



UNIVERSITÀ DI PISA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE VETERINARIE
Scuola di Specializzazione in
Ispezione degli Alimenti di Origine Animale
Direttore: *Prof.ssa Daniela Gianfaldoni*

Tecnologia di produzione della Polpa di Riccio di mare della specie *Paracentrotus lividus* e controlli sanitari

Relatore

Dott.ssa Roberta Nuvoloni

Correlatore

Dott.ssa Margherita Pisanu

Candidato

Dott.ssa Maria Gavina Tilocca

ANNO ACCADEMICO 2015-2016

Sommario

Introduzione.....	1
01. TASSONOMIA E BIOLOGIA DEL RICCIO DI MARE	3
Specie di interesse	3
Anatomia e Morfologia	5
Biologia e Ciclo riproduttivo	9
02. DISTRIBUZIONE ED ECOLOGIA	11
03. PESCA E NORMATIVA DI RIFERIMENTO	12
Normativa Nazionale e Regionale per la tutela del Riccio di mare	12
04. ALLEVAMENTO.....	16
05. CARATTERISTICHE DELLE GONADI	19
Composizione nutrizionale e caratteristiche organolettiche	20
<i>Shelf-life</i>	22
06. MERCATO E CONSUMI	22
Nel Mondo, in Europa e in Italia.....	22
Produzioni e mercato del Riccio di mare in Sardegna.....	24
Scopo del lavoro.....	26
Tecnologie di produzione della Polpa di Riccio	27
01. TECNOLOGIE TRADIZIONALI.....	27
Prodotto fresco refrigerato	28
Conserve: salagione-essiccazione e trattamento termico.....	31
• Polpa di Riccio trattata con le Alte Temperature	32
• Polpa di Riccio trattata con le Basse Temperature	34
02. TECNOLOGIE INNOVATIVE	36
Alte Pressioni Idrostatiche (<i>High Hydrostatic Pressure</i> o HHP)	36
Controlli sanitari.....	43
01. NORMATIVA COMUNITARIA DI RIFERIMENTO E CONTROLLI UFFICIALI	43
02. DETERMINAZIONI MICROBIOLOGICHE	48
03. DETERMINAZIONI BIOTOSSICOLOGICHE.....	50
04. DETERMINAZIONI CHIMICHE	50
Sostanze Inquinanti	50
Metalli pesanti.....	51
Materiali e metodi.....	52
01. RICERCA DI <i>Escherichia coli</i>	53
02. RICERCA DI <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	54
03. RICERCA DI <i>Salmonella spp.</i>	54
Risultati e Discussione	56
Conclusioni	58
Bibliografia e Siti Internet consultati.....	62

Introduzione

Il Riccio di mare della specie *Paracentrotus lividus* (LAMARK, 1816) è considerato, fin dai tempi dell'antica Grecia, un'autentica prelibatezza. La parte edule di questo Echinoideo è rappresentata dall'apparato riproduttore, ovvero dalle gonadi (comunemente chiamate "Polpa" o "Uova"), di colore rosso-arancio, data la considerevole presenza di carotenoidi, commercializzate fresche, congelate, ma anche pastorizzate o sterilizzate.

In numerose nazioni europee (Grecia, Francia, Spagna, Irlanda) e in alcune regioni d'Italia (specialmente in Puglia, Sicilia e Sardegna), il Riccio di mare è molto apprezzato. Negli ultimi decenni si è registrato un sensibile aumento dell'interesse del mercato verso il prodotto, che ha incrementato il proprio valore commerciale, divenendo una vera e propria risorsa economica. La richiesta sempre maggiore in località marittime storicamente vocate alla pesca del Riccio di mare (come Alghero e Cagliari), soprattutto durante il periodo autunno-invernale, quando le gonadi raggiungono la loro massima dimensione e il loro cromatismo più intenso, ha concorso ad attribuire al prodotto l'appellativo di "oro rosso", al pari del più prezioso corallo.

Sebbene la normativa imponga la pesca del prodotto su base stagionale, il prelievo continuo ed intensivo in alcune zone del Mediterraneo, ha determinato una forte riduzione della popolazione del Riccio di mare. A tal proposito, negli ultimi anni, *P. lividus* è stato oggetto di programmi di ricerca che hanno approfondito le conoscenze

riguardanti il suo ciclo riproduttivo, con l'obiettivo di realizzare un sistema di allevamento.

Le Uova di Riccio di mare vengono per lo più consumate crude o utilizzate per condire primi piatti. Negli ultimi anni, inoltre, è aumentata la richiesta in Giappone e nei vari "Sushi restaurant" diffusi nel Mondo, dove il prodotto, conosciuto con la denominazione commerciale di "Uni", viene utilizzato per la preparazione e la decorazione di alcuni tipi di *sushi*.

Le attuali aspettative e richieste da parte dei consumatori sono orientate verso prodotti di rapido impiego, facili da conservare, economici, con adeguata *shelf-life* e con caratteristiche complessive di sicurezza, freschezza ed elevato valore nutritivo. I processi tecnologici di conservazione oggi utilizzati cercano di cogliere due obiettivi: garantire un elevato livello di sicurezza per il consumatore e preservare la freschezza e la qualità nutrizionale del prodotto. Per ottenere alimenti stabili da un punto di vista biochimico e microbiologico, con elevate caratteristiche nutrizionali e sensoriali, l'industria alimentare ricorre sempre più spesso alle tecnologie cosiddette "mild". Il trattamento degli alimenti con il calore, rappresenta spesso una condizione indispensabile per abbattere potenziali microrganismi patogeni, a garanzia della sicurezza del consumatore. Tuttavia, l'impiego delle alte temperature, può implicare dei cambiamenti indesiderati nell'alimento, quali perdita del colore o dell'aroma o della funzionalità di alcune componenti. Considerando tali premesse, l'obiettivo dell'industria della Polpa di Riccio, è quello di ottenere un prodotto che sia conservabile a lungo, per avere la possibilità di destagionalizzarlo e proporlo al

mercato anche nei mesi estivi (prolungamento della *shelf-life*), che sia minimamente trattato e con caratteristiche organolettiche che lo rendono simile al fresco (colore rosso vivo, spalmabile), e, infine, stabile in condizioni di refrigerazione.

Il trattamento con le Alte Pressioni Idrostatiche (*High Hydrostatic Pressure*, HHP) è un moderno processo applicato all'industria conserviera (prima applicazione in Giappone nel 1991), che potrebbe rappresentare una tecnologia alternativa di conservazione della Polpa di Riccio, capace di raggiungere gli obiettivi dei produttori e di soddisfare le esigenze del consumatore ("fresh-like").

01. TASSONOMIA E BIOLOGIA DEL RICCIO DI MARE

Specie di interesse

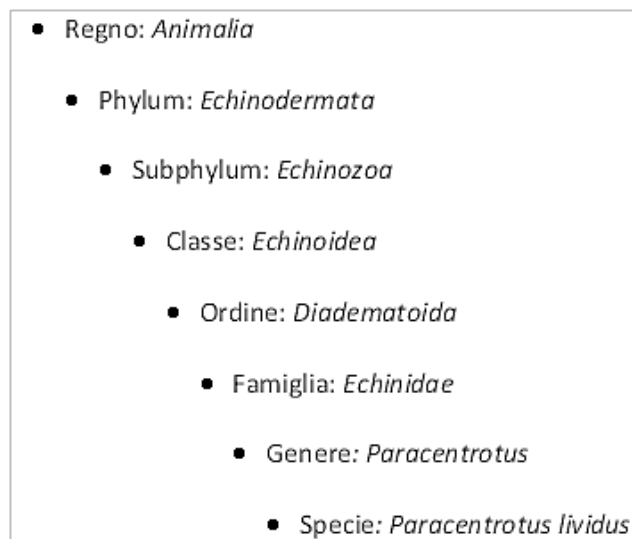


Figura 1 Classificazione Echinodermi (LAMARK, 1816).

Al Phylum degli Echinodermi (dal greco *ἔχινος* = riccio, *δέρμα* = pelle; Figura 1) afferiscono organismi marini invertebrati bentonici (Figura 2), tra i quali le Stelle marine, le Oloturie e i Ricci di mare (Matarrese, 2010; Punzo, 2012; Carboni, 2013).



Figura 2 Stella marina *Echinaster sepositus* e Ricci di Mare a sinistra; *Holuturia tubolosa* a destra (Fonte: Internet).

Nella Classe *Echinoidea* si distinguono due sottoclassi: gli Echinodermi *regolari* (corpo sub-sferoidale o sub-conico; bocca centrale sul lato ventrale e ano sul lato dorsale; simmetria pentaradiale; vivono in substrati rocciosi) e gli Echinodermi *irregolari* (corpo depresso, ovoidale o cuoriforme; bocca in posizione frontale e ano situato in direzione opposta; simmetria bilaterale; vivono in substrati sabbiosi o fangosi). Le poche specie di Ricci di mare edibili di interesse commerciale in Europa appartengono alla sottoclasse degli Echinoidi “*regolari*”, cui afferisce l’Ordine *Diadematoidea* (aculei primari presenti sulle piastre delle zone ambulacrali e su quelle interambulacrali). Di particolare interesse in Europa per la produzione della Polpa è la Famiglia *Echinidae*, mentre si sfrutta marginalmente la Famiglia *Arbaciidae*, che comprende specie presenti nell’Oceano Atlantico, di cui due anche nel Mediterraneo, e nel Pacifico Orientale (Manzoni, 2010; Punzo, 2012; Carboni, 2013).

Il *Paracentrotus lividus* è l’unica specie presente nel Mediterraneo che incontra i gusti del consumatore europeo. È volgarmente denominato “*Riccio Femmina*” o “*Riccio Viola*” (Figura 3), per differenziarlo dal cosiddetto “*Riccio Maschio*” o “*Riccio Nero*”, appartenente alla specie *Arbacia lixula* (Figura 4), con la quale il *Paracentrotus lividus* condivide l’habitat. In realtà, entrambe le specie sono ermafrodite e presentano gonadi che producono sia spermatozoi, sia uova.



Figura 3 *Paracentrotus lividus* (Fonte: Internet).



Figura 4 *Arbacia lixula* (Fonte: Internet).

Altre specie presenti nelle acque Europee ed extra-Europee sono il Riccio di fondo (*Echinus acutus*), Riccio di mare Atlantico (*Echinus esculentus*), Riccio di mare verde (*Psammechinus microtuberculatus*) e Riccio di mare del Pacifico (*Loxechinus albus*).

Anatomia e Morfologia

I Ricci di mare della specie *Paracentrotus lividus* presentano un corpo globoso sferoidale-ellissoidale, leggermente depresso al centro, a simmetria bilaterale negli stadi larvali (planctonici) e pentamera negli adulti (alternanza di 5 zone ambulacrali o radiali e di 5 zone interambulacrali o interradianali). Sulla superficie sono presenti delle protuberanze che assolvono diverse funzioni: sensoriale, respiratoria, locomotoria (Carboni, 2013).

Il *dermascheletro*, di colore nero o verdastro con sfumature violacee in prossimità della regione peristomale, è formato da una serie di piastre calcaree (94% carbonato di Calcio, Magnesio e Silicio; 6% componenti organiche), saldate tra loro a formare una corazza rigida e compatta.

