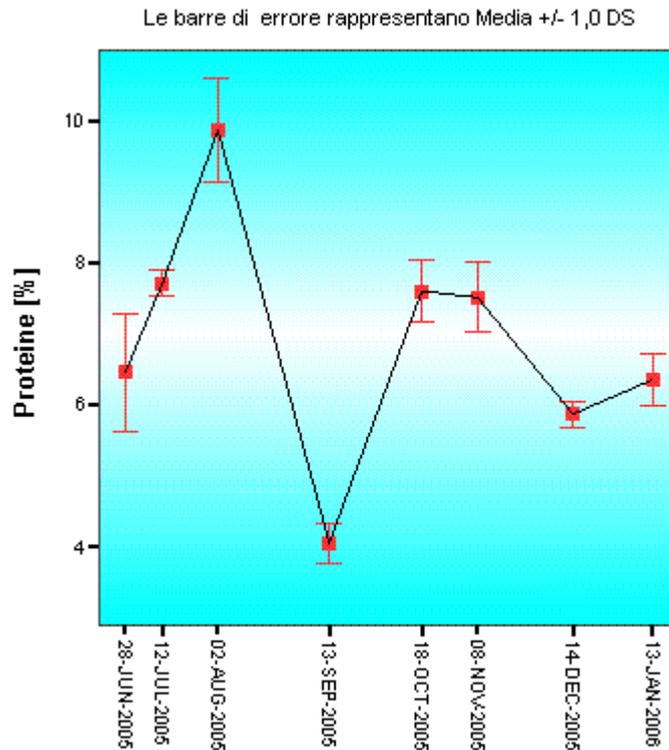
**Tabella 12- Valori medi (medie geometriche) dei parametri nutrizionali delle vongole, relativamente ai mesi di campionamento**

DATA		Umidità [%]	Proteine [%]	Grassi [%]	Ceneri [%]	Carboidrati [%]	Valore Energetico [Kcal]	Valore Energetico [KJ]
28-JUN-2005	N	3	3	3	3	3	3	3
	Media	79,8	6,4	1,9	2,0	9,9	79,9	334,3
	D.S.	,1	,8	1,0	,1	1,6	5,3	22,0
12-JUL-2005	N	3	3	3	3	3	3	3
	Media	81,8	7,7	,6	3,0	6,9	62,2	260,4
	D.S.	,3	,2	,0	,5	,8	2,2	9,3
02-AUG-2005	N	3	3	3	3	3	3	3
	Media	81,9	9,9	1,0	2,3	5,0	66,8	279,5
	D.S.	,1	,7	,2	,1	,8	,9	3,8
13-SEP-2005	N	3	3	3	3	3	3	3
	Media	87,3	4,1	1,0	2,1	5,6	45,9	192,2
	D.S.	,0	,3	,7	,0	,8	3,6	14,9
18-OCT-2005	N	3	3	3	3	3	3	3
	Media	84,1	7,6	,3	2,2	5,8	54,5	228,1
	D.S.	,1	,4	,3	,1	,6	1,9	7,8
08-NOV-2005	N	3	3	3	3	3	3	3
	Media	83,4	7,5	1,0	2,4	5,7	60,3	252,1
	D.S.	,2	,5	,2	,1	1,0	,5	2,1
14-DEC-2005	N	3	3	3	3	3	3	3
	Media	82,8	5,9	,5	2,5	8,3	58,9	246,4
	D.S.	,2	,2	,0	,2	,4	,4	1,9
13-JAN-2006	N	3	3	3	3	3	3	3
	Media	82,3	6,3	,5	2,3	8,5	61,4	257,1
	D.S.	,2	,4	,0	,0	,3	,6	2,5
Totale	N	24	24	24	24	24	24	24
	Media	82,9	6,9	,8	2,4	7,0	61,2	256,3
	D.S.	2,1	1,7	,6	,3	1,8	9,6	40,0

### *Contenuto in Proteine*

Come evidenziabile in Figura 12, il contenuto in proteine fluttua tra valori del 4% e 7% sulla parte edibile, senza mostrare andamenti legati alla stagionalità; si osserva come la percentuale minima di proteine si registri nel mese di settembre, in corrispondenza del massimo valore registrato in termini di percentuale in acqua.

Rispetto a dati sulla composizione nutrizionale delle vongole indicati in bibliografia (INRAN, 2000), che evidenziano contenuti medi in proteine variabili tra l'8% e il 15%, si denota quindi un contenuto proteico leggermente inferiore.

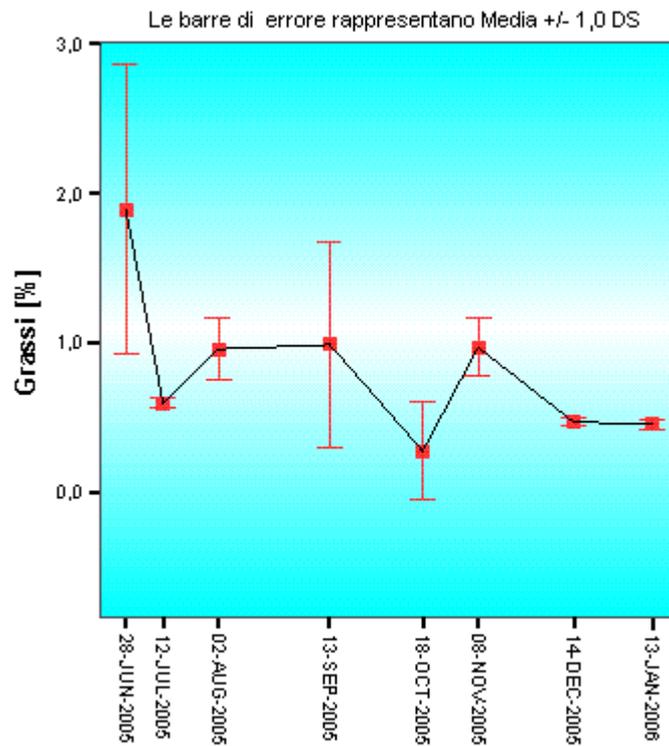


**Figura 12-** Quantità di proteine rilevate nei molluschi nel periodo in considerazione, espressa in %.

### *Contenuto in Lipidi*

Come evidenziabile in Figura 13, il contenuto in lipidi vede, per quasi tutto il periodo considerato, contenuti medi oscillanti attorno allo 0.7-1%, salvo un picco nel mese di giugno, con valori maggiori al 2% di lipidi totali, riflettendo l'andamento del contenuto in acqua, che vede valori minimi in corrispondenza di questo mese. Confrontando tali dati con quelli relativi alla composizione nutrizionale delle vongole indicati in bibliografia (INRAN, 2000), che evidenziano contenuti variabili tra l'1% ed il 2%, i quantitativi si collocano all'interno dei valori medi prevedibili.

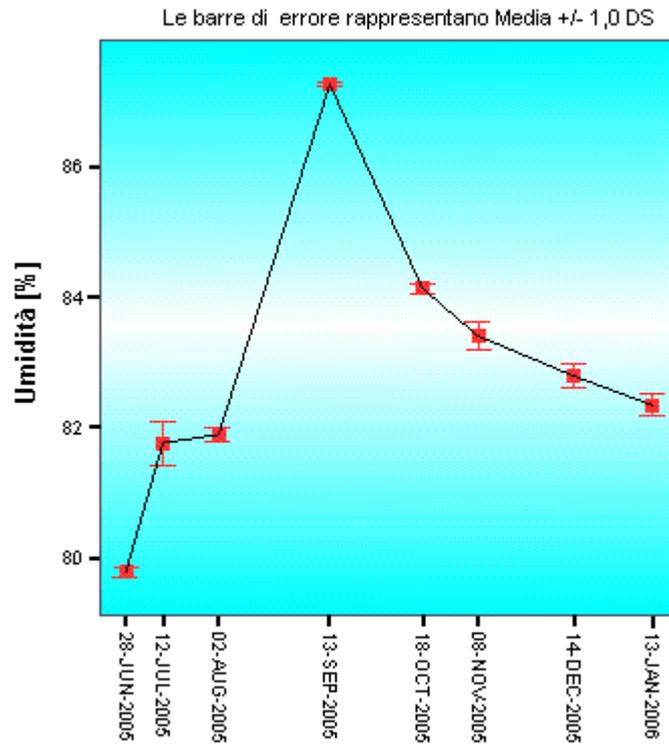
Generalmente il contenuto in lipidi dei prodotti ittici, tra i parametri nutrizionali, è il parametro più variabile, essendo influenzata da fattori quali momento del ciclo riproduttivo, ambiente e alimentazione dell'animale, ma osservando i dati rilevati nel corso dei campionamenti effettuati non si sono rilevate grosse variazioni in questo senso: probabilmente l'habitat di valle in cui vengono raccolti questi molluschi, caratterizzato da condizioni più stabili rispetto al mare aperto, contribuisce a stabilizzare questo valore rispetto alla variabile dettata dalla stagionalità.



