

# CARICA BATTERICA ALTERANTE E PUNTEGGIO QIM (QUALITY INDEX METHOD) IN ORATE ALLEVATE

## **SPOILAGE BACTERIA AND QUALITY INDEX METHOD SCORE IN REARED GILTHEAD SEABREAM**

Giuffrida A.<sup>1</sup>, Ziino G.<sup>1</sup>, Donato G.<sup>2</sup>, Giarratana F.<sup>1</sup>, Filiciotto F.<sup>1</sup>, Panebianco A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Messina

<sup>2</sup>Hippocampus s.c.ar.l., Villafranca Tirrena (ME)

### **SUMMARY**

A model to predict the Quality Index Method (QIM) score increase during the storage was set for *Sparus aurata*. In this regard, 126 specimens were analysed during the storage in ice, enumerating the spoilage bacteria in Iron Agar as well as evaluating the QIM. The growth curves and the observed QIM scores were used to calculate (fitting method) the terms *a* and *b* which relate the bacterial growth to the predicted QIM values. The presumptive *Pseudomonas* better explains the QIM trends; furthermore the model was validated with regard to other QIM curves obtained during a temperature fluctuating storage, introducing into the predictive system the secondary model for *Shewanella* spp. (Dalgard, 1995) and *Rasmussen* et al. (2002). In this case, the model produced a good estimation of the observed QIM.

### **Key words**

*Sparus aurata*; Quality Index Method; spoilage bacteria; predictive model.

### **INTRODUZIONE**

La valutazione a punteggio delle caratteristiche di freschezza dei pesci non è certo argomento nuovo. Essa nasce dalla necessità commerciale e scientifica di esprimere sinteticamente ed oggettivamente dette caratteristiche. La più nota tra le realizzazioni di sistemi a punteggio è certamente rappresentata dal Reg. 103/1976 CEE che utilizzava una valutazione aritmetica delle caratteristiche organolettiche, assegnando un punteggio di 3 al pesce risultato freschissimo, 2 a quello fresco, 1 allo stantio e 0 a quello non commestibile. Tale approccio però cozzava con la grande eterogeneità interspecifica del pescato e

fu, infatti, sostituito dal Reg. 2406/1996 CEE che, seppur non con sistema a punteggio, meglio tiene in conto detta variabilità.

A partire dal 1985, alcuni ricercatori (4) della Tasmania Food Research Unit hanno sviluppato un sistema a punteggio definito Quality Index Method (QIM), basato sui c.d. "punti di demerito", ossia sulla possibilità di affidamento ad ogni parametro di valutazione, di un punteggio che ne esprime l'allontanamento dal requisito migliore. Tale sistema, che oggi è il più utilizzato dai ricercatori del settore, è già stato messo a punto per numerose specie di pesci e molluschi cefalopodi, tra cui il Merluzzo (9), l'Aringa (7), l'Acciuga (10), lo Sgombro (1), il Salmone

(12), il Polpo (3), la Seppia e il Totano (13). Nel 2000, alcuni ricercatori spagnoli (7) hanno individuato i parametri necessari per l'applicazione di tale metodologia alla valutazione organolettica dell'Orata conservata in ghiaccio, dimostrando come il limite di accettabilità potesse essere fissato, su una scala da 0 a 15 punti di demerito, a valori di 12-13; tale limite, alle condizioni di conservazione suddette, veniva raggiunto dopo 14-15 giorni. In questo, come in diversi altri contributi, veniva, inoltre, evidenziata un'elevata correlazione tra QIM e giorni di conservazione come pure tra QIM e incremento dei batteri alteranti. Al riguardo, Koutsoumanis e Nykas (2000) (8), hanno individuato, sempre per l'Orata, un "minimal spoilage level" relativo a *Pseudomonas* spp. pari a  $10^7$  ufc/g, verificando, comunque, sia su base modellistica che reale, come tale livello potesse essere raggiunto, nel corso della conservazione a 0°C, in 6 – 7 giorni. Detta modellazione era però relazionata a parametri di valutazione organolettica non sovrapponibili a quelli del QIM il che rende complessa la valutazione dell'eventuale relazione tra i due sistemi.

Alla luce di ciò, scopo del presente lavoro è quello di valutare le relazioni esistenti tra il numero dei batteri alteranti cresciuti su Iron Agar e l'evoluzione del QIM in Orate d'allevamento stoccate in ghiaccio, mediante la creazione di un apposito modello predittivo.