Gli *aculei* (o *spine*), robusti, appuntiti e di diversa forma e lunghezza (specie-specificità), sono composti da calcite e sostanza organica, e si articolano con il dermascheletro tramite il tubercolo della piastra calcarea e le fibre muscolari, che ne consentono il movimento (*aculei primari*). Hanno funzione di difesa, vengono utilizzati per scavare tane nella roccia e coadiuvano gli organi deputati alla locomozione. La presenza di un pigmento, detto "*spinocromo*", conferisce loro una colorazione viola (Figura 3) oppure verde oliva, più raramente brunastra, rossastra, gialla o nera. La tonalità del colore è legata al tipo di alimentazione (prevalentemente di alghe, spugne e idrozoi). La specie *Arbacia lixula* si differenzia dal *Paracentrotus lividus* per la colorazione del dermascheletro, roseo o grigiastro, degli aculei primari dorsali molto lunghi, appuntiti e tipicamente neri (Figura 4) e di quelli ventrali prospicienti la regione orale, poco sviluppati, che possono assumere sfumature brunastre chiare (Giordano, 2002; Manzoni, 2010; Meloni *et al.*, 2013).

Il *sistema acquifero* (Figura 5), formato da un insieme di canali interconnessi e ripieni di liquido (acqua di mare) assicura la locomozione, la respirazione e l'escrezione, e comunica con l'ambiente esterno attraverso la *madreporite* o *piastra madreporica*, localizzata nel polo aborale.

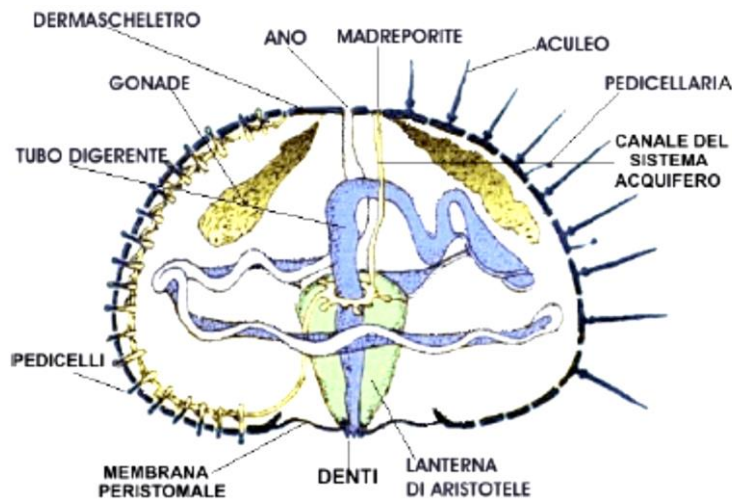


Figura 5 Anatomia del Riccio di mare (Fonte: Internet).

Tra gli aculei si trovano i *pedicellaria*, appendici molto mobili e con funzioni diverse. Gli organi responsabili della deambulazione sono i *pedicelli ambulacrali* disposti radialmente nella regione peribuccale. Sono dei canali tubulari a fondo cieco, che terminano con una ventosa, e che, riempiendosi di acqua, si allungano e si inturgidiscono, consentendo il movimento dell'animale, coadiuvato anche dall'attività delle spine mobili, disposte più o meno simmetricamente nelle regioni ambulacrali e interambulacrali. I Ricci, inoltre, si avvalgono di *pedicellaria* conformati "a pinza", per la cattura delle prede, la nutrizione e la pulizia del dermascheletro (Giordano *et al.*, 2002; Cattaneo *et al.*, 2010; Carboni, 2013).

L'apertura buccale è situata in posizione centrale sul lato orale, rivolto ventralmente. L'apparato buccale, circondato dalla *membrana peristomiale*, si compone di un potente apparato masticatore, denominato "*lanterna di Aristotele*" (Figura 6), di forma conica e costituito da cinque mascelle calcaree, dette "piramidi", disposte radialmente e dotate ciascuna di un dente sporgente, aguzzo e robusto. I movimenti di protrusione e retrazione dell'apparato masticatore sono assicurati da robuste fibre muscolari.

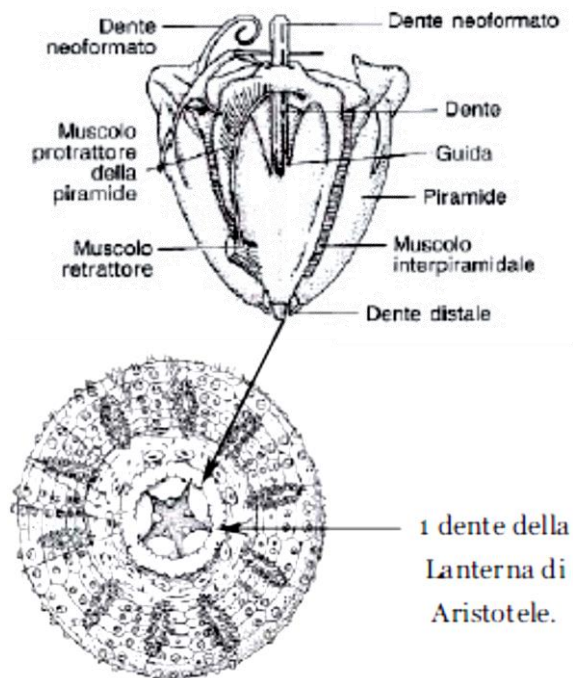


Figura 6 Schema Lanterna di Aristotele (Fonte: Internet).

La regione peribuccale del *Paracentrotus lividus* si presenta di dimensioni estremamente ridotte; al contrario è molto ampia nell'*Arbacia lixula* (Carboni, 2013).

Sul polo ventrale, in prossimità della cavità buccale, si evidenziano delle estroflessioni della parete che costituiscono le *branchie* (cinque paia), necessarie per garantire gli scambi gassosi e regolare il livello di liquido celomatico all'interno del corpo del Riccio.

L'apertura anale o *periprocto* (Figura 5), si trova sul lato aborale, rivolto dorsalmente (Carboni, 2013).

All'interno della cavità celomatica sono alloggiati il *canale digerente* (faringe, esofago, stomaco e intestino) e le cinque *gonadi* lobate, situate in posizione interradianale, unite tra loro da filamenti e caratterizzate da una vivace colorazione giallo-arancio sino al rosso corallo (Figura 9). Da ciascuna gonade si diparte un *gonodotto* che comunica con l'ambiente marino mediante un *gonoporo* o *poro genitale* posto sulla piastra genitale

aborale, attraverso il quale vengono espulsi i gameti. Le gonadi costituiscono la prelibata parte edibile dell'animale e mostrano il maggiore sviluppo dal mese di dicembre al mese di aprile (Manzoni, 2010; Punzo, 2012).

Il sistema circolatorio (“*emale*”) è completamente indipendente dal sistema acquifero ed è formato da lacune in cui scorre un liquido incolore, costituito per lo più da acqua marina, contenente in soluzione sostanze albuminoidi prodotte dall'organismo e cellule, alcune delle quali dotate di potere fagocitario (Punzio, 2012).

Il sistema nervoso è abbastanza primitivo e presenta una tipica disposizione pentaraggiata (Tortonese, 1965).

Biologia e Ciclo riproduttivo

Gli Echinodermi sono onnivori: predano organismi animali (piccoli crostacei e molluschi), ma soprattutto recidono dal fondale vegetali (alghe e *Posidonia Oceanica*). Si nutrono anche di spugne e di celenterati. In popolazioni con notevole densità di individui e in condizioni di carenza di cibo, sono stati registrati episodi di cannibalismo, soprattutto da parte dei giovani che, in fase di crescita, necessitano di un apporto costante di proteine e carboidrati (Frantzis *et al.*, 1992; Fernandez *et al.*, 1997).

Gli Echinodermi sono ermafroditi, dotati cioè di gonadi che producono sia spermatozoi sia uova. I dati bibliografici rivelano che esiste un'ampia variabilità interannuale sul ciclo riproduttivo di *Paracentrotus lividus*: a seconda della località, le gonadi sono attive tutto l'anno oppure presentano uno o due picchi stagionali. Lo sviluppo gonadico e la fase di “*spawning*” (deposizione dei gameti) dipendono dalla complessa

interazione di numerose variabili ambientali quali le condizioni trofiche in termini di disponibilità di sostanze nutritive (fattore chiave per la maturazione gonadica), il grado di esposizione al moto ondoso (*idrodinamismo*), la temperatura, la salinità e il fotoperiodo (Lozano *et al.*, 1995; Fernandez *et al.*, 1997; Pais *et al.*, 2006; Sellem *et al.*, 2007; González Irusta, 2009; Fabbrocini *et al.*, 2012; Boudouresque *et al.*, 2013; Porcu, 2013; Carboni, 2013).

Nel Mediterraneo la riproduzione si realizza durante tutto l'anno, con una maggiore incidenza dell'attività nei mesi freddi (autunno e inverno), quando la temperatura dell'acqua diminuisce e la durata del giorno si accorcia, sino alla primavera. Le temperature e l'illuminazione prolungata, tipiche della stagione estiva, tendono ad inibire la gametogenesi. La fecondazione è esterna e avviene con l'emissione di uova e spermatozoi in acqua (gameti prodotti da soggetti diversi). Dall'uovo fecondato si sviluppano le larve planctoniche (*Echinoplutei*) a simmetria bilaterale (Figura 7), che conducono una vita pelagica, nuotando liberamente per 20–40 giorni, prima di fissarsi al substrato. Dopo complesse metamorfosi, si genera l'organismo bentonico adulto del Riccio, caratterizzato da simmetria pentaradiale (Maltagliati *et al.*, 2010; Vitelletti *et al.*, 2013; Porcu, 2013; Carboni, 2013).



Figura 7 Fasi di crescita larvale del *Paracentrotus lividus* (Fonte: Internet).

Paracentrotus lividus raggiunge lo sviluppo sessuale intorno al terzo anno di vita, mentre per il raggiungimento della taglia commerciale occorrono dai 4 ai 7 anni. Può vivere sino ai 9 anni ed arrivare ad avere un diametro di 7-8 centimetri, esclusi gli aculei (Kızılkaya *et al.*, 2013; Boudouresque *et al.*, 2013).

02. DISTRIBUZIONE ED ECOLOGIA

I Ricci di mare sono preziosi per l'equilibrio dell'ecosistema marino, poiché rappresentano organismi alla base della catena alimentare della fauna ittica e controllano gli equilibri della popolazione algale della quale si nutrono.

Gli Echinodermi della specie *Paracentrotus lividus* sono diffusi in tutti i fondali del Nord-Est Atlantico, dal Mar Mediterraneo alla Scozia, dall'Irlanda all'arcipelago di Madeira, dal Marocco alle Canarie. In Europa, in particolare, si rinvencono lungo le coste del Mediterraneo Settentrionale e dell'Atlantico Orientale, in cui la temperatura dell'acqua è compresa tra 10 e 15 °C nei periodi invernali e tra i 18 e 25 °C in quelli estivi. La specie *Arbacia lixula* è comunemente diffusa nel Mediterraneo Nord-Occidentale (Guidetti *et al.*, 2003; Maltagliati *et al.*, 2010; Boudouresque *et al.*, 2013; Carboni, 2013).