**Figura 13-** Quantità di lipidi rilevati nei molluschi nel periodo in considerazione, espressa in %.

*Contenuto in Acqua*

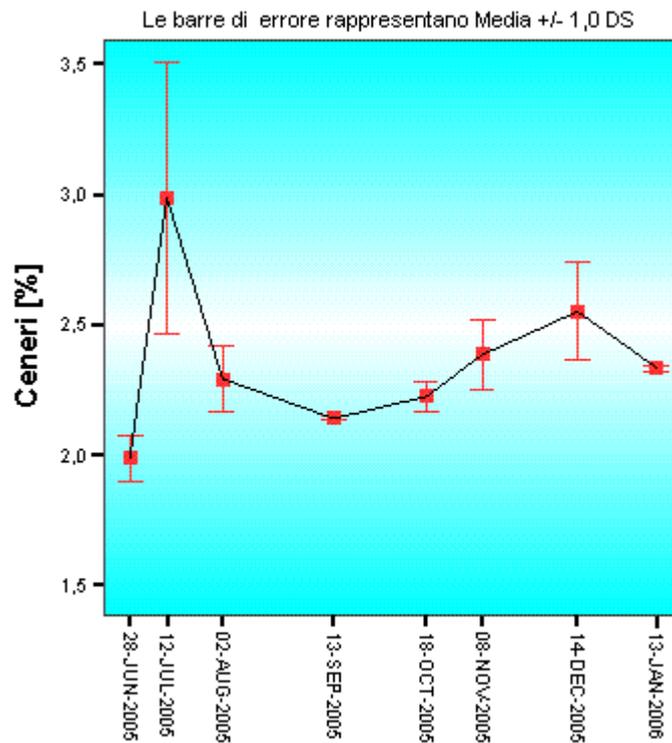
La percentuale in acqua nel corso del periodo considerato, come da Figura 14, mostra valori oscillanti dal 79% all'87%; il picco minimo si evidenzia in corrispondenza del mese di giugno, periodo in cui si osservano i massimi livelli in lipidi totali.



**Figura 14- Umidità rilevata nei molluschi nel periodo in considerazione, espressa in %.**

#### *Contenuto in Ceneri*

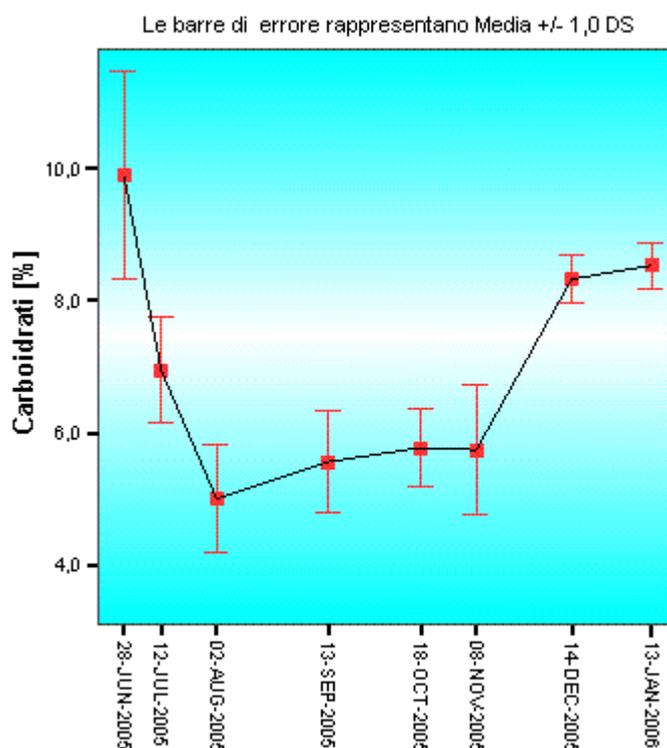
Il contenuto in ceneri, come mostrato in Figura 15, si è mantenuto costante per tutto il periodo considerato, con valori compresi tra 2% e 2,7%, che confrontati con i contenuti medi di 2%-2,5% indicati in bibliografia (INRAN, 2000) evidenziano una situazione di normalità.



**Figura 15-** Quantitativo di ceneri rilevato nei molluschi nel periodo in considerazione, espresso in %.

#### *Contenuto in carboidrati*

Il contenuto in carboidrati, nel corso del periodo considerato, come evidenziabile dalla Figura 16, mostra valori variabili tra il 4% ed il 9% circa. Rispetto ai contenuti medi del 2%-2,5% indicati in bibliografia (INRAN, 2000), tali valori sono molto più elevati: sarebbe interessante, in una successiva sperimentazione, caratterizzare questo parametro globale in termini di fibre, zuccheri disponibili e carboidrati disponibili.



**Figura 16-** Quantitativo di carboidrati rilevato nei molluschi nel periodo in considerazione, espresso in %.

### 3.2.4 *Analisi microbiologiche*

Nel corso della sperimentazione il prodotto è stato caratterizzato per una serie di parametri microbiologici. La scelta del profilo microbiologico da ricercare è stata fatta sulla base di diverse considerazioni, relative ai parametri cogenti ed ad altri indicatori ritenuti significativi nel qualificare il prodotto. I dati ottenuti relativamente a tali parametri microbiologici sono riportati in Tabella 13.

**Tabella 13-** Valori medi (medie geometriche) dei parametri microbiologici delle vongole, prima e dopo il processo depurativo, relativamente ai mesi di campionamento

Depurato		data								
		28-JUN-2005	12-JUL-2005	02-AUG-2005	13-SEP-2005	18-OCT-2005	08-NOV-2005	14-DEC-2005	13-JAN-2006	
Enterococchi [ufc/g]	NO	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	<10	43,09	180,49	<10	21,54	1888,20	34,76	<10
		D.S.	5,774	47,258	219,621	69,282	20,817	1250,333	26,458	5,774
	SI	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	<10	<10	<10	<10	<10	138,21	<10	<10
		D.S.	,000	5,774	15,275	69,282	,000	64,291	10,000	,000
Conta totale germi mesofili aerobi [ufc/g]	NO	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	3,11E+003	1,59E+004	1,62E+004	1,53E+004	1,93E+004	1,96E+004	9,52E+003	1,26E+003
		D.S.	1,528E+003	2,000E+003	2,309E+003	1,007E+004	8,083E+003	3,555E+004	1,793E+004	9,995E+003
	SI	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	2,71E+004	2,71E+004	1,74E+004	2,96E+004	6,42E+003	1,59E+003	2,00E+003	7,37E+003
		D.S.	2,022E+004	1,663E+005	6,658E+004	1,528E+003	4,041E+003	5,774E+002	0,000E+000	9,018E+003
Conta totale germi a 20°C in PCA salato [ufc/g]	NO	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	1,82E+003	4,34E+003	4,76E+003	7,96E+003	2,80E+002	5,45E+003	1,59E+004	2,19E+002
		D.S.	1,000E+003	7,703E+003	5,686E+003	9,504E+003	1,094E+003	3,000E+003	5,774E+003	1,323E+002
	SI	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	2,00E+004	6,21E+003	2,29E+003	3,00E+004	6,21E+001	1,26E+001	1,44E+003	1,78E+002
		D.S.	4,041E+004	1,513E+004	2,646E+003	9,539E+003	1,528E+001	5,774E+000	5,000E+002	1,353E+002
Coliformi Fecali [MPN/100g]	NO	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	230,00	429,51	391,40	242,63	446,53	2400,00	594,59	62,57
		D.S.	,000	92,376	298,664	23,094	280,238	,000	520,032	11,547
	SI	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	99,06	142,16	58,09	<20	50,40	218,15	36,84	<20
		D.S.	17,321	23,094	17,321	25,166	34,641	33,524	17,321	,000
Escherichia coli [MPN/100g]	NO	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	226,62	429,51	113,75	98,92	295,95	1956,39	594,59	46,42
		D.S.	5,774	92,376	86,603	17,321	150,111	635,085	520,032	5,774
	SI	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	<20	50,40	48,20	<20	36,84	130,33	36,84	<20
		D.S.	,000	23,094	17,321	11,547	17,321	31,054	17,321	,000
Listeria monocytogenes [MPN/g]	NO	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3
		D.S.	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
	SI	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	<3	<3	<3	<3	<3	<3	<3	,00
		D.S.	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
Salmonella [in 25 g]	NO	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	non rilevata							
		N	3	3	3	3	3	3	3	3
SI	N	3	3	3	3	3	3	3	3	
	Media	non rilevata								
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	
Vibrio parahaemolyticus [in 50g]	NO	N	3	3	3	3	3	3	3	3
		Media	non rilevata							
		N	3	3	3	3	3	3	3	3
SI	N	3	3	3	3	3	3	3	3	
	Media	non rilevata								
	N	3	3	3	3	3	3	3	3	

### Parametri microbiologici indicati dalla normativa vigente

#### Escherichia Coli

Il vecchio D.Lgs. di riferimento per il settore, n° 530 del 30 dicembre del 1992, è stato recentemente sostituito dal Regolamento CE n. 2073/2005 del 15/11/2005; al momento della conduzione delle prove era ancora in vigore il D.Lgs. n° 530, per cui ci si è riferiti ai criteri dettati da tale normativa.