## MATERIALI E METODI

Per la presente indagine sono stati effettuati 6 cicli di campionamento da impianti di acquacoltura siciliani. Ognuno di essi veniva realizzato prelevando 21 esemplari di *Sparus aurata* che, dopo confezionamento sotto ghiaccio, venivano mantenuti a temperatura di  $3 \pm 1^\circ\text{C}$ . Immediatamente dopo l'arrivo in laboratorio (h0) e ad intervalli regolari (3, 7, 10, 14, 17 e 21 giorni), tre pesci venivano sottoposti al prelievo, in condizioni di sterilità, della cute e degli archi branchiali per la determinazione della carica batterica alterante in piastre di Iron Agar (IA - OXOID) incubate a  $25^\circ\text{C} \times 4-5\text{gg}$ . Agli stessi intervalli, si procedeva alla valutazione organolettica con QIM secondo le indicazioni di Huidobro et al (2000) (7). Le curve di crescita dei batteri produttori e non di  $\text{H}_2\text{S}$  (rispettivamente, colonie nere e bianche) venivano analizzate mediante l'equazione di Baranyi e Roberts (1994) (2) al fine di calcolare il tasso di crescita massimo ( $\mu_{max}$ ), il tempo di Lag-fase (*Lag*) e la crescita Massima ( $N_{max}$ ). Detti parametri venivano impiegati per la risoluzione del seguente modello

(eq. 1), implementato per la predizione dei valori di QIM in relazione alle crescite batteriche:

$$\frac{dQIM}{dt} = a \frac{dPs}{dt} + b \frac{dShe}{dt} \quad [1]$$

dove *a* e *b* sono i termini da ottenere mediante fitting tra dati di QIM reali e predittivi, mentre  $\frac{dPs}{dt}$  e  $\frac{dShe}{dt}$  rappresentano le concentrazioni di *Pseudomonas* spp. (presuntivamente le colonie bianche) e di *Shewanella* spp. (presuntivamente le colonie nere) al tempo *t*, calcolate risolvendo numericamente (metodo di Runge e Kutta) l'equazione differenziale di Baranyi e Roberts (1994) (2) grazie all'impiego dei parametri precedentemente calcolati per ogni singola curva di crescita. In questa maniera si ottenevano per ogni andamento del QIM, relativo a ciascun campionamento, un valore di *a* e di *b*. In una seconda fase della sperimentazione, si procedeva ad esaminare, sempre mediante QIM, due gruppi di orate costituite ciascuna da 18 soggetti, e conservati, il primo presso un venditore al dettaglio (gruppo "dettaglio"), mentre il secondo all'interno di un comune frigorifero domestico (gruppo "domestico"). In entrambi i casi, si procedeva a controllare la temperatura dei pesci ponendo all'interno di un esemplare un data logger FT-800 (Econorma s.a.s., Vendemiano, Italia). I relativi andamenti di QIM venivano confrontati con quelli predittivi ottenuti risolvendo l'equazione [1]. In questo caso, però, i termini *a* e *b* venivano impostati usando la media dei valori precedentemente ottenuti ed introducendo, all'interno della suddetta equazione, i modelli secondari per *Pseudomonas* spp. e *Shewanella* spp. proposti, rispettivamente, da Rasmussen et al. (2002) (11) e da Dalgaard (1995) (5), al fine di calcolare il  $\mu_{max}$  in funzione dei valori di Temperatura derivanti dalle misurazioni con data logger. Ancora, la concentrazione iniziale e finale delle popolazioni batteriche e i relativi valori iniziali di *Q* (necessari per l'espressione della Lag-fase, in accordo a Baranyi e Roberts, 1994) venivano ottenuti dalla media di quelli empiricamente osservati. Il confronto statistico tra andamenti di QIM predittivi e osservati era realizzato mediante Root Mean Squared Error (RMSE).

## RISULTATI

Nella Tab. 1 vengono riportati, per ciascun ciclo di campionamento, i valori dei termini *a* e *b* ottenuti mediante fitting con i relativi valori di RMSE e i

Tab. 1: outputs del modello predittivo per il QIM, in relazione ai cicli di campionamento

|                          | Cicli di campionamento |        |        |        |        |        | Medie       |
|--------------------------|------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|-------------|
|                          | 1                      | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      |             |
| <b>a</b>                 | 2.10                   | 2.40   | 2.30   | 2.50   | 2.36   | 0.62   | <b>2.05</b> |
| <b>b</b>                 | 0.35                   | 0.37   | 0.52   | 0.43   | 0.38   | 1.07   | <b>0.52</b> |
| <b>RMS QIM</b>           | 1.077                  | 1.614  | 1.230  | 1.506  | 0.717  | 0.873  |             |
| <b>Log Ps vs QIM 12</b>  | 6.439                  | 6.292  | 8.032  | 7.187  | 7.894  | 7.288  | <b>7.18</b> |
| <b>Log She vs QIM 12</b> | 6.336                  | 6.596  | 7.605  | 5.812  | 9.037  | 8.041  | <b>7.24</b> |
| <b>QIM 12 (ore)</b>      | 297                    | 392    | 278    | 332    | 324    | 237    | <b>310</b>  |
| <b>Ps<sub>max</sub></b>  | 0.0272                 | 0.0114 | 0.0123 | 0.0154 | 0.0102 | 0.0295 |             |
| <b>She<sub>max</sub></b> | 0.0515                 | 0.0145 | 0.0110 | 0.0731 | 0.0206 | 0.0232 |             |