Sono numerosi i fattori abiotici (temperatura, salinità, topografia, venti dominanti, eutrofizzazione) e biotici (abbondanza larvale, fertilità degli adulti, pressione di predazione) che, interagendo, influiscono sulla distribuzione delle forme larvali planctoniche e degli adulti bentonici. *Paracentrotus lividus* predilige un habitat caratterizzato dalla presenza di fondali rocciosi e praterie di *Posidonia oceanica* e

Zostera marina, dove vive in gruppo, sino alla profondità di 15–20 metri. Tuttavia, soggetti singoli sono stati isolati a profondità importanti (sino a 80-100 metri). Non tollera le brusche variazioni di salinità (Pais *et al.*, 2007; Ceccherelli *et al.*, 2009; Prado *et al.*, 2012; Pinna *et al.*, 2012; Boudouresque *et al.*, 2013; Kızılkaya *et al.*, 2013).

È una specie fotofobica, infatti durante la notte pascola, percorrendo anche lunghe distanze, mentre di giorno vive in anfratti, che può scavare nella roccia (*bioerosione*), e tende a mimetizzarsi tra pietre e frammenti di conchiglie, per proteggersi dall'esposizione alle correnti marine e dai predatori, quali pesci e crostacei (Jacinto *et al.*, 2012; Vitelletti *et al.*, 2013; Porcu, 2013).

03. PESCA E NORMATIVA DI RIFERIMENTO

Normativa Nazionale e Regionale per la tutela del Riccio di mare

Negli anni '90, in Italia, le numerose segnalazioni delle Capitanerie di Porto hanno messo in evidenza il progressivo spopolamento del Riccio di mare dovuto all'indiscriminato prelievo, anche delle forme giovanili, da parte dei pescatori professionali e sportivi. Si è resa, quindi, necessaria l'emanazione di una normativa specifica, rivolta alla sua tutela, al fine di non pregiudicarne la raccolta futura.

Il Decreto del Ministero delle risorse agricole, alimentari e forestali del 12 gennaio del 1995 (*Disciplina della pesca del Riccio di mare*) stabilisce regole specifiche per l'attività di prelievo degli Echinodermi. In particolare, la normativa autorizza la pesca professionale e sportiva del Riccio di mare solamente per immersione e manualmente,

utilizzando per la raccolta asta a specchio e rastrello. Definisce, inoltre, i limiti di cattura in termini di numero di esemplari raccolti (quota di cattura pari a 1000 e 50/die, rispettivamente per il pescatore professionale e per il pescatore sportivo), taglia minima (non inferiore a 7 centimetri di diametro totale, compresi gli aculei) e tempi di raccolta (consentita per dieci mesi all'anno e vietata nei mesi di maggio e giugno, per garantire la ricostituzione degli stock).

La Regione Autonoma della Sardegna (RAS), tuttavia, sulla base del principio di precauzione e considerando le risultanze degli studi scientifici, che hanno messo in luce il forte impoverimento della preziosa risorsa, ha adottato una disciplina propria maggiormente restrittiva, al fine di garantire la sostenibilità della pesca del Riccio e mitigare lo sforzo di prelievo. L'Assessorato all'Agricoltura, con decreto annuale, stabilisce i tempi e le modalità di raccolta da parte dei pescatori professionali e sportivi. Per la stagione 2015-2016, il Decreto RAS n. 2423 del 15.10.2015 ha definito:

- I metodi di pesca consentiti: dall'imbarcazione con l'ausilio di batiscopio, asta e specchio (tradizionalmente detta "*cannuga*"), e coppo, o manualmente, mediante immersione. L'uso di apparecchi ausiliari di respirazione è consentito solamente ai pescatori professionisti subacquei, iscritti nel registro dei pescatori marittimi. È autorizzato l'impiego di strumenti corti atti a staccare il Riccio dal substrato, mentre è vietata la raccolta con mezzi meccanici (rastrelli in ferro) trainati manualmente o dalle barche.
- Il calendario dei prelievi: indica il periodo durante il quale è consentita la pesca (dal 1° Novembre del 2015 al 30 Aprile del 2016, per la stagione 2015-2016 secondo il

Decreto RAS) e specifica l'orario del prelievo e delle operazioni di sbarco (esclusivamente dall'alba sino alle ore 15.00 di ogni giorno).

- La taglia minima di cattura: diametro superiore ai 5 centimetri, esclusi gli aculei. Ogni esemplare di taglia inferiore deve essere rigettato in mare.
- Le quantità prelevabili: il pescatore professionale marittimo o subacqueo può riempire 3 ceste/die (dimensioni: altezza 35 cm, lunghezza 60 cm, larghezza 50 cm), che approssimativamente possono contenere 1500 esemplari, oppure, in presenza di un assistente a bordo dell'imbarcazione, 6 ceste/die (pari a circa 3000 Ricci). Il pescatore sportivo, durante la raccolta, può prelevare per uso personale 50 esemplari/die, solamente nei giorni di Mercoledì, Sabato, Domenica e Festivi.

Il pescatore professionale deve compilare giornalmente, tenere a disposizione e trasmettere mensilmente al Servizio Pesca dell'Assessorato all'Agricoltura, il "*giornale di pesca*" in cui sono indicate le attività svolte, la zona e le modalità di pesca, le quantità prelevate, la destinazione del pescato, la località di sbarco e il riferimento dei documenti di accompagnamento. Inoltre, ha l'obbligo di osservare le norme comunitarie, nazionali e regionali relative alle misure igienico-sanitarie e inerenti la tracciabilità dei prodotti della pesca.

Il crescente interesse del mercato verso il prodotto ha generato, in Sardegna, un incremento della richiesta delle licenze di pesca (130 autorizzazioni nel 2000, circa 200 oggi), e, di conseguenza, dei prelievi (Dati RAS, Assessorato all'Agricoltura).

Le maggiori criticità riscontrate dalle Autorità competenti (Capitaneria di Porto, NAS, ASL), nel mancato rispetto della stringente normativa adottata in Sardegna, riguardano

la taglia di cattura: si stima che il 65% del prodotto commercializzato sia sotto taglia. La pesca abusiva e la successiva vendita del prodotto, al di fuori dei circuiti di controllo igienico-sanitario, amministrativo e fiscale, rappresentano un altro fenomeno preoccupante e dilagante, difficile da contrastare efficacemente con la sola attività repressiva e sanzionatoria (Corona, 2014; Pulina, 2014).

Una ricerca effettuata nell'Area Marina Protetta di Capo Caccia-Isola Piana (Sardegna Nord-Occidentale) ha valutato l'entità degli effetti delle misure di tutela dell'ambiente e della fauna ittica sul Riccio di mare della specie *Paracentrotus lividus*. Sono stati misurati i parametri relativi alle densità, al diametro del dermascheletro e alla biomassa dei campioni, prelevati dall'Area Marina Protetta e da zone adiacenti della rada di Alghero non protette, in cui è consentita la raccolta dei Ricci. L'analisi dei risultati (Tabella 1) ha messo in luce che le misure di tutela risultano essere efficienti e sufficientemente protettive nei confronti della risorsa, oggetto di una importante pressione di pesca (Pais *et al.*, 2007).

Tabella 1 Valutazione degli Indici di Densità, Diametro e Biomassa di Ricci di mare della specie *Paracentrotus lividus*, prelevati nell'Area Marina Protetta di Capo Caccia-Isola Piana e in zone non protette della rada di Alghero (Pais *et al.*, 2007)

	Densità (individui/m ²)	Diametro (mm)	Biomassa (gr/m ²)
Area Marina Protetta	11,9 – 25,2	43,2 – 60,6	589,7 – 1938,1
Aree di pesca	5,9 – 15,3	26,0 – 38,6	118,4 – 224,31

Sebbene manchino dati ufficiali complessivi relativi all'effettivo stato degli stock, i risultati degli studi condotti a cadenza annuale su aree limitate del Mar Mediterraneo, hanno dimostrato che l'intensità dei prelievi è tale da non poter garantire un'adeguata ricostituzione della risorsa durante le fasi di riposo biologico, ritenute essere troppo

brevi. Questa situazione potrebbe, nel lungo termine sfociare nel collasso irreversibile della risorsa, che rischia l'estinzione. L'intensa attività di pesca, infatti, ha causato l'esaurimento della risorsa sulle coste francesi (Marsiglia), mentre risultano essere poco sfruttati i litorali della Grecia e degli Stati del Nord Africa. Nell'Atlantico, invece, si è reso necessario il blocco della pesca del Riccio di mare (nel 1970 in Gran Bretagna e nel 1980 in Irlanda) e la sua severa regolamentazione (Guidetti *et al.*, 2003; Prado *et al.*, 2012; Corona, 2014).

04. ALLEVAMENTO

Per far fronte alla crescente domanda e, parallelamente, evitare l'impoverimento eccessivo dei mari e garantire un adeguato equilibrio nell'ecosistema, si stanno sperimentando sistemi di allevamento semi-artificiale con l'obiettivo di ripopolare (*restocking*) aree quasi completamente depredate (Sellem *et al.*, 2007; Porcu, 2013; Carboni, 2013).

Uno studio sperimentale effettuato in Spagna nel 2014 ha rappresentato il primo tentativo di crioconservazione di embrioni di *Paracentrotus lividus*. Il protocollo utilizzato ha fornito risultati positivi: gli embrioni possono crescere e formare larve competenti, con dei tassi di sopravvivenza al 20° giorno (fine allevamento larvale) pari al 71%. La crioconservazione ha dimostrato di essere uno strumento biotecnologico molto potente per l'acquacoltura e per la conservazione del prodotto selvaggio (Paredes *et al.*, 2014).

In Sicilia (Palermo) è presente un allevamento sperimentale del Riccio di mare della specie *Paracentrotus lividus* in vasche a terra e in un'area in concessione in mare.

Lo scorso 26 Febbraio si è concluso il progetto "*ResUrch - Ricerca e sviluppo tecnologico per ottimizzare la redditività economica e sostenibilità ambientale dell'allevamento del Riccio di mare*", finanziato dall'Unione europea nell'ambito del 7° Programma quadro a sostegno delle piccole e medie imprese. La ricerca è stata condotta dal Dipartimento di Scienze della vita e dell'ambiente dell'Università di Cagliari, che ha realizzato uno *schiodatoio sperimentale* di Ricci (Figura 8) nella località "*Sa Illetta*", in collaborazione con il *Consorzio Ittico Santa Gilla*.



Figura 8 Schiodatoio sperimentale realizzato nell'ambito del progetto "*ResUrch*" per la sostenibilità ambientale dell'allevamento e il ripopolamento del Riccio di mare in Sardegna (Fonte: Internet).

Il vivaio, in grado di produrre 150.000 giovani Ricci all'anno, rappresenta un'innovazione tecnologica per l'allevamento di *Paracentrotus lividus*, specie maggiormente presente nel Mediterraneo, e *Strongylocentrotus droebachiensis* (consumato nel Nord Europa), utile agli enti pubblici e alle aziende private che gestiscono questa preziosa risorsa.