Per questo parametro, sia il nuovo Regolamento CE n. 2073/2005, sia il D.Lgs. 530/92 prevedono una quantità massima inferiore a 230 cellule/100g, espressa in MPN/100g, relativamente al prodotto pronto al consumo, e limiti di 4600 cellule/100g per il prodotto da destinare al processo depurativo.

Nel corso di tutto il periodo della sperimentazione il valore di *Escherichia coli* si è mantenuto entro il livelli di riferimento indicato dalla Normativa vigente, sia in riferimento ai limiti indicati per il prodotto non depurato che rispetto a quelli indicati per il prodotto destinato al consumo, come evidenziabile in Figura 17.

Considerando i valori registrati per il prodotto non depurato, i valori più elevati si rilevano nei mesi di novembre e dicembre, probabilmente a causa di condizioni meteo marine avverse; questa supposizione può trovare conferma anche nel contenuto in sabbia nel prodotto non depurato, che nei mesi invernali mostrava i valori più elevati.

Anche in precedenti sperimentazioni mirate a studiare la depurabilità di *Tapes philippinarum* (Serratore P., 2003) era stato evidenziato come il periodo più “critico” per quanto riguarda i valori di *Escherichia coli* fosse quello di novembre e dicembre, ed anche nel contesto di quella sperimentazione il processo depurativo si mostrava efficace nell’abbattere il carico microbico fino a valori di conformità.

E’ interessante confrontare l’andamento nel tempo del conteggio di *Escherichia coli* per il prodotto depurato e non depurato, è infatti evidente l’efficacia del processo depurativo effettuato sul prodotto, che mostra valori limitati di *Escherichia coli* dopo depurazione anche partendo da valori del microrganismo non irrilevanti nel prodotto appena pescato.

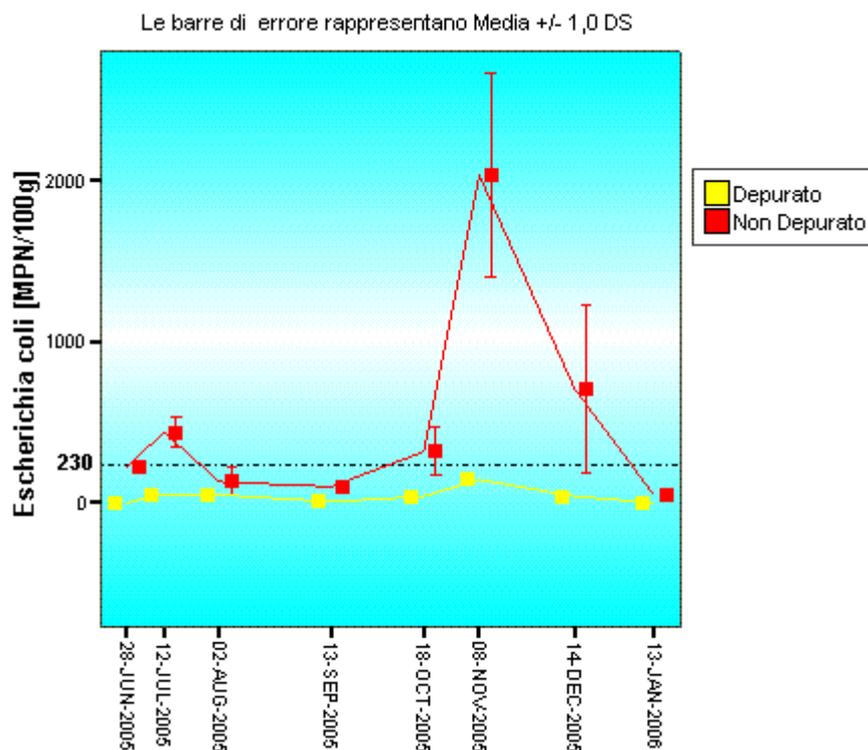


Figura 17- Andamento nel tempo del conteggio di *Escherichia Coli*, prima e dopo il processo depurativo, espresso in MPN su 100 g di vongole.

### *Salmonella*

Nei campioni di molluschi analizzati nel corso della sperimentazione, sia prima che dopo il processo depurativo, si è sempre registrata l’assenza di *Salmonella spp.* in 25 g di prodotto, come indicato dalla Normativa vigente.

### Altri parametri microbiologici caratterizzanti il prodotto

#### Coliformi fecali

Per questo parametro, il D.Lgs. 530/92 prevedeva una quantità massima inferiore a 300 cellule/100g (espressa in MPN/100g) nel prodotto da destinare al consumo, e 6000 cellule/100g nel prodotto da sottoporre a processo depurativo. Pur essendo stato eliminato dai parametri cogenti, abbiamo monitorato nel tempo il valore di questo gruppo microbico, ed i risultati sono esposti in Figura 18.

Nel corso di tutto il periodo della sperimentazione, il valore di Coliformi fecali si è sempre mantenuto entro i livelli di riferimento precedentemente indicati dal D.Lgs. 530/92, sia in riferimento ai limiti indicati per il prodotto non depurato che rispetto a quelli indicati per il prodotto destinato al consumo. In generale, sia l'andamento nel tempo dei Coliformi fecali che l'influenza esercitata dal processo di depurazione su questi microrganismi riflette l'andamento rilevato in *Escherichia coli*: si evidenziano infatti i valori più elevati nei mesi di novembre e dicembre per il prodotto non depurato, efficacemente abbassati nel prodotto da destinare al consumo grazie all'efficacia del processo depurativo.

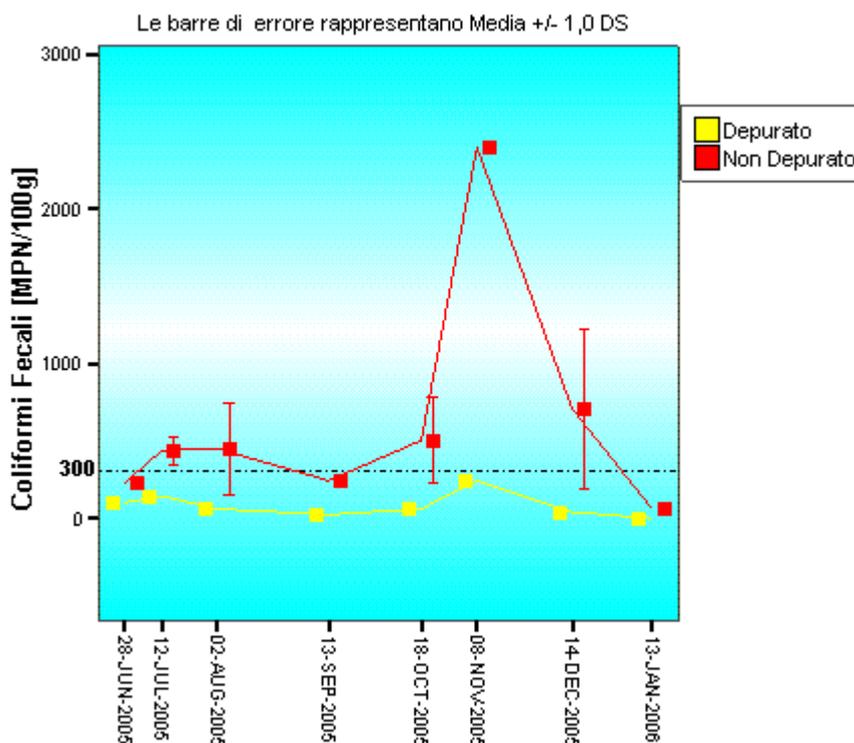


Figura 18- Andamento nel tempo del conteggio dei Coliformi fecali, prima e dopo il processo depurativo, espresso in MPN su 100 g di vongole.