punti d'intersezione (in Log ufc/g) tra cariche batteriche e il valore 12 di QIM. Dalla valutazione di tali dati si evince come, pur in assenza di elevate correlazioni tra andamento predittivo e osservato di QIM, specie per i primi giorni di valutazione, il raggiungimento di valori di QIM pari a 12 si ottenga, mediamente, in presenza di cariche batteriche di *Pseudomonas* pari a circa 7 Log ufc/g. Il valore limite di QIM veniva, inoltre, raggiunto, mediamente, in 310

ore, con variazioni (min: 237 h; max: di 392) dipendenti dalla concentrazione iniziale e dal tasso di crescita batterica. A titolo d'esempio, nelle figure 1 e 2 si riportano i dati delle simulazioni effettuate per 2 cicli di campionamento, dalle quali tali aspetti possono essere meglio evidenziato.

Nelle figure 3 e 4 vengono, invece, mostrati i dati reali e predittivi del QIM relativi ai gruppi "dettaglio" e "domestico". In esse si evidenzia l'ottima pre-

Figure 1 e 2: applicazione del modello predittivo per il QIM a due cicli di campionamento

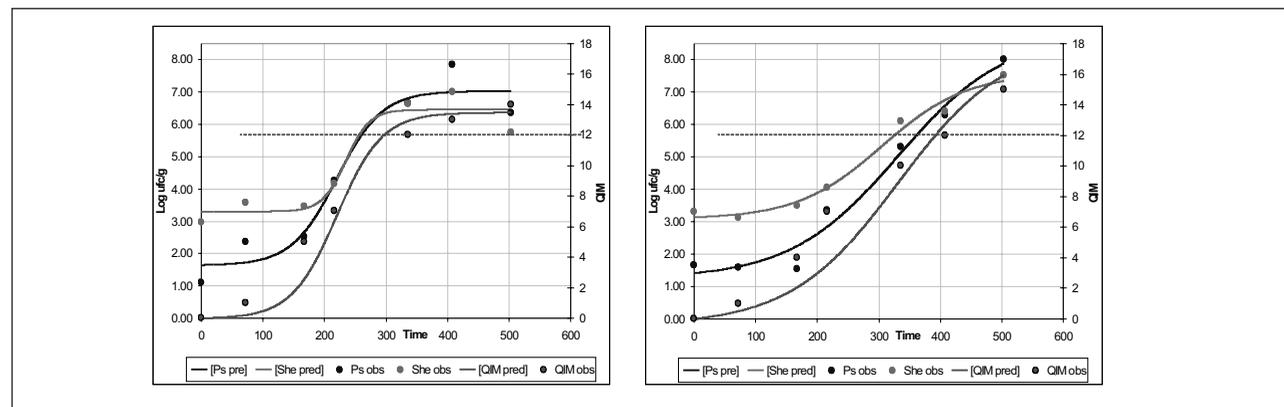
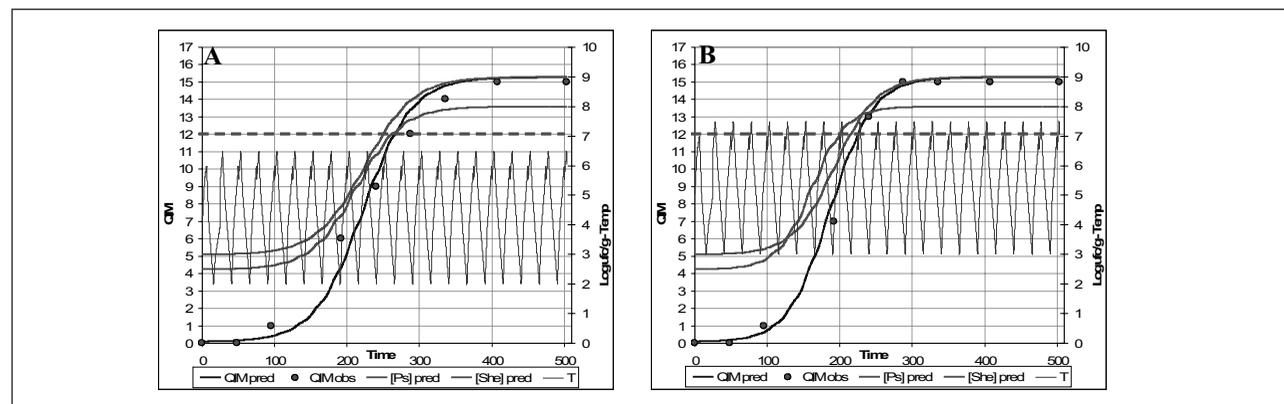


Figure 3 e 4: predizione del QIM per i gruppi "dettaglio" (A) e "domestico" (B)



dittività del modello proposto, per entrambe le situazioni caratterizzate, appunto, da una diversa fluttuazione termica.

## CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Il modello predittivo proposto conferma, innanzitutto, la precisa relazione tra il livello minimo di alterazione per *Pseudomonas* spp., proposto da Koutsoumanis e Nykas (2002) (8) e il raggiungimento del valore limite di QIM. In particolare, come evidenziano i valori dei termini *a* e *b*, sembrerebbe maggiormente influente sull'andamento del QIM, la crescita dei batteri verosimilmente appartenenti al genere *Pseudomonas*, dal momento che i valori "fittati" di *a* sono risultati sempre maggiori di quelli del termine *b*. Ciò, peraltro, è stato messo in evidenza anche dai suddetti Autori che, nel loro modello predittivo, hanno considerato solo tale genere microbico.

Le non elevatissime correlazioni osservate per i 6 cicli di campionamento tra QIM predittivo e osservato (tab. 1) e, di contro, la loro grande correlazione invece accertata utilizzando i parametri di crescita specifici per *Pseudomonas* spp. e *Shewanella* spp. (figg. 3 e 4) portano a ritenere che le popolazioni batteriche alteranti non siano esclusivamente rappresentate da classici SSO (Specific Spoilage Organisms), come peraltro accertato in una precedente ricerca (6).

Il presente modello, dunque, appare interessante consentendo di prevedere, con una certa precisione, il livello di freschezza dei pesci anche laddove sottoposti a temperature fluttuanti di conservazione, pure in presenza di flora alterante eterogenea, ferma restando la necessaria prudenza imposta da imprevedibili interferenze enzimatiche autocotone che tuttavia sono presumibilmente rare nel pesce allevato.

Ricerca cofinanziata nell'ambito del PRIN 2004

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Andrade et al., 1997 (cit. Huidobro et al., 2000)
- 2) Baranyi, J., Roberts, T.A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol.* 23, 277-294.
- 3) Barbosa, A., & Vaz-Pires, P. (2004). Quality Index Method (QIM): Development of a sensorial scheme for common octopus (*Octopus vulgaris*). *Food Control*, 15(3), 161-168.
- 4) Bremner, H.A. (1985). Convenient easy to use system for estimating the quality of chilled seafood, *Fish Processing Bulletin* 7 (1985), pp. 59-70.
- 5) Dalgaard P. (1995). Modelling of microbial activity and prediction of shelf-life for packed fresh fish. *Int. J. Food Microbiol.* 26, 305-317.
- 6) Giuffrida A, Ziino G, Cattaneo P, Donato G, Panebianco A (2007). Caratterizzazione della flora alterante di orate (*Sparus aurata*) allevate, in corso di conservazione. *Atti SISvet*, 51, 377-388.
- 7) Huidobro A., Pastor A., Tejada M. (2000). Quality Index Method Developed for Raw Cilthead Seabream (*Sparus aurata*). *J. Food Sci.*, 7, 1202-1205.
- 8) Koutsoumanis K., Nychas G-J E.(2000). Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf life predictions. *Int. J. Food Microbiol.* 60, 171-184.
- 9) Larsen, E., Heldbo, J., Jespersen, C. M., & Nielsen, J. (1991). Development of a method for quality assessment of fish for human consumption based on sensory evaluation. In H. H. Huss, M. Jakobsen, & J. Liston (Eds.), *Quality assurance in the fish industry*. Elsevier Science Publishers B. V (pp. 351-358).
- 10) Nielsen et al., 1992 (cit. Huidobro et al., 2000)
- 11) Rasmussen S.K.J., Ross T., Olley J., T. McMeekin. (2002). A process risk model for the shelf life of Atlantic salmon fillets. *Int. J. Food Microbiol.* 73, 43-60.
- 12) Sveinsdottir K., Hyldig G., Martinsdottir E, Jørgensen B., Kristbergsson K. (2003). Quality Index Method (QIM) scheme developed for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Quality and Preference* 14, 237-245.
- 13) Vaz-Pires P., Seixas P. (2006). Development of new quality index method (QIM) schemes for cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*). *Food Control* 17, 942-949.