A partire dall'analisi complessiva della filiera del Riccio di mare, l'ente di ricerca ha definito gli obiettivi del progetto, che hanno riguardato: la formulazione di diete naturali e artificiali, adeguate alle diverse fasi di crescita; lo studio e l'applicabilità di protocolli di allevamento (in impianti a terra ed in mare) e lo sviluppo di modelli di ripopolamento attivo in mare; il miglioramento delle qualità igienico-sanitarie, nutrizionali e organolettico-sensoriali della Polpa del Riccio allevato; le attività di *training* (formazione), *networking* e *dissemination* (informazione e diffusione) delle attività svolte in favore di altri enti di ricerca e privati specializzati. Il progetto ha coinvolto sette imprese specializzate nell'allevamento e nella commercializzazione di organismi marini, operanti in Islanda, Irlanda, Israele, Italia (Taranto e Cagliari). Inoltre, hanno partecipato diversi istituti di ricerca esteri (Norvegia, Regno Unito, Islanda, Israele) e nazionali (CNR di Taranto e Università di Genova). In allevamento, la riproduzione avviene attraverso l'induzione all'emissione dei gameti da parte dei Ricci (stimolazione gonadica pilotata) e la fecondazione si verifica nello schiuditoio (temperatura di 26 °C). Una volta nate le larve (*Echinopluteo*: larva a otto braccia), inizia la fase del nutrimento con adatte colture di microalghe. Le larve, durante le varie fasi di crescita, sono sottoposte regolarmente a controllo. Dopo alcune settimane inizia la metamorfosi e le larve assumono le sembianze del Riccio adulto. All'età di 18 mesi i Ricci misurano 25 millimetri di diametro e, in questa fase vengono trasferiti nel vivaio a mare (aree di rilascio), dove vengono monitorati regolarmente.

05. CARATTERISTICHE DELLE GONADI

La parte edibile di *Paracentrotus lividus* è rappresentata dalle gonadi: le uova sono disposte in 5 file, unite tra loro da filamenti. Quando mature, appaiono di colore variabile: giallo, arancione, marrone, rosso vivo o rosso porpora (Figura 9).



Figura 9 Le gonadi del Riccio di Mare: diverse colorazioni (Fonte: Internet).

Le gonadi presentano ampia variabilità stagionale nel peso e nella composizione, dipendentemente da fattori esogeni (alimentazione, ambiente) ed endogeni, geneticamente controllati, che intervengono singolarmente o in concerto. Tra i primi, assumono importanza notevole la composizione della dieta, la frequenza di alimentazione e il livello della razione, ma anche la temperatura e la salinità dell'acqua. I fattori endogeni, invece, sono correlati al ciclo vitale (crescita somatica) e riproduttivo dell'animale. Durante la fase di sviluppo gonadico, per esempio, le proteine e i carboidrati sono mobilitati dal muscolo e trasferiti nelle gonadi, per garantire la gametogenesi. Il maggiore sviluppo in termini quali-quantitativi si osserva tra il mese di dicembre e il mese di aprile, periodo, questo, considerato migliore per il loro consumo.

Composizione nutrizionale e caratteristiche organolettiche

Dal punto di vista fisico e bromatologico, la composizione della Polpa è variabile e dipende dalla stagione e dalla dieta del Riccio (Grafico 1). I valori di acqua libera (a_w) sono pari a 0,98 e il pH si aggira intorno a valori di 6,1-6,4. È un alimento ricco di acqua e la sostanza secca mostra un elevato contenuto proteico a fronte di un'esigua aliquota di lipidi e di uno scarso tenore in carboidrati (Floris *et al.*, 2011).

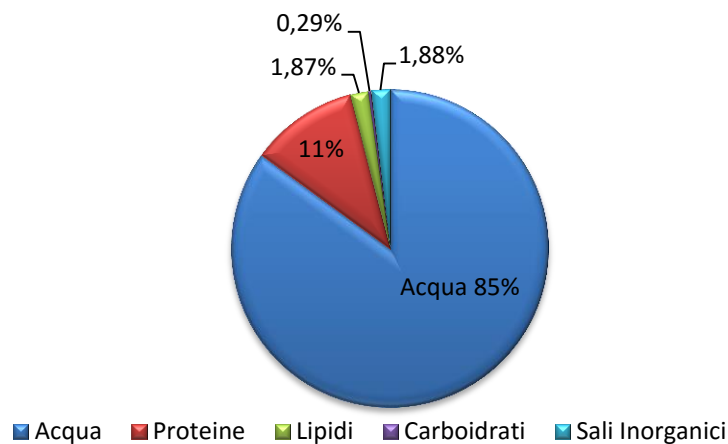


Grafico 1 Composizione chimico-centesimale (% peso umido) delle gonadi di *Paracentrotus lividus* (Floris *et al.*, 2011).

La frazione grassa è caratterizzata da una notevole presenza di acidi grassi polinsaturi (PUFA), che rappresentano il 40% degli acidi grassi totali nei mesi freddi (la variazione di temperatura influenza il livello di PUFA), seguiti dagli acidi grassi saturi (SFA = 24%) e monoinsaturi (MUFA = 14%). I più abbondanti a livello gonadico sono gli acidi eicosapentaenoico (EPA, C20:5 n-3/ ω -3, > al 40% dei PUFA totali), docosahexaenoico (DHA, C20:6 n-3/ ω -3), docosapentaenoico (DPA, C20:5), docosatetraenoico (C20:4 n-3) e docosadienoico (C20:2).

La frazione vitaminica, fortemente influenzata dall'alimentazione, è rappresentata dalle vitamine liposolubili E (α -tocoferolo) e K, dalla provitamina A (β -carotene) e, in basse concentrazioni, dalle vitamine idrosolubili del gruppo B (B5 o acido pantotenico; B9 o acido Folico; B1; B2; B3; B6) e dalla vitamina C.

L'analisi centesimale mostra, inoltre, la presenza, variabile a seconda della zona di cattura, di preziosi elementi micro- (Rame, Ferro, Zinco, Manganese, Selenio) e macro-minerali (Calcio, Fosforo, Potassio, Sodio, Magnesio), che conferiscono al prodotto eccellenti qualità nutrizionali.

Il Riccio di mare è ricco in carotenoidi (130-180 mg/g di gonade essiccata), responsabili della pigmentazione giallo-arancio delle gonadi e dotati di importanti proprietà antitumorali e protettive dall'insorgenza di malattie degenerative cardiovascolari, gastrointestinali e neurodegenerative (Carboni, 2013).

Le gonadi di *Paracentrotus lividus* hanno un basso contenuto calorico: circa 150 kcal per 100 grammi. In termini generali, si può affermare che apportano nella dieta importanti sostanze dotate di proprietà antiossidanti e anti-radicaliche (Arafa *et al.*, 2012; Peng *et al.*, 2012; Kizilkaya *et al.*, 2013; Porcu, 2013).

Le caratteristiche organolettiche della Polpa del Riccio di mare sono conferite dalla componente aminoacidica, responsabile, nel complesso, del tipico sapore agrodolce. In particolare, gli aminoacidi glicina, alanina, glutammato e valina modulano le note dolciastre, che rendono il gusto delle gonadi simile a quello dei crostacei (granchi e scampi); la metionina, invece, conferisce il peculiare sapore amaro. Le gonadi della

specie *Arbacia lixula* non sono apprezzate al pari di quelle di *Paracentrotus lividus* a causa della presenza di una sostanza amara che conferisce loro un sapore sgradevole.

Shelf-life

La Polpa di Riccio di mare è, alla luce delle caratteristiche biochimiche e microbiologiche, un prodotto altamente deperibile: i valori di a_w e pH conferiscono al prodotto notevole vulnerabilità, rispetto al rischio assodato di proliferazione microbica. La *shelf-life* delle gonadi di Riccio è molto breve e per questa ragione si ricorre, nel più breve tempo possibile dal momento della pesca, alle varie tecnologie di condizionamento (refrigerazione, congelamento, confezionamento sottovuoto).

Dopo tre giorni di conservazione a temperatura di refrigerazione, i Ricci non sono più commestibili; infatti, nei soggetti appena pescati, ad una temperatura di 16-17 °C, il pH del liquido della cavità celomatica è pari a 6,1-6,4, mentre in terza giornata è di 6,6-6,8, il che li rende non idonei al consumo (Meloni *et al.*, 2013).

06. MERCATO E CONSUMI

Nel Mondo, in Europa e in Italia

Il mercato delle gonadi di Riccio si estende su due aree geografiche: il bacino del Mediterraneo, dove la specie di maggiore interesse è *Paracentrotus lividus*, e le restanti zone a livello mondiale dove viene praticata la pesca di altre specie di Riccio di mare (*Strongylocentrus droebachiensis* negli Stati Americani del Nord-Atlantico; *Cidaris*

tribuloides nelle Indie occidentali; *Evechinus chloroticus* in Nuova Zelanda; *Strongylocentrotus franciscanus* e *Strongylocentrotus purpuratus* nelle coste USA del Pacifico; *Anthocardis crassispina* in Cina). In queste ultime aree il consumo locale delle gonadi, è modesto e la gran parte del prodotto è destinata all'esportazione nei paesi asiatici e, in particolare, in Giappone, dove il prodotto, denominato "Uni", rappresenta un prezioso e prelibato ingrediente per la preparazione del *sushi* e raggiunge quotazioni di mercato superiori ai 300€/Kg. Nelle coste giapponesi, si è assistito, nel corso degli anni, al depauperamento della risorsa (dalle 24.000 Tonnellate raccolte nel 1981 alle 14.000 del 1991, sino alle 8.000 degli anni 2000) e ad un aumento delle importazioni del 65%. Per soddisfare le richieste del mondo asiatico, le coste della California sono sottoposte ad una notevole pressione di prelievo dei Ricci, che sta creando i presupposti per l'estinzione nel breve periodo, nonostante esista un programma federale, attivo dal 1971 negli USA, per la raccolta e il controllo delle popolazioni di Ricci. I principali paesi esportatori di gonadi di Riccio sono gli Stati Uniti soprattutto verso il Giappone, seguiti da Russia, Canada, Corea del Nord, Cile, Messico, Australia e Cina (Giodetti, 2003; Peng *et al.*, 2012; Carboni, 2013).

In Europa, la raccolta per l'esportazione viene effettuata soprattutto in Irlanda, Portogallo e Croazia. Fatta eccezione per le Isole Orkney (Scozia), in cui le gonadi di Riccio sono considerate una prelibatezza e vengono usate in sostituzione del burro, nel resto dell'Europa il consumo è limitato ad alcuni paesi che si affacciano sul Mar Mediterraneo: Spagna, Francia, Italia (Sud e Isole) e Grecia. Il consumo della Polpa di Riccio è legato alla stagionalità e alla convivialità, motivo per cui il prodotto confezionato, pur presente nel mercato, viene raramente consumato. Si preferisce il

consumo immediato del prodotto crudo, fresco e appena pescato, che può essere reperito presso i principali mercati ittici e le pescherie, dove assume notevole valore economico.