#### *Vibrio parahaemolyticus*

La ricerca di questo microrganismo, benché non prevista dalla Normativa vigente, è stata effettuata considerando l'ampia distribuzione del genere *Vibrio* negli ambienti marini in cui i molluschi bivalvi vengono allevati (Ripabelli et al., 1997) e la riconosciuta attività patogena di alcune specie (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*).

Nel corso della sperimentazione non è mai stata individuata la presenza di *V. parahaemolyticus* in 25 g di molluschi bivalvi.

#### *Listeria monocytogenes*

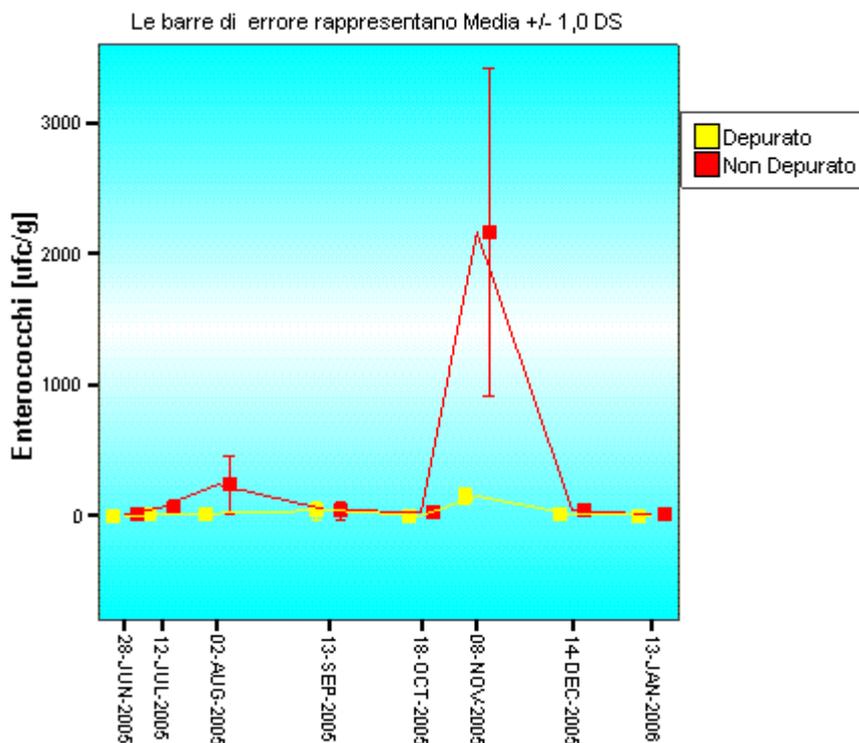
Si è ricercato questo microrganismo in considerazione della sua ampia distribuzione a livello ambientale e della sua spiccata psicofilia.

I campioni di molluschi analizzati nel corso della sperimentazione sono risultati sempre negativi per quanto riguarda la presenza di questo microrganismo in 25 g di prodotto.

#### *Enterococchi*

La ricerca quantitativa degli Enterococchi, come evidenziabile in Figura 19, mostra livelli generalmente bassi di questi microrganismi nelle vongole veraci oggetto di studio, nell'ordine di poche decine di ufc/gr di prodotto depurato e valori poco più elevati nel prodotto prima della depurazione. Interessante è il confronto con l'andamento degli *Escherichia coli* e Coliformi fecali, avendo entrambi i microrganismi il medesimo habitat oro-fecale: si osserva come in corrispondenza dei valori più elevati di *Escherichia coli* e Coliformi fecali, (mesi di novembre) anche il valore degli Enterococchi raggiunga il picco massimo, con quantità nell'ordine di  $10^3$  ufc su gr di prodotto non depurato e  $10^2$  ufc su gr di prodotto depurato.

Inoltre, come sottolineato per *Escherichia coli*, è evidente l'efficacia del processo depurativo effettuato sul prodotto.

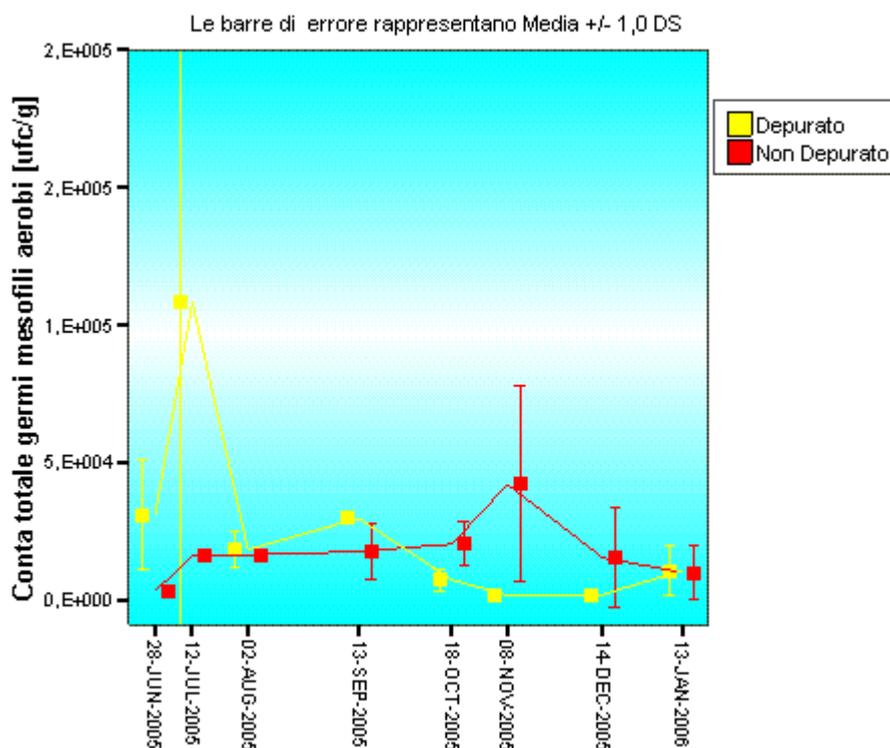


**Figura 19- Andamento nel tempo del conteggio degli Enterococchi, prima e dopo il processo depurativo, espresso in u.f.c. su g di vongole.**

#### *Cariche batteriche totali a 37°C*

In generale, come mostrato in Figura 20, i valori delle cariche batteriche totali a 37°C nel periodo considerato sono oscillati tra  $10^3$  e  $10^4$  ufc su gr di prodotto, senza mostrare grosse variazioni legate al processo di depurazione; come evidenziato nel caso dei batteri ad habitat fecale il periodo in cui si sono registrati i valori più elevati di questi microrganismi è stato quello invernale.

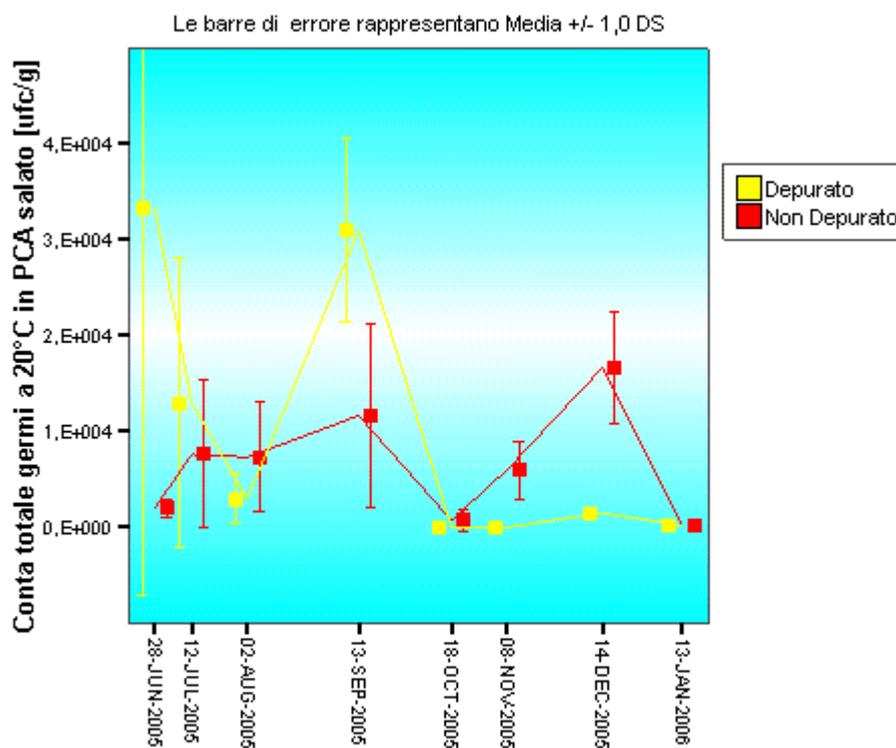
Va sottolineato come il fatto di individuare quantitativi più elevati di cariche batteriche nel prodotto depurato rispetto al prodotto non depurato, come registrato nei mesi di giugno, luglio e settembre, non sia un risultato eclatante, infatti l'abbattimento a carico delle popolazioni ad habitat oro- fecale determinato dal processo depurativo può, in relazione al fenomeno di competizione microbica, favorire la crescita di altre popolazioni batteriche di tipo ubiquitario, non aventi comunque influenza sulle caratteristiche igienico sanitarie e qualitative dei molluschi.