Nelle piattaforme commerciali è possibile trovare le gonadi di Riccio fresche, congelate, sottovuoto o sterilizzate, confezionate in recipienti di plastica o di legno, provenienti in gran parte dal Cile, dalle Filippine, dalla California e dal Maine con prezzi variabili fra i 20 e i 60 dollari, mentre nel Mediterraneo il costo per confezione (50-70 grammi) si aggira intorno ai 7-9 euro.

Produzioni e mercato del Riccio di mare in Sardegna

In Sardegna, il Riccio di mare rappresenta una risorsa di particolare interesse ecologico, alimentare ed economico. Le sue gonadi, infatti, sono un alimento tipico e molto ricercato, appartenente alla cultura gastronomica di alcune aree costiere della Regione, in cui, sin da tempi storici, si pratica la pesca del Riccio. I litorali di Alghero e Cagliari, le zone costiere del Sulcis-Iglesiente e dell'oristanese (Marceddì e Cabras) e, in minor misura, le aree di Stintino, Castelsardo, Santa Teresa di Gallura, Olbia e del Sarrabus, rappresentano i più importanti centri in cui è praticata la raccolta. Nel periodo invernale, inoltre, tale attività contribuisce ad integrare il reddito dei pescatori che, stanti le condizioni meteo-marine avverse, spesso non sono in grado di svolgere le normali operazioni di pesca al largo.

Si stima un prelievo annuale di circa 32 milioni di Ricci nelle sole acque isolane, a fronte di un consumo locale medio di poco più di un chilogrammo *pro-capite*, con un indotto

quantificabile in 9 milioni di euro (Dati Conservatoria delle Coste). Tali dati risultano sottostimati poiché non tengono conto del fatto che le quote di pesca stabilite dalla normativa regionale non siano rispettate dai titolari delle licenze, né dell'incidenza non quantificabile dell'attività abusiva esercitata da coloro che, a fini reddituali, praticano la pesca del Riccio privi di autorizzazione. I Ricci freschi hanno un valore commerciale approssimativo che oscilla dai 60 ai 100 euro, se venduti in ceste (400-500 Ricci). La quotazione della *Polpa di Riccio* è notevole poiché include l'oneroso servizio della pulitura e assume per questo un valore compreso tra i 70 e i 100 euro per chilogrammo (Floris *et al.*, 2009; Pais *et al.*, 2011; Corona, 2014; Pulina, 2014).

Nel periodo in cui è autorizzata la pesca, tale prodotto di nicchia è valorizzato anche con fiere storiche e radicate, molto apprezzate da fasce sempre più ampie di consumatori. A tal proposito, si ricorda la "*Sagra del Bogamarì*", che si svolge ad Alghero nei mesi di febbraio e marzo.

Oltre alle classiche forme di commercio (mercati ittici e pescherie; industrie di trasformazione; ristorazione collettiva), nell'Isola è ancora oggi diffusa, nonostante le restrizioni sanitarie imposte dalla normativa cogente, la cessione diretta della Polpa di Riccio dal pescatore al consumatore finale, attraverso la vendita ambulante e l'allestimento dei tipici banchi di degustazione ("*chioschetti*"), dislocati nel lungomare delle principali città marittime vocate alla pesca dell'Echinoderma (Cagliari, Alghero). Tale prelibatezza gastronomica viene tradizionalmente consumata tal quale (cruda), accompagnata con le tipiche focacce di semola oppure è utilizzata come ingrediente di altre specialità culinarie (antipasti, primi piatti e pizza).

Scopo del lavoro

Il Riccio di mare della specie *Paracentrotus lividus* rappresenta un prodotto di nicchia di notevole interesse alimentare e commerciale, a livello locale ed internazionale.

Alla luce di quanto esposto sinora e sulla base dell'acquisizione di conoscenze e applicazioni innovative nel campo della tecnologia alimentare, il presente lavoro ha l'obiettivo di analizzare ed illustrare i processi di produzione, classici ed alternativi, della "Polpa di Riccio", approfondendo, in particolare, le implicazioni del trattamento sugli aspetti sanitari e sensoriali. Vengono, inoltre, descritti i controlli sanitari ufficiali, effettuati lungo tutta la filiera produttiva.

In virtù della notevole importanza che il prodotto riveste nella tradizione alimentare di alcune zone costiere della Regione Sardegna, è stata effettuata una valutazione del rischio sanitario microbiologico derivante dal consumo dei Ricci di mare commercializzati nel circuito locale, sulla base dei risultati dei campionamenti ufficiali eseguiti tra il mese di marzo del 2015 e il mese di aprile del 2016, nell'ambito del "Piano Regionale Molluschi Bivalvi Vivi".

Tecnologie di produzione della Polpa di Riccio

Le considerazioni precedentemente esposte, in merito alla vulnerabilità organolettica e microbiologica del prodotto e, quindi, alla sua breve vita commerciale, hanno portato le aziende produttrici della Polpa di Riccio di mare a sfruttare le comuni tecnologie di conservazione che, se applicate entro breve tempo dalla raccolta, consentono di proporre ai consumatori, sia locali, sia esteri, un prodotto sicuro e destagionalizzato.

Accanto ai metodi di conservazione tradizionali, si stanno sperimentando, inoltre, tecnologie innovative, tra le quali l'applicazione delle Alte Pressioni Idrostatiche.

01. TECNOLOGIE TRADIZIONALI

In Sardegna, così come in Italia e in Europa, le principali tecnologie applicate alla produzione della Polpa di Riccio, possono essere definite "*classiche*", poiché la conservabilità del prodotto si basa per lo più sull'applicazione ed il controllo delle temperature (basse per prodotto fresco refrigerato o surgelato; alte per le semi-conserve pastorizzate o sterilizzate, confezionate "*al naturale*", ovvero in presenza del liquido di governo, costituito da soluzioni acquose al 3% di Sale – NaCl).

Tra le tecnologie classiche sono comprese anche la salagione e l'essiccazione delle Uova di Riccio, seguite dalla conservazione in Atmosfera Protettiva (MAP) o Sottovuoto (SV), tipiche dell'industria sudamericana, ma poco apprezzate dal consumatore europeo.

Le Uova di Riccio sono costituite da componenti molto sensibili al calore, tra cui, in particolare, le proteine che, con l'utilizzo di elevate temperature, coagulano e il prodotto perde colore, sapore e consistenza. Pertanto, i trattamenti termici convenzionali con le alte temperature devono necessariamente essere esclusi, se si vogliono raggiungere obiettivi precisi (prodotto stabile e simile al fresco).

Prodotto fresco refrigerato

Le Aziende locali dedite alla lavorazione stagionale della risorsa, commercializzano il prodotto tal quale (*"Ricci vivi e vitali"* confezionati in vaschetta avvolta da rete e con adeguata etichettatura, recante il bollo del Centro Spedizione Molluschi autorizzato) oppure applicano le cosiddette tecnologie "dolci" (*"mild technologies"*), e non il calore, al fine di preservare l'aroma e la compattezza del prodotto. Il processo tecnologico utilizzato è molto semplice, e si basa prevalentemente sull'origine e la tracciabilità della materia prima, sul rispetto della catena del freddo e delle basilari procedure di igiene durante la produzione. Il prodotto fresco refrigerato viene commercializzato con una *shelf-life* abbastanza breve di 3-5 giorni.

Nella Figura 10 è riportato il diagramma di flusso relativo alla produzione della Polpa di Riccio fresca refrigerata.

Al momento della cattura è obbligatorio il rispetto del calibro del prodotto, come definito dalla norma: *"La taglia minima di cattura è di 50 mm esclusi gli aculei. Ogni esemplare di taglia inferiore prelevato in qualsiasi circostanza, ... deve essere*

immediatamente rigettato in mare” (Art. 2, Decreto RAS n. 2423/DecA/49 del 15.10.2015).

Dopo la cattura, sino al conferimento presso lo stabilimento di lavorazione, è fondamentale il mantenimento della temperatura, inferiore a 7 °C, che deve essere rispettata e controllata anche durante le fasi di lavorazione, successive al ricevimento della materia prima (sarebbe ideale tra 0 e 4 °C).

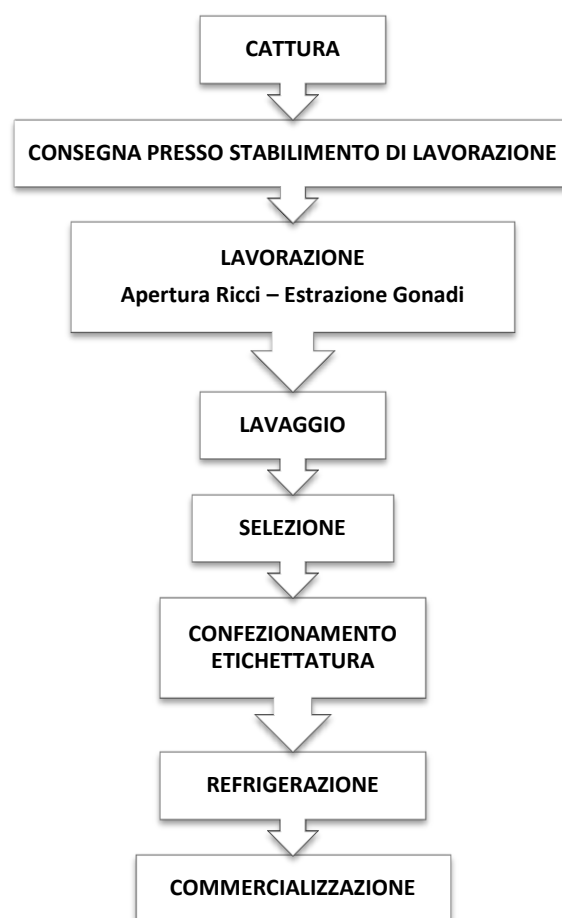


Figura 10 Diagramma di flusso: Prodotto fresco refrigerato.

Nella fase preliminare i Ricci vengono collocati su un nastro trasportatore e sottoposti a lavaggio con acqua pulita (in Cile viene utilizzato un trattamento con UV).

L'apertura del Riccio avviene dall'orificio ventrale con l'ausilio di particolari pinze, forbici e coltello (Figura 11). In questa fase viene effettuata anche una prima valutazione organolettica delle gonadi (aspetto, colore, odore).



Figura 11 Pinze utilizzate per l'apertura del Riccio di mare (Fonte: Internet).

Segue l'estrazione delle gonadi con spatola o cucchiaio in acciaio inox. I gusci vuoti sono rimossi attraverso un nastro trasportatore ("*linea sporca*") che viaggia in senso contrario rispetto alla "*linea pulita*". Le gonadi vengono quindi deposte in una griglia-filtro a maglie strette e sottoposte a lavaggio. Il filtro, immerso rapidamente, per pochi secondi, in acqua pulita a rinnovo continuo (in Cile si utilizza acqua trattata con UV o con 2 ppm di Cloro), viene posto quindi a sgocciolare. In questa fase si procede alla selezione delle gonadi, che vengono classificate in diverse categorie sulla base delle dimensioni, dell'integrità, del colore e della presenza di eventuali macchie. Le gonadi di prima qualità sono destinate alla linea "*fresco-refrigerato*", e hanno colore giallo-arancio o rosso vivo intenso, buona consistenza e lunghezza pari a 4-5 cm. Le gonadi di colore giallo-marrone, meno consistenti, di piccole dimensioni o sgretolate, sono destinate alla linea "*surgelato*". Le gonadi che non rispettano i requisiti minimi legati

all'aspetto vengono scartate. Questa selezione è più evidente negli impianti in cui si adottano linee separate "*fresco*" e "*surgelato*".

Il prodotto fresco viene dosato (automaticamente o manualmente), confezionato e sigillato in vasetti in vetro o in materiale plastico con coperchio termosaldato. Sulla confezione viene applicata l'etichetta, recante: la denominazione commerciale, lo stato fisico del prodotto ("*Polpa di Riccio fresca*") e il nome scientifico della specie (*Paracentrotus lividus*); il numero di riconoscimento CE dello stabilimento di produzione (CSM - "*IT0123CE*"), l'identità e l'indirizzo del produttore; la zona e il metodo di cattura ("*pescato Zona FAO 37.1.3*"); gli attrezzi da pesca usati per la raccolta del Riccio; il numero di lotto; il peso netto del prodotto; la possibile presenza di tracce di aculei e gusci; le modalità di conservazione (refrigerazione) e la data di scadenza ("*da consumarsi entro ...*" 3-5 giorni). Il prodotto confezionato viene, quindi, stoccato alla temperatura di refrigerazione (0-7 °C) e il mantenimento della catena del freddo viene garantito anche nelle successive fasi di spedizione e trasporto, effettuati in condizioni di isolamento isotermico, e di commercializzazione. La temperatura deve essere sempre inferiore ai 7 °C, anche in ambiente domestico.

Conserve: salagione-essiccazione e trattamento termico

Nel mercato extra-europeo è possibile trovare prodotti salati, essiccati e conservati in atmosfera controllata (MAP o SV), conservati in alcool previa o meno sterilizzazione o in soluzione acquosa al 3% di NaCl, sterilizzati e surgelati o solo surgelati. In Europa è difficile reperire questa tipologia di prodotti, mentre è molto diffuso il commercio e la

produzione di semi-conserve, in modo particolare in Spagna, che è il Paese maggiormente vocato alla pesca e alla lavorazione dei Ricci di mare. Una gran parte del prodotto, inoltre, viene importata dal Cile (extra-UE).

Le semi-conserve di Polpa di Riccio sono confezionate in contenitori in banda stagnata o in vasetti di plastica o vetro (preferito dal consumatore che, all'atto dell'acquisto, può osservare il contenuto e verificare l'assenza di difetti o di colorazioni anomale), ed ha una vita commerciale variabile, di mesi o anni.

- **Polpa di Riccio trattata con le Alte Temperature**

Trattandosi di un alimento altamente deperibile, il trattamento termico a cui viene sottoposto più frequentemente è la sterilizzazione della Polpa già confezionata in banda stagnata o in vetro. Il prodotto viene dosato per ciascuna confezione, viene quindi aggiunto il liquido di governo, ripesato e ispezionato (Figura 12).

Alcuni prodotti presenti sul mercato sono pastorizzati a temperature inferiori ai 100 °C. Tuttavia, essendo prodotti instabili (semiconserve con pH > 4,5), è necessario associare al trattamento la conservazione in ambiente refrigerato (< 7 °C) e una *shelf-life* limitata (giorni o mesi). La sterilizzazione, invece, prevede l'associazione di temperature superiori ai 110 °C per almeno 90 secondi (o altri adeguati *range* di tempo-temperatura), al fine di stabilizzare il prodotto, consentendo la conservazione anche a temperatura ambiente. Le confezioni, opportunamente raffreddate dopo il processo, vengono sottoposte a prove di stabilità (un campione/lotto) e stoccate.



Figura 12 Diagramma di flusso della Polpa di Riccio trattata termicamente con le Alte Temperature.

Il trattamento di sterilizzazione prolunga la *shelf-life* del prodotto in termini di anni (vita residua \geq a 24 mesi: *sterilità commerciale*), ma incide pesantemente sulle sue caratteristiche fisiche e sensoriali, e ne compromette irreversibilmente la freschezza originale.

Nell’etichetta delle conserve devono essere riportati:

- la denominazione commerciale del prodotto (“*Polpa di Riccio*”) con l’elenco degli ingredienti: Uova di Riccio della specie *P. lividus*, acqua e sale marino (liquido di governo, indicato con la dicitura “*al naturale*”);

- l’eventuale aggiunta di additivi conservanti e coloranti, quali aromi naturali o correttori di acidità. Spesso si utilizza l’acido citrico (E330) che, riducendo il pH al di sotto della soglia ottimale di proliferazione microbica, aumenta la conservabilità;
- la possibile ed involontaria presenza di tracce di aculei e gusci;
- le raccomandazioni sulle modalità di conservazione in condizioni igieniche prima (in luogo fresco e asciutto) e dopo l’apertura (a temperatura di refrigerazione: 4-7 °C), e le indicazioni per il consumo (entro 3 giorni dall’apertura);
- il Termine Minimo di Conservazione (TMC: *“da consumarsi preferibilmente entro”*).

In etichetta possono essere riportate informazioni aggiuntive riguardanti le caratteristiche organolettiche, l’aspetto esteriore (*colore tipico della specie; odore e gusto tipico di mare*) e la dichiarazione nutrizionale (energia, grassi, carboidrati, proteine, sale, contenuto in colesterolo, sodio, calcio). Nei prodotti sterilizzati in banda stagnata (contenitore metallico) e con aggiunta esclusiva di sale, si raccomandano la conservazione dopo l’apertura in un contenitore di altro materiale e il consumo entro un giorno.

• **Polpa di Riccio trattata con le Basse Temperature**

La surgelazione rappresenta un trattamento conservativo che sfrutta le basse temperature e che consente di ottenere un prodotto che, tra tutti, è più simile al prodotto fresco (Figura 13). Consiste in un congelamento rapido o ultrarapido, ottenuto mediante diverse tecniche. Il metodo più impiegato prevede il contatto dell’alimento con piastre fredde ed è adatto ai prodotti di forma regolare. La surgelazione a secco, mediante impiego di aria a circolazione forzata (-40/-50 °C), o per

via umida, attraverso immersione in salamoia sottoraffreddata, sono raramente utilizzate.



Figura 13 Diagramma di Flusso della Polpa di Riccio trattata termicamente con le Basse Temperature.

La fase preliminare prevede la preparazione delle piastre e delle confezioni: l'impianto di congelamento viene pre-raffreddato insieme alle piastre. Gli stampi o le confezioni singole (solitamente in materiale plastico, dotate di tappo a pressione), sono collocate in singolo strato su appositi vassoi, a loro volta posti tra le piastre. È fondamentale il mantenimento costante della temperatura, di norma pari a $-40/-30$ °C (in media -35 °C), in modo tale da raggiungere in breve tempo (30 minuti, sino ad un massimo di 4 ore) la temperatura di -18 °C a cuore, che, peraltro, rappresenta la temperatura di stoccaggio, commercializzazione e conservazione (≤ -18 °C). Un altro aspetto non

trascurabile, riguarda l'igiene della materia prima e dei contenitori per il confezionamento (Figura 14).



Figura 14 Polpa di Riccio Surgelata (Fonte: Internet).

L'etichetta della Polpa di Riccio surgelata riporta le stesse informazioni indicate per il prodotto fresco refrigerato. Viene, chiaramente, segnalato il trattamento termico subito dal prodotto ("surgelato"). La *shelf-life* è variabile e dipende della potenza refrigerante degli apparecchi utilizzati per lo stoccaggio (codice a stelle indicato nel freezer o nel frigo-congelatore): in genere non supera i 12 mesi, se viene garantita una temperatura \leq ai $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (****; ***/ $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ = 1 mese; **/ $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ = 1 settimana; scompartimento ghiaccio-frigorifero/ $0-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ = 3 giorni). Una volta avvenuto lo scongelamento completo, si raccomanda il consumo entro le 24 ore.

02. TECNOLOGIE INNOVATIVE

Alte Pressioni Idrostatiche (*High Hydrostatic Pressure* o HHP)

Per ovviare alle modificazioni sensoriali derivanti dal trattamento del prodotto con le alte temperature, un Ente di Ricerca della Regione Sardegna (Porto Conte Ricerche), ha realizzato degli studi approfonditi sull'impiego di tecnologie di stabilizzazione

innovative e alternative, applicabili a diversi prodotti alimentari, che sfruttano le Alte Pressioni Idrostatiche (*High Hydrostatic Pressure* o HHP o *Pascalizzazione*), anziché i trattamenti convenzionali (Roggio *et al.*, 2006). Pur trattandosi di un processo atermico di condizionamento degli alimenti, ascrivibile alle cosiddette “*mild technologies*”, ha un effetto letale nei confronti di microrganismi potenzialmente pericolosi per la salute umana ed è in grado di frenare la proliferazione della microflora alterante, senza incidere sulle caratteristiche organolettiche (“*fresh-like*”) e nutrizionali dell’alimento (“*minimally processed food*”).

Il trattamento HHP consiste nell’applicazione di una compressione isostatica su un materiale (in questo caso, l’alimento) attraverso l’impiego di un mezzo fluido incomprimibile di trasmissione della pressione (acqua), contenuto in un recipiente pressurizzato. La tecnologia si basa sull’applicazione del Principio di Pascal, secondo il quale “*una pressione esercitata in un punto su un fluido incomprimibile si distribuisce uniformemente in tutte le direzioni e con la medesima intensità in tutti i punti del liquido e anche sulla superficie di un corpo immerso in quel liquido*” (Carlucci, 2014; Nettuno, 2014).

I vantaggi del trattamento sono molteplici: la pressione è trasmessa *istantaneamente*, in modo *equivalente, omogeneo ed integrale* sul prodotto (pressione isostatica), indipendentemente dalla sue dimensioni e dalla sua geometria; è applicabile agli alimenti liquidi e solidi (per questi ultimi, prima dell’immersione nel fluido, è previsto il confezionamento SV); è possibile processare il prodotto a temperatura ambiente (Carlucci, 2014).

L'impianto HHP è composto da un contenitore in metallo a pareti spesse e resistente alle alte pressioni (*camera di pressurizzazione*) e da un generatore di pressione provvisto di un sistema di pompe a stantuffo che effettuano la compressione del prodotto attraverso l'impiego di un mezzo fluido (Carlucci, 2014).

Nella Figura 15 è illustrato il diagramma di flusso con le fasi del processo tecnologico applicato al trattamento delle gonadi di Riccio di mare. Solitamente i Ricci sono sottoposti al processo nell'arco della giornata di pesca, previa misurazione del pH (circa 6,1) e dell' a_w (0,98).



Figura 15 Diagramma di Flusso Alte Pressioni Idrostatiche - HHP.