**Figura 20- Andamento nel tempo del conteggio dei Germi mesofili aerobi, prima e dopo il processo depurativo, espresso in u.f.c. su g di vongole.**

#### *Cariche batteriche totali a 20°C*

Come mostrato in Figura 21, in linea generale i valori di carica batterica a 20°C non mostravano grosse variazioni legate al processo di depurazione né alla stagionalità. E' interessante osservare come in corrispondenza del campionamento in cui le vongole depurate mostravano valori di *Escherichia coli* elevati (nel mese di novembre), si siano misurati livelli minimi di carica batterica a 20°C per il periodo considerato. Questo potrebbe essere collegato ai diversi habitat ottimali per le due popolazioni microbiche: i fattori ambientali che hanno favorito lo sviluppo di *Escherichia coli* hanno probabilmente determinato condizioni sfavorevoli allo sviluppo di batteri psicofili.



**Figura 21-** Andamento nel tempo del conteggio dei Germi aerobi a 20°C, prima e dopo il processo depurativo, espresso in u.f.c. su g di vongole.

Al fine di valutare se esistessero delle differenze significative tra prodotto depurato e non depurato, per quanto riguarda i parametri microbiologici indagati, si è proceduto all'analisi della significatività attraverso l'applicazione di un test inferenziale non parametrico: U di Mann Whitney (MW).

I risultati sono riportati in Tabella 14:

**Tabella 14- Analisi della significatività delle differenze tra valori dei parametri microbiologici nel prodotto depurato e non depurato mediante test U di Mann Whitney**

Test<sup>a</sup>

	U di Mann-Whitney	W di Wilcoxon	Z	Sig. Asint. a 2 code
Enterococchi [ufc/g]	162,000	462,000	-2,704	,007
Conta totale germi mesofili aerobi [ufc/g]	270,500	570,500	-,362	,717
Conta totale germi a 20°C in PCA salato [ufc/g]	239,000	539,000	-1,012	,312
Coliformi Fecali [MPN/100g]	77,000	377,000	-4,366	,000
Escherichia coli [MPN/100g]	63,500	363,500	-4,654	,000

<sup>a</sup>. Variabile di raggruppamento: Depurato [1=SI ; 0=NO]

Dall'analisi della significatività, è emerso come le differenze esistenti tra prodotto depurato e non depurato relativamente ai parametri microbiologici *Escherichia coli*, Coliformi fecali ed Enterococchi siano statisticamente significative, mentre non lo siano quelle relative alle cariche batteriche, sia a 22 che a 37°C.

Quindi il processo depurativo risulta un discriminante importante nell'accrescere la qualità microbiologica del prodotto, determinando una diminuzione statisticamente significativa nei valori dei batteri indicatori di contaminazione fecale presenti nei molluschi.

### 3.2.5 Analisi biometriche

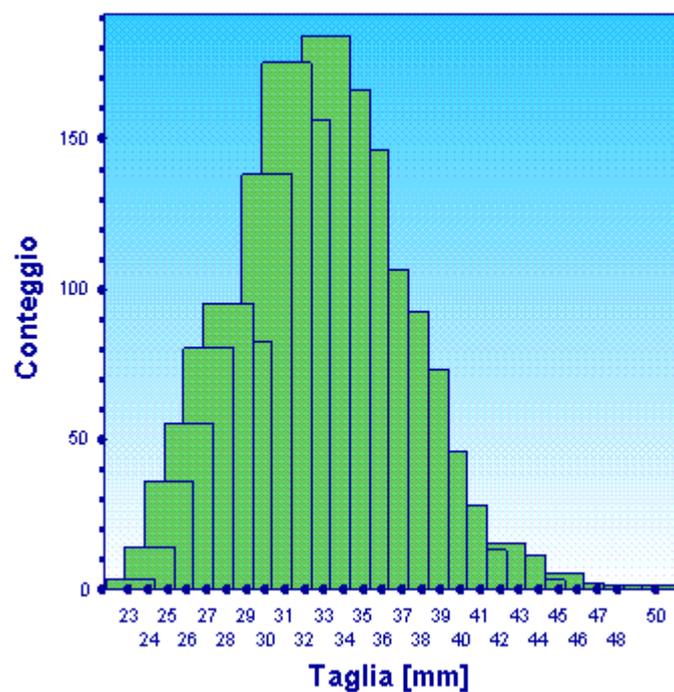
Nel corso della ricerca il prodotto è stato caratterizzato in termini di distribuzione di frequenza delle lunghezze.

In tab Tabella 15 ed in Figura 22 vengono riportati i valori medi delle lunghezze (mm) e le distribuzioni di frequenza delle lunghezze dei campioni utilizzati nel corso del presente lavoro, considerando il totale di tutti i campionamenti eseguiti nel corso della sperimentazione.

**Tabella 15- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel periodo in considerazione, espressa in mm.**

Taglia

data prelievo	N	Media	Deviazione std.	Minimo	Massimo
28-JUN-2005	168	36,80	2,713	27	45
12-JUL-2005	369	27,75	1,974	23	33
02-AUG-2005	262	31,32	2,226	24	37
13-SEP-2005	166	35,82	3,422	30	50
18-OCT-2005	220	32,62	2,022	27	39
08-NOV-2005	226	32,65	2,141	27	39
14-DEC-2005	162	35,40	3,018	29	43
12-JAN-2006	154	36,29	3,453	26	48
Totale	1727	32,69	4,045	23	50



**Figura 22- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nell'intero periodo in considerazione, espressa in mm**

Nelle figure seguenti, da Figura 23 a Figura 30, vengono dettagliati i valori medi delle lunghezze (mm) e le distribuzioni di frequenza delle lunghezze dei campioni in corrispondenza di ogni mese di campionamento :

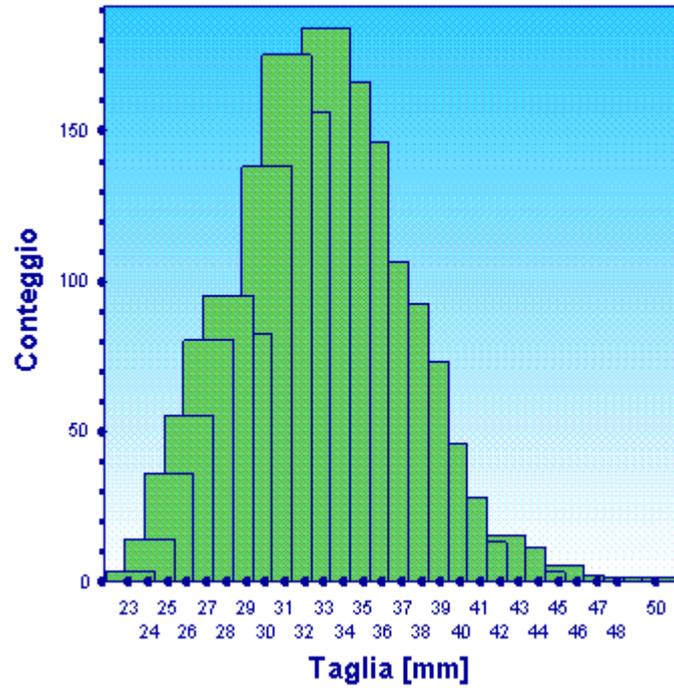


Figura 23- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di giugno 2005, espressa in mm