Nella fase preliminare è necessario confezionare il prodotto utilizzando contenitori in materiale flessibile (buste di film plastico ad alta barriera o coppette), in grado di trasmettere la pressione. Il prodotto viene quindi introdotto nella camera iperbarica, all'interno della quale, una volta chiusa, si aumenta la pressione sino al raggiungimento del valore prestabilito, che viene mantenuto per un preciso tempo di

sosta. Solitamente si utilizzano pressioni comprese tra 300 e 600 Mega Pascal (MPa), per 10 minuti. L'elevata pressione determina un fisiologico aumento della temperatura (2-3 °C/100 MPa). Spesso si fa ricorso ad un sistema combinato pressione-temperatura, che prevede un incremento volontario della stessa (20, 35 e 50 °C) e che, pur causando una modifica parziale delle caratteristiche organolettiche e nutrizionali dell'alimento, garantisce una maggiore efficacia del trattamento, in termini di sicurezza. Se la pressione applicata è inferiore ai 500 MPa, il processo dà gli stessi risultati della pastorizzazione. In questo caso, è necessario associare al trattamento lo stoccaggio a temperatura di refrigerazione (0-4 °C). Al contrario, l'utilizzo di pressioni superiori ai 500 MPa determina un notevole incremento della temperatura (sino a 60 °C), che conferisce al prodotto la *sterilità commerciale* e lo rende stabile a temperatura ambiente.

Terminato il processo, seguono la decompressione, lo scarico, l'asciugatura e l'etichettatura del prodotto, che viene stoccato e commercializzato a temperatura di refrigerazione.

La sensibilità dei diversi microrganismi alle HHP (*barosensibilità*) è molto variabile e dipende anche dalle caratteristiche intrinseche ed estrinseche dell'alimento (a_w , pH, presenza di NaCl, temperatura). La gran parte delle specie batteriche è in grado di moltiplicarsi a pressioni inferiori a 200-300 atmosfere. I microrganismi si distinguono in *barofili*, in grado di svilupparsi a pressioni superiori a 500-600 MPa, e *barodurici*, capaci di sopravvivere a pressioni comprese tra 500 e 2000 MPa. Tra questi ultimi, sono compresi i virus e le spore (fungine e batteriche), molto più resistenti al trattamento

rispetto alle forma vegetative. I lieviti e le muffe sono molto sensibili alle HHP, mentre i Gram negativi sono più sensibili dei Gram positivi. Non è nota l'associazione tempo-temperatura-livello di pressione in grado di inattivare le spore di *Clostridium botulinum*, ma è stata dimostrata la parziale distruzione con pressione superiore ai 600 MPa. Contro le micotossine sono necessari 500 MPa per 60 minuti a temperatura ambiente, mentre i Virus (*HIV*, *HAV*, *Herpes virus* e virus influenzali) sono inattivati dai dosi superiori ai 400 MPa (Carlucci, 2014).

Una ricerca eseguita nel 2006 da Roggio *et al.* (Porto Conte Ricerche) ha valutato l'efficacia dell'applicazione delle HHP sulla Polpa di Riccio, attraverso le determinazioni microbiologiche (Tabella 2), sensoriali e reologiche eseguite sul prodotto *pre-* (*controllo*) e *post-*processo, delle quali vengono riportati di seguito i risultati analitici.

Tabella 2 Determinazioni Microbiologiche *pre-* e *post-*processo HHP. Polpa di Riccio trattata con pressioni pari a 350-450 MPa e temperatura di 35-50 °C (Roggio *et al.*, 2006 – Porto Conte Ricerche).

Determinazioni microbiologiche	Campioni non trattati	Campioni trattati con HHP
Carica mesofila aerobia-anaerobia Carica psicofila aerobia	≤ 10 ⁴ UFC/g	≤ 10 ² UFC/g (60 gg a 4 °C) ¹
Lieviti, Stafilococchi, Coliformi totali, Enterococchi, Enterobatteri alteranti ²	10-10 ² UFC/g	assenza o < 10 UFC/g (60 gg a 4 °C)
<i>Vibrio spp</i> , <i>Clostridi solfito-riduttori</i>	< 1 UFC/g	assenza o < 1 UFC/g

Nota 1 Il prodotto non trattato, dopo 40 gg a 4 °C presentava carica ≥ 10⁶ UFC/g

Nota 2 Tra gli enterobatteri alteranti sono inclusi Gram negativi patogeni, tra cui i ceppi VTEC di *E. coli*

Le prove sperimentali hanno confermato (Carlucci, 2014) l'effetto distruttivo (letale) delle HHP sui microrganismi (deformazione strutturale della parete batterica, denaturazione proteica e inattivazione enzimatica, blocco totale dell'attività metabolica).

Parallelamente alle analisi microbiologiche, sono state eseguite le determinazioni sensoriali e reologiche sui campioni di Polpa di Riccio non trattati e trattati con le alte pressioni, attraverso *Panel test*, prove di condimento e di spalmabilità del prodotto in preparazioni culinarie tipiche (*Test di Accettabilità*). Al *Panel test* hanno partecipato 15 assaggiatori, i quali hanno espresso un giudizio sul gusto delle diverse unità campionarie presentate in forma anonima (prodotto non trattato e prodotti trattati a differenti condizioni di pressione e temperatura). I risultati sono stati espressi tramite una scala di valori da 1 a 5: cattivo, né buono né cattivo, abbastanza buono, buono, molto buono. Il *Panel test* ha rivelato che la percezione del gusto e le caratteristiche organolettiche del prodotto trattato sono molto simili (punteggi tra 4 e 5) a quelle del non trattato (*controllo*). Le valutazioni sulla *reologia* dei vari campioni (Figura 16) hanno mostrato che il trattamento HHP a pressioni inferiori ai 450 MPa determina una differenza di *colore* apprezzabile visivamente (*“rilevante”*), ma definita *“non sostanziale”*, e non incide in modo considerevole sulle proprietà strutturali della Polpa di Riccio di riccio che, nei prodotti trattati, sono analoghe a quelle del prodotto fresco.

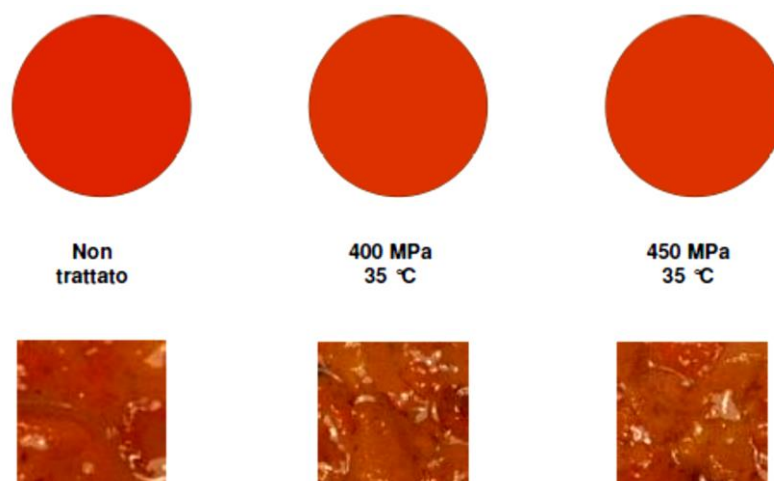


Figura 16 Confronto visivo del colore della Polpa di riccio non trattata e trattata con HHP (Roggio *et al.*, 2006 – Porto Conte Ricerche).

L'impiego di valori di pressione e temperatura pari o superiori a quelli indicati (> 500 MPa e > 50 °C) comporta la perdita delle caratteristiche sensoriali tipiche del prodotto fresco e la comparsa di cambiamenti nella struttura soprattutto in termini di spalmabilità. Tali caratteristiche si rivelano quindi incompatibili con gli obiettivi dell'industria e le aspettative del consumatore.

I risultati ottenuti dimostrano l'efficacia del trattamento con le alte pressioni idrostatiche che, tuttavia, non garantisce la completa assenza del rischio microbiologico, e, per tale ragione, deve essere necessariamente associato alla refrigerazione, per garantire un prodotto privo di pericoli e analogo al fresco (Roggio *et al.*, 2006).

Controlli sanitari

01. NORMATIVA COMUNITARIA DI RIFERIMENTO E CONTROLLI UFFICIALI

La raccolta degli Echinodermi è configurata come “*produzione primaria*”, soggetta pertanto alle disposizioni contenute nel Regolamento (CE) n. 853/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 sull’*igiene dei prodotti alimentari*. L’operatore del settore alimentare (OSA) è il responsabile della sicurezza alimentare e ha l’obbligo di produrre alimenti privi di rischio dal punto di vista igienico-sanitario, attraverso l’applicazione delle Buone Pratiche Igieniche (GHP) e di Lavorazione (GMP) e delle procedure basate sui principi del sistema HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Point*).

Il Regolamento (CE) n. 853/2004 *che stabilisce norme specifiche in materia di igiene dei prodotti di origine animale*, equipara gli Echinodermi ai Molluschi Bivalvi Vivi riguardo ai controlli effettuati lungo la filiera di produzione, ad eccezione delle disposizioni relative alla depurazione (Sezione VII dell’allegato III). La raccolta dei Ricci può essere effettuata solo in acque classificate dall’Autorità Competente, secondo le disposizioni relative alla classificazione delle zone di produzione (capitolo II, parte A). Il monitoraggio delle aree di raccolta prevede la determinazione di *Escherichia coli*, batterio indicatore di contaminazione fecale, in applicazione del metodo ISO 16649-3. La definizione della classe dell’area di raccolta indica il trattamento cui devono essere

sottoposti i prodotti per poter essere commercializzati, e prevede che i livelli di *Escherichia coli* siano inferiori o uguali a 230 MPN/100 grammi di parte edibile (MPN: *Most Probable Number*). I prodotti raccolti nella zona classificata come “A” possono essere consumati senza subire trattamenti di depurazione o stabulazione, diversamente da quelli provenienti da zone “B” o “C”. Poiché i Ricci, a differenza dei molluschi bivalvi, non sono filtratori, non vengono sottoposti a depurazione, e devono essere raccolti esclusivamente in aree classificate come classe “A”.

La normativa obbliga la vendita al consumatore del prodotto fresco e vivo attraverso un centro di spedizione (CSM) autorizzato (Reg. CE n. 853/2004, Allegato III, sezione VII, Capitolo I), che deve rispettare i requisiti di igiene prescritti dalla normativa (Cap. IV: mantenimento della catena del freddo, mezzi di trasporto idonei), e che ha la facoltà di confezionare i Ricci in imballaggi sigillati e apporvi un’etichetta contenente il marchio di identificazione e le informazioni obbligatorie (Cap. VI-VII).

Per i controlli ufficiali sugli Echinodermi vivi è previsto il monitoraggio periodico per la ricerca di plancton tossico e di biotossine marine (PSP o *Paralytic Shellfish Poison*, ASP o *Amnesic Shellfish Poison*, DSP o *Diarrhetic Shellfish Poison*) nelle acque di produzione. Qualora le quantità riscontrate superino i limiti previsti dal Regolamento (CE) n. 853/2004, i Ricci sono dichiarati non idonei al consumo umano.