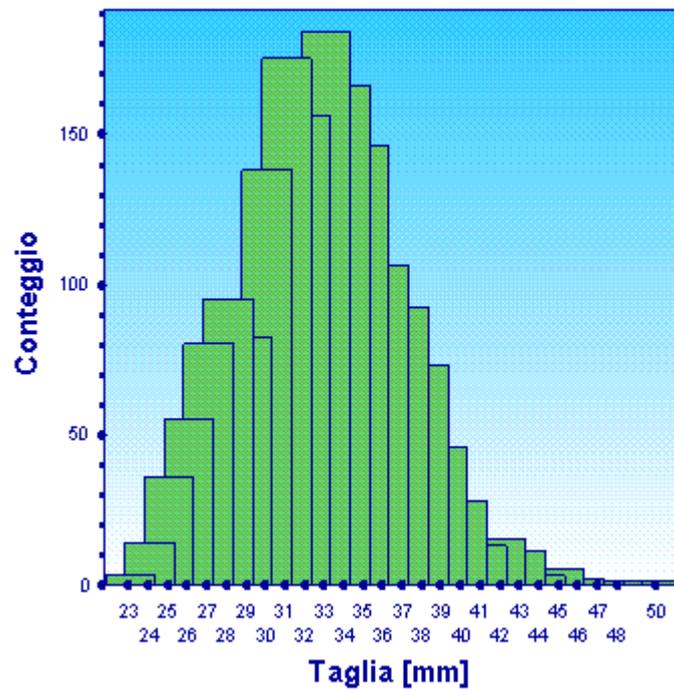
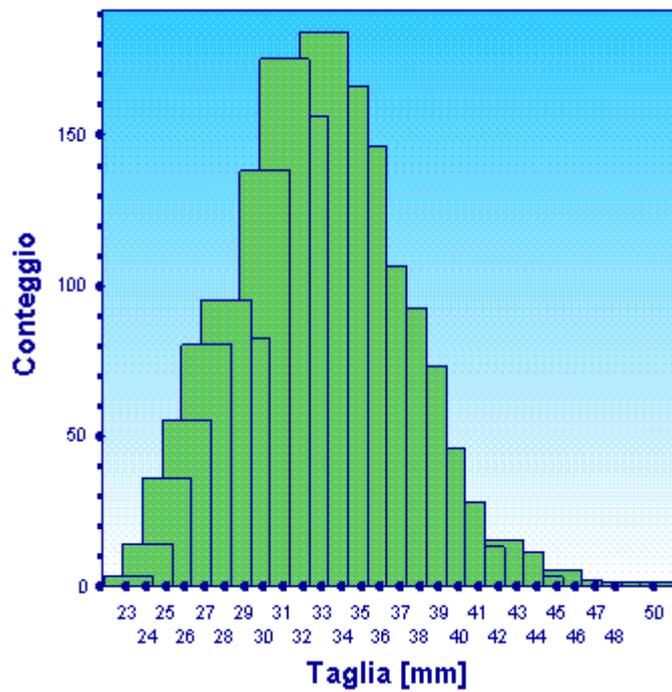
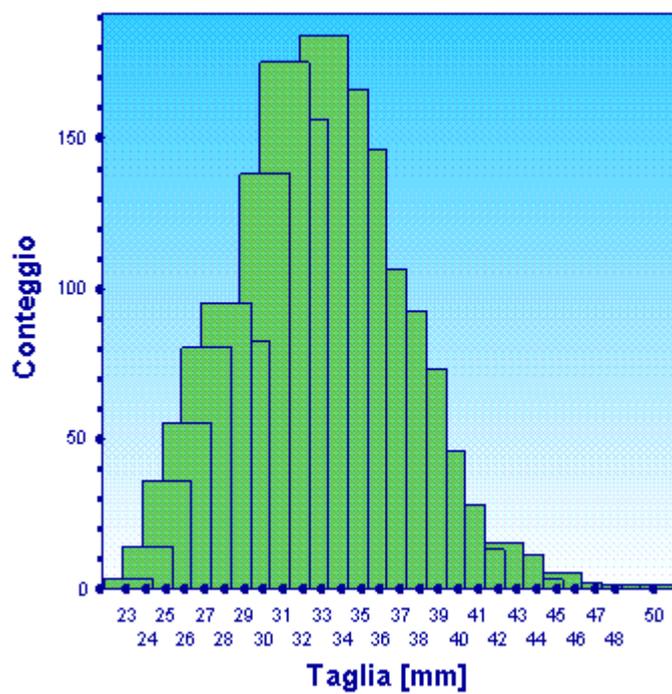


Figura 24- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di luglio 2005, espressa in mm



**Figura 25-** Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di agosto 2005, espressa in mm



**Figura 26-** Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di settembre 2005, espressa in mm

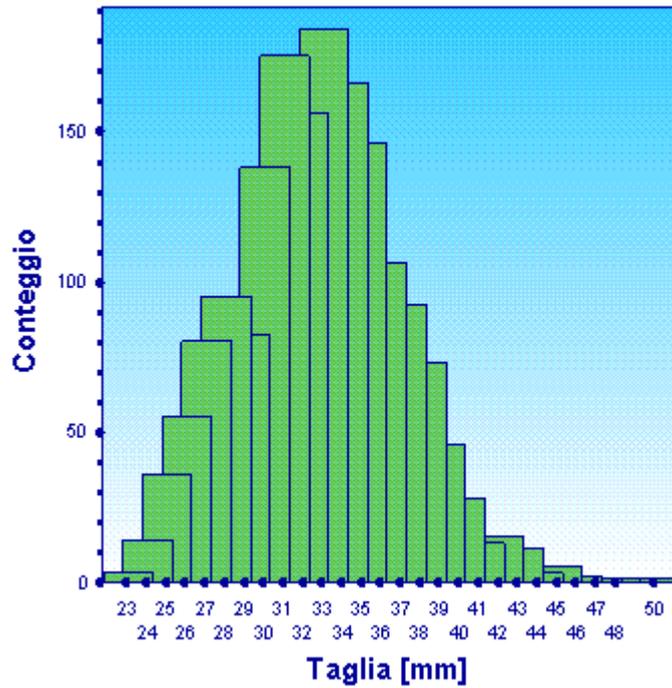


Figura 27- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di ottobre 2005, espressa in mm

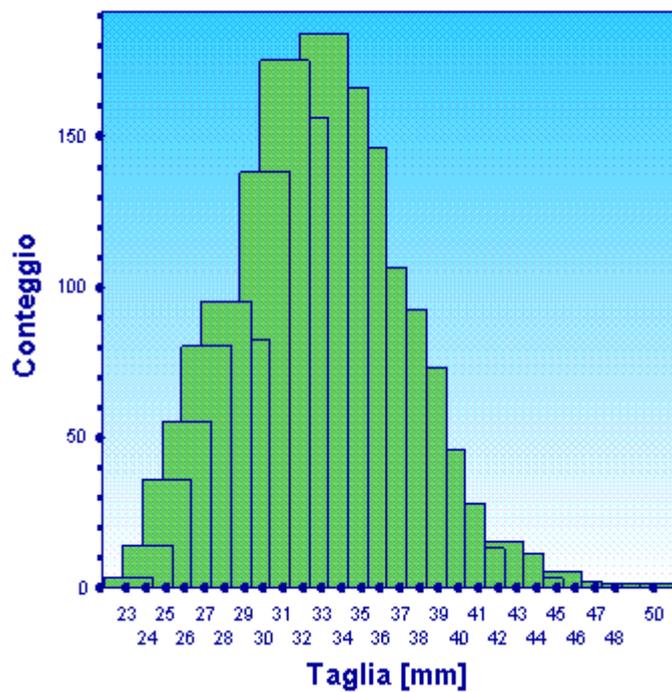


Figura 28- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di novembre 2005, espressa in mm

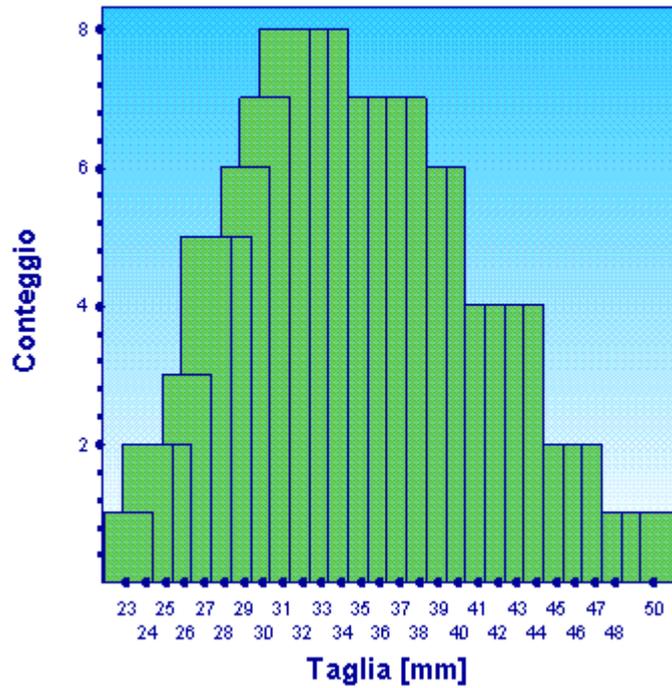


Figura 29- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di dicembre 2005, espressa in mm

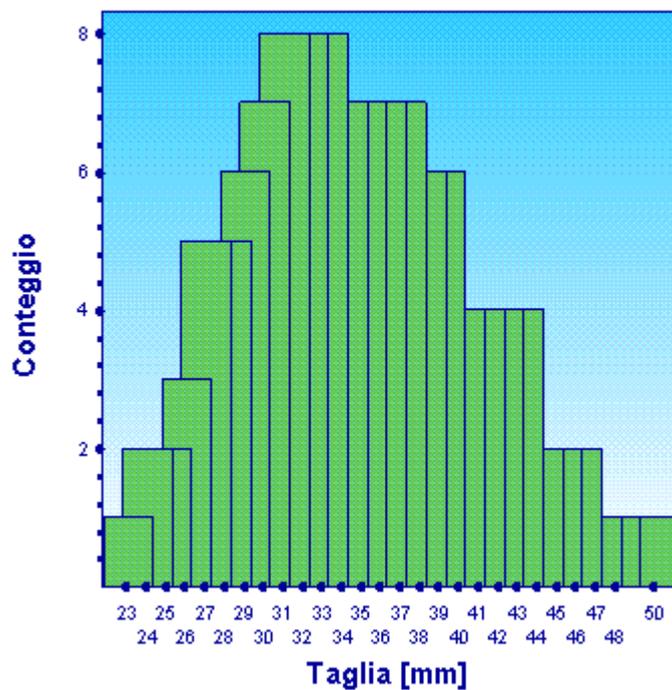


Figura 30- Distribuzione di frequenza delle lunghezze nelle vongole nel corso del campionamento di gennaio 2005, espressa in mm



### *3.2.6 Indagine di mercato*

### **3.3 Definizione di protocolli operativi e di qualità delle vongole veraci allevate in laguna**

I risultati delle fasi precedenti sono stati utilizzati per realizzare i protocolli operativi e di qualità del prodotto che fanno parte integrante del Disciplinare di produzione (vedi Allegato) e rappresentano il fulcro delle attività determinanti per ottenere, e mantenere, una certificazione di qualità.

### **3.4 Definizione di un percorso di certificazione per il prodotto del Consorzio Al.m.e.ca.**

Le valutazioni e i suggerimenti di professionisti del settore agroalimentare, unitamente all'analisi delle esperienze precedenti in questo ambito, hanno permesso di stabilire che la forma migliore di valorizzazione delle produzioni del Consorzio Al.m.e.ca. potesse essere quella di integrare la certificazione volontaria di prodotto con quella di rintracciabilità della filiera agroalimentare. Queste considerazioni hanno portato, come logica conseguenza, alla realizzazione di un Documento Tecnico di Prodotto (DTP) che integrasse in un unico disciplinare di produzione tutta la documentazione richiesta per dimostrare la conformità ad entrambi gli schemi certificativi.

La certificazione volontaria di prodotto agroalimentare utilizza infatti come riferimento documenti normativi, quali norme UNI o ISO, oppure, in mancanza di queste, specifiche tecniche di prodotto, approvate direttamente dal Comitato di certificazione dell'Ente prescelto. In tutti i casi la certificazione prevede la valutazione del sistema qualità, il monitoraggio dei processi di produzione, campionamenti e analisi sul prodotto.

Per quanto concerne la rintracciabilità, che rappresenta un aspetto chiave della legislazione che regola il settore agroalimentare, come la legge dell'Unione Europea 178/2002, tra i diversi schemi disponibili, è stata scelta la norma UNI 10939, che definisce il: Sistema di rintracciabilità nelle filiere agroalimentari - Principi generali per la progettazione e l'attuazione.

Il recepimento di quanto previsto dalle Linee Guida per la redazione della documentazione richiesta per la certificazione di prodotto, dalle specifiche tecniche approvate dal Comitato di certificazione dell'Ente e dagli standard per la rintracciabilità dei prodotti agroalimentari richiesti dalla norma UNI 10939, hanno permesso di elaborare la struttura portante del DTP (Documento Tecnico di Prodotto), all'interno della quale sono poi stati inseriti i contenuti, in relazione alle diverse fasi di avanzamento del progetto.

Certificare un prodotto agroalimentare significa valorizzare le caratteristiche che lo rendono unico, diverso dagli altri, rispettando allo stesso tempo i requisiti previsti dal Documento Tecnico di riferimento. Tali requisiti o specifiche tecniche di certificazione, prevedono la descrizione delle caratteristiche significative e pertinenti del prodotto, il piano dei campionamenti e le verifiche analitiche di controllo. Queste, insieme ad un apparato di supporto descrittivo ed organizzativo delle attività in azienda: gestione delle non conformità, verifiche ispettive interne di controllo, gestione dei fornitori e della documentazione, attività di formazione del personale e valutazione dei dati ai fini del miglioramento, vanno a costituire

un sistema di gestione della qualità del prodotto che, in definitiva, rappresenta la garanzia che si intende fornire al mercato e al consumatore finale.

Per quanto attiene invece allo sviluppo di un sistema di rintracciabilità funzionale ed efficace, i principali obiettivi che lo stesso permette di conseguire sono: la possibilità di documentare la storia o la provenienza del prodotto, di facilitarne l'eventuale ritiro dal mercato, di identificare le parti responsabili all'interno della filiera agroalimentare. In definitiva, fornire maggiori garanzie in termini di qualità e sicurezza e comunicare informazioni ai consumatori e agli stakeholder del settore agroalimentare.

Questo tipo di approccio, più di quello della certificazione del sistema di gestione, rappresentato dalla ISO 9001:2000, permette infatti di valorizzare le caratteristiche dei prodotti considerati e fornire al mercato una serie di garanzie sotto diversi punti di vista: qualitativo, igienico-sanitario, di naturalità, di freschezza, ecc.

Tecnicamente l'attività di verifica di Certificazione condotta dal Certiquality ha previsto le seguenti fasi.

1. Definizione del rapporto contrattuale tra Consorzio Al.m.e.ca. e Ente di Certificazione di parte terza (Certiquality), relativamente agli schemi certificativi individuati e richiesti;
2. Verifica della congruità della documentazione prodotta a supporto dell'intero progetto di certificazione; nella fattispecie, il Documento Tecnico di Prodotto e i documenti ad esso allegati;
3. Conduzione della verifica di certificazione "in campo" sulle attività messe in atto dal Consorzio Al.m.e.ca. per la produzione di vongole veraci nel rispetto di quanto previsto dal disciplinare per la certificazione di prodotto e rintracciabilità di filiera. La verifica ha richiesto due giornate di audit presso la sede e le aree produttive del Consorzio, una dedicata alla certificazione di prodotto ed una alla rintracciabilità di filiera ai sensi della norma UNI 10939, nel corso di quest'ultima, è stato ampiamente approfondito il rapporto tra il Consorzio ed i suoi fornitori principali lungo tutta la filiera, a cominciare dal Centro di Depurazione e Spedizione Molluschi (CDM/CSM).
4. Ottenimento dei certificati di prodotto e di rintracciabilità di filiera emessi dall'Ente di certificazione e recepimento degli spunti di miglioramento segnalati dal Certiquality in previsione delle verifiche periodiche di mantenimento dei certificati medesimi.

## **4.0 DISCUSSIONE**

Alla luce dei risultati esposti nel capitolo precedente è possibile discutere gli aspetti più significativi emersi nel corso della ricerca per i vari aspetti considerati:

### **4.1 Caratterizzazione del sito**

Sebbene le informazioni disponibili, soprattutto dal punto di vista ambientale, risultino incomplete, è possibile tracciare un profilo, sebbene incerto, delle zone in oggetto, ferma restando la necessità di mettere in atto sistemi di controllo ambientale che consentano di monitorare con maggiore attenzione gli effetti dell'ambiente sulla importante produzione locale di molluschi bivalvi. E' comunque notizia recente che al più presto, da parte dell'ARPAV, si provvederà a posizionare in laguna di Caleri una boa munita di sonda per il rilevamento di dati idrologici, così come avviene per altre lagune del delta del Po veneto, quale la Sacca degli Scardovari, in cui importante è la produzione di molluschi bivalvi.

Entrambe le lagune sono interessate dall'apporto di acque dolci, Caleri dall'Adige e Marinetta dal Po di Levante. Tale apporto, oltre a determinare una diminuzione della salinità, può comportare un aumento del rischio di contaminazione di tipo microbiologico. I dati disponibili, incompleti per quanto riguarda le portate dei due canali adduttori nelle lagune, non hanno consentito di evidenziare correlazioni tra questi due fattori, sebbene sia fortemente ipotizzabile un legame in tal senso, mentre i dati pluviometrici fanno ritenere che il periodo più a rischio sia quello di maggiore piovosità, compreso tra i mesi di agosto e novembre. Non possono però escludersi effetti legati ad abbondanti acquazzoni improvvisi, che ormai possono verificarsi in qualsiasi periodo dell'anno, e che possono causare problemi al corretto funzionamento dei sistemi di depurazione urbana.

La presenza di una buona ventilazione, dovuta soprattutto a venti provenienti dal I quadrante, Est Nord Est, sia in frequenza che in intensità, generando moto ondoso anche all'interno delle lagune, favorisce certamente il rimescolamento delle acque e limita l'insorgenza di fenomeni anossici, sebbene questi possano essere favoriti dal perdurare di periodi di calma. La presenza di venti da Ovest, provenienti da terra, può generare invece un ricambio idrico, richiamando all'interno delle lagune le acque più fresche ed ossigenate dal mare, trascinandole fuori quelle più superficiali, meno salate e, nel periodo estivo, più calde.

Il quadro che appare attraverso la lettura dei dati è comunque soddisfacente, sia dal punto di vista ambientale, sia chimico e microbiologico. Le zone di allevamento sono poste nelle aree meno interessate dall'insorgenza di eventuali fenomeni distrofici e i risultati dei monitoraggi effettuati dagli organi di controllo evidenziano una situazione di idoneità alla vita ed al benessere dei molluschi. Così come si evidenzia una generale salubrità dei molluschi stessi, escludendo problemi di contaminazione di carattere chimico da parte di metalli pesanti ed altre sostanze inquinanti, mentre la componente microbiologica si mantiene all'interno dei valori previsti dalla normativa, tranne sporadici episodi di innalzamento dei valori oltre i limiti consentiti per le zone di produzione di tipo B, che comunque non pregiudicano la salubrità del prodotto commercializzato, in quanto questo è inevitabilmente sottoposto a processo di depurazione e a successivi controlli.

### **4.2 Produzione**

### **4.3 *Certificazione di prodotto***

#### **4.4 Indagini merceologiche effettuate sul prodotto**

Dai dati rilevati nel corso della sperimentazione, è emerso come il quantitativo in sedimenti nei molluschi, parametro importante nel caratterizzare la qualità del prodotto, sia influenzato dal processo depurativo, in grado di dimezzare la quantità di sabbia presente nei molluschi appena pescati.

Questo è un dato importante, in quanto permette di “slegare” la qualità del prodotto dalle condizioni meteo-marine e dalla stagionalità, potendo garantire al consumatore ottimi livelli qualitativi dei molluschi in tutti i periodi dell’anno.

#### **4.5 Caratterizzazione nutrizionale del prodotto**

Monitorando i valori nutrizionali dei molluschi nel corso della ricerca, che ha visto campionamenti in tutte le stagioni, si è evidenziato come i valori nutrizionali medi del prodotto siano piuttosto costanti e riflettano i valori medi rintracciabili in bibliografia per questi prodotti ittici.

Va detto che la ricerca del profilo nutrizionale dei molluschi è stato introdotto nella sperimentazione al fine di caratterizzare il prodotto e identificare e eventuali correlazioni con la stagionalità e/o con gli altri parametri analitici ricercati, ma generalmente nelle vongole veraci, rispetto a quante accade per altri molluschi quali i mitili, non influenza le caratteristiche organolettiche del prodotto e di conseguenza non si effettua la ricerca dei parametri nutrizionali nella caratterizzazione commerciale del prodotto.

#### **4.6 Indagini microbiologiche effettuate sul prodotto**

Relativamente alla indagini microbiologiche effettuate, i dati più interessanti ad essere emersi riguardano la correlazione esistente tra i tre parametri microbiologici *Escherichia coli*, Coliformi fecali ed Enterococchi, tutti ad habitat oro-fecale, e la capacità del processo depurativo nell’abbattere tali cariche microbiche, intervento importante soprattutto per quanto concerne il parametro *Escherichia coli*, essendo legato a limiti cogenti di 230 MPN/100g nel prodotto da destinare al consumo.

Da sottolineare anche l’assenza di patogeni quali *Salmonella sp.*, *Listeria monocytogenes* e *Vibrio parahaemolyticus* nel corso di tutti i campionamenti effettuati, sia su prodotto depurato che non depurato, elemento importante nel garantire la sicurezza del prodotto.

### **5.0 CONCLUSIONI**

I molluschi bivalvi sono animali che si nutrono di piccole particelle alimentari presenti nell’acqua e nei sedimenti mediante un meccanismo di filtrazione dell’acqua introdotta attraverso i sifoni.

A seconda delle dimensioni, della specie e della temperatura, i molluschi sono in grado di filtrare quantità variabili di acqua: *Mytilus* filtra 1,5 litri di acqua l’ora a 14 °C circa, e generalmente si ritiene che *Tapes* abbia una capacità filtrante analoga.

La filtrazione è il meccanismo di base dell’alimentazione e della respirazione per i molluschi bivalvi, e la misura di questa attività, che è senza dubbio proporzionata alle dimensioni della massa corporea, è da considerarsi comunque piuttosto intensa. Se questo fatto rappresenta un fattore di rischio potenziale, per l’accumulo di contaminanti chimici o biologici eventualmente presenti nell’ambiente, esso indica comunque che esiste la possibilità

di sottoporre i bivalvi ad un trattamento di depurazione, ovvero di “lavaggio” in acque idonee, per favorire la diminuzione della carica batterica associata.

Nel presente lavoro, sulla base dei dati microbiologici e merceologici ottenuti, si è confermata l'importanza del processo depurativo, sia dal punto vista della sicurezza alimentare da garantire al consumatore, permettendo l'abbattimento di batteri di origine oro-fecale, sia nell'ottica di avere per 365 giorni all'anno un prodotto conforme rispetto ai limiti cogenti e quindi sempre commercializzabile e di buona qualità merceologica in termini di quantitativo in sabbia, che grazie al processo depurativo può essere portata a livelli accettabili anche in condizioni meteo-marine avverse.

I dati analitici ottenuti hanno inoltre permesso una validazione dell'impianto utilizzato nella depurazione delle vongole, visto che in tutti i campionamenti effettuati i dati microbiologici, in particolare quelli relativi ai batteri indicatori di contaminazione fecale, evidenziano l'efficacia del processo depurativo.

## 6.0 BIBLIOGRAFIA

ARPAV, (2005) - Rete SIRAV 06 – Acque di transizione – Rapporto anno 2004

ARPAV, (2006) - Rete SIRAV 06 – Acque di transizione – Rapporto monitoraggio anno 2005

Colwell R.R., Liston J. (1960) - Microbiology of shellfish: bacteriological study of the natural flora of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Appl. Microbiol.*, **8**: 104-109.

Falcinelli B., Varaldo P.E., Toni M., Casolari C., Fabio U. (1989): Ignorance about Listeria. *BMJ*. 299-338.

Franz et al. (1999) – Enterococci at the crossroads of food safety-*Int. J. Food Microbiol.* **47** 1-24.

Giulini G., Mietti N., Rambaldi E., Priore G., Serra S., (2000) – “*Determinazione dei parametri qualitativi del prodotto ittico fresco nazionale, per la definizione di standard di qualità.*” *Biol. Mar. Medit.* **5 (3)**: 2241-2246.

INRAN, (2000)- *Tabelle di composizione degli alimenti*

Mc Lauchlin J., (1987) - *Listeria monocytogenes*: recent advances in the taxonomy and epidemiology of listeriosis in humans. *J. Appl. Bacteriol.*, **63**: 1-11.

Nanni H., Rossi R., Casolari C., Fabio G., Villani D.S., Quaglio P. (1997). *Listeria monocytogenes* in alimenti marini: incidenza e patogenicità. *L'igiene Moderna*: **108**. 163-172

Ottaviani D., Di Noto L., Bacchiocchi I., Rocchegiani E., Bolletta G. (1994) - Contaminazione microbica primaria e secondaria in alimenti ittici congelati. *Industrie Alimentari XXXIII* (1994): 7-10

Serratore P, (2003) “*Studio dell’efficacia del processo di depurazione in Chamelea gallina*”.

Wait D. A., Hackney C. R., Carrick R. J., Lovelack G., Sobsey M. D. (1983) - Enteric bacteria and viral pathogens and indicator bacteria in hard clams. *J. Food Protect.* **46**: 493-496

Allegato: DISCIPLINARE PER LA CERTIFICAZIONE VOLONTARIA DI PRODOTTO E SISTEMA DI RINTRACCIABILITA' DI FILIERA [DTP 01]