Gli Echinodermi freschi destinati al consumo umano devono conservare, all’atto della vendita, le caratteristiche di freschezza e vitalità. Dopo la raccolta devono essere protetti da compressioni, esposti a temperature compatibili con la vitalità e la sicurezza alimentare, in condizioni di trasporto idonee. Al momento dell’ispezione, per

determinare lo stato di conservazione dei Ricci, si effettuano dei controlli a campione che valutano l'aspetto generale (assenza di sudiciume sulla superficie) e l'odore, tipico di salso nei soggetti vivi, che diventa progressivamente pungente e sgradevole. La valutazione della vitalità consiste nell'osservazione del movimento degli aculei dopo adeguata stimolazione. Per valutare lo stato di commestibilità delle parti interne si procede con l'incisione del Riccio che provoca la fuoriuscita del liquido celomatico, limpido e inodore nei Ricci vivi. Col sopraggiungere della morte, che si verifica dopo tre giorni dalla cattura, si osservano i fenomeni *post-mortali*: perdita di tonicità degli aculei sino al distacco; intorbidimento del liquido celomatico, che diventa sgradevole; scollamento e rammollimento delle gonadi; pervietà completa delle aperture boccale e anale. Si può, inoltre, valutare il peso dei Ricci e il tono del rumore ottenuto alla percussione, poiché con il passare del tempo diventano sempre più leggeri a causa della perdita del liquido celomatico (Palese *et al.*, 1991; Manzoni, 2010).

Gli Echinodermi destinati al consumo umano, inoltre, devono rispettare i principi previsti dall'Allegato II del Regolamento (CE) n. 854/2004 (*Norme specifiche per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano*) e dal Regolamento (CE) n. 2073/2005 (*Criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari*). Entrambi i Regolamenti sono stati modificati dal Regolamento (UE) 2015/2285 della Commissione dell'8 dicembre del 2015, applicabile a decorrere dal 1° Gennaio del 2017, che revisiona alcuni requisiti dei Molluschi Bivalvi Vivi e degli Echinodermi (Allegato II del Regolamento CE 854/2004 e Allegato I del Regolamento CE 2073/2005). I criteri di sicurezza alimentare si applicano ai prodotti immessi sul mercato e devono essere rispettati durante l'intero periodo di conservabilità. Il Reg.

(CE) 2073/2005 definisce che la *Salmonella* deve essere assente in 25 grammi di prodotto, per le cinque unità campionarie previste, e che l'*E. coli* deve avere valori non superiori a 230 MPN/100 grammi di polpa e liquido intervalvare. Dal gennaio del 2017 è prevista una maggiore tolleranza per l'*E. coli*: il controllo sarà effettuato su cinque unità campionarie ($n = 5$), di cui una ($c = 1$) potrà avere valori compresi tra $m = 230$ MPN/100 grammi e $M = 700$ MPN/100 grammi di polpa e liquido intervalvare.

La Polpa di Riccio, raccolta e confezionata per la vendita, viene definita un "*Prodotto della Pesca*", per cui la normativa impone il rispetto delle norme igienico-sanitarie specifiche da parte dello stabilimento di produzione riconosciuto CE o dell'esercizio al dettaglio con laboratorio annesso o del ristorante che effettua la somministrazione diretta al consumatore (Cattaneo *et al.*, 2010; Terrosu *et al.*, 2011; Guidi, 2012).

L'inosservanza della normativa vigente comporta pesanti sanzioni pecuniarie amministrative, nonché risvolti di natura penale (DLgs n. 193 del 2007).

Sulla base delle Linee Guida Nazionali (Conferenza Stato Regioni 79/CSR, 08.07.2010 "*Applicazione del Regolamento CE 854/2004 e del Regolamento CE 853/2004 nel settore dei molluschi bivalvi*") e delle indicazioni fornite dal Ministero della Salute e dalle ASL, le Regioni e le Province Autonome devono predisporre dei programmi per definire la natura (qualità microbiologica; biotossine algali; contaminanti chimici) e la frequenza dei controlli che devono essere effettuati regolarmente nelle fasi di produzione, confezionamento, somministrazione e commercializzazione dei Molluschi Bivalvi Vivi e, per analogia, degli Echinodermi. La Regione Autonoma della Sardegna, con la Determinazione n. 296 del 08.04.2016 della Direzione Generale della Sanità

(Servizio Sanità pubblica veterinaria e sicurezza alimentare) ha approvato la revisione per l'anno 2016 del "Piano Regionale di controllo ufficiale sulla produzione e commercializzazione dei Molluschi Bivalvi Vivi". Nel 2008, l'Assessorato dell'Agricoltura (Servizio Pesca), competente per la classificazione delle aree di produzione dei Molluschi Bivalvi, ha provveduto a classificare le acque marino-costiere della Sardegna, ai fini della raccolta del Riccio di mare (Determinazione Dirigenziale Servizio Pesca 31.10.2008, n. 21573/797). Sulla base di evidenze scientifiche pregresse, derivanti dalle attività di monitoraggio ufficiale delle acque, che hanno evidenziato uno scarso rischio di contaminazione microbiologica degli Echinodermi, tutte le coste della Sardegna sono state classificate come zone di classe "A" ai fini della raccolta del *Paracentrotus lividus* (Tabella 3). Non sono incluse le aree portuali, le zone industriali e le aree dove sono presenti fonti di contaminazione quali foci di fiumi, scarichi industriali, scarichi di fogne urbane entro un raggio di 500 metri, in cui la raccolta è chiaramente interdetta.

Tabella 3 Piano di Monitoraggio Sanitario Echinodermi – Regione Autonoma della Sardegna (2008).

Campione esaminato	Parametri Analizzati	Risultati	
300 Ricci (parte edibile)	Microbiologici	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Salmonella spp.</i> • <i>Vibrio parahaemolyticus</i> • <i>Aeromonas hydrophila</i> 	Negativo
	Chimici	<ul style="list-style-type: none"> • Piombo • Mercurio • Cadmio 	→ 2,25 mg/Kg¹
	Biotossicologici	<ul style="list-style-type: none"> • PSP • DSP • ASP 	Negativo

Nota 1 Il Reg. (CE) 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari prevede per il Piombo il limite 1,5 mg/Kg di peso fresco.

Il Piano Regionale, sulla base dell'analisi del rischio, non prevede per il 2016 il controllo delle biotossine algali e dei contaminanti chimici, data la scarsa capacità di accumulo dei Ricci, che rende irrilevante il rischio sanitario ad essi associato.

02. DETERMINAZIONI MICROBIOLOGICHE

Una ricerca eseguita nel 1995 su campioni di Riccio di mare prelevati nel litorale costiero di Alghero, ha evidenziato la costante assenza, nelle parti eduli degli esemplari esaminati, di patogeni quali *Salmonella spp* e vibroni (*Vibrio parahaemolyticus* e *V. cholerae*), e la presenza di *E. coli* esclusivamente in campioni provenienti da zone di raccolta a rischio, prospicienti agglomerati urbani, in prossimità di aree interessate da inquinamento fecale (Virgilio *et al.*, 1995).

Le ulteriori analisi effettuate negli anni successivi, su campioni di Ricci freschi e di "Polpa di Riccio" confezionata, hanno confermato la costante assenza nel prodotto fresco di *Salmonella spp* e *V. parahaemolyticus*, e la presenza di *E. coli* (100-400 MPN/100 g) nei campioni freschi prelevati da aree portuali e prossime agli agglomerati urbani (zone ad elevato rischio di inquinamento fecale delle acque) e nella polpa da questi ottenuta. La stessa ricerca ha rilevato la presenza, seppure in concentrazioni non rilevanti, di *Aeromonas hydrophila* e *Vibrio vulnificus* (Virgilio *et al.*, 1999).

L'analisi dei risultati dei campionamenti ufficiali effettuati tra il 2003 e il 2008, ad opera del Servizio Veterinario dell'ASL n. 1 di Sassari e in collaborazione con l'IZS della Sardegna, su campioni di Riccio di mare prelevati nell'area costiera di Alghero, conferma le tendenze dei precedenti studi: *Salmonella spp* e *Vibrio parahaemolyticus*

sono assenti, mentre si riscontrano concentrazioni basse di *Escherichia coli* (< alle 10 UFC/100 grammi), *Vibrio vulnificus* e *Aeromonas hydrophila*, esclusivamente in Ricci raccolti in aree ad alto rischio di contaminazione fecale (Terrosu *et al.*, 2011).

Una ricerca effettuata in Sardegna nel 2009, ha confrontato gli aspetti microbiologici delle gonadi del Riccio di mare commercializzate in Sardegna attraverso il circuito legale ed illegale (Tabella 4).

Tabella 4 Aspetti microbiologici delle gonadi di Riccio di mare della specie *Paracentrotus lividus*, commercializzati in Sardegna attraverso il circuito legale e illegale (Floris *et al.*, 2009).

	Conta Aerobica Totale ¹	<i>Enterobacteriaceae</i> ²	Coliformi totali e fecali ³
Circuito legale			
Valori medi	679 ± 331 σ UFC/g	54 ± 30 UFC/g	52 ± 26 UFC/g
Valori min/max	255 - 2320 UFC/g	0 - 155 UFC/g	0 - 160 UFC/g
Circuito illegale			
Valori medi	29625 ± 16864 σ UFC/g	921 ± 409 UFC/g	593 ± 232 UFC/g
Valori min/max	5800 - 142000 UFC/g.	15 - 3450 UFC/g	50 - 1625 UFC/g

Nota 1 Semina per inclusione su *Plate Count Agar* (PCA), 48 ore di incubazione a 30 °C

Note 2 Semina in *Violet Red Bile Glucose Agar* (VRBGA), 24 ore di incubazione a 37 °C

Note 3 Semina su *Violet Red Bile Agar Mug* (VRBA-MUG), 24 ore di incubazione a 37 °C

I dati riportati nella Tabella 4 consentono di affermare che esiste una significativa differenza tra la carica microbica dei Ricci provenienti dal mercato legale e quella delle gonadi acquistate dai rivenditori abusivi. Le modalità di manipolazione, confezionamento e conservazione delle gonadi di Riccio di mare, pertanto, rappresentano punti critici per il mantenimento delle loro caratteristiche qualitative (Floris *et al.*, 2009).

Interessanti ricerche riportate in letteratura hanno, inoltre, dimostrato che la parte edule del Riccio esercita, in virtù di peculiari caratteristiche dei gameti, un'azione di inibizione sulla crescita delle colonie batteriche. L'attività antibatterica gonadica si estrinseca con una forte azione fagocitaria e litica, operata da numerose sostanze

(lisozima, agglutinine, lisine, mucopolisaccaridi acidi, echinocromi), ed è molto evidente nei confronti di *Vibrio alginolyticus* e *V. vulnificus* (Stabili *et al.*, 1994).

03. DETERMINAZIONI BIOTOSSICOLOGICHE

I dati relativi al profilo biotossicologico si possono ricavare da un'indagine condotta nel 2005 presso il Golfo di Cugnana (Olbia) in occasione di un episodio di fioritura di microalghe tossiche del genere *Alexandrium*, in grado di produrre biotossine del tipo PSP (*Paralytic Shellfish Poison*). La ricerca ha evidenziato il fenomeno dell'accumulo delle tossine paralizzanti nei Molluschi Bivalvi ma non negli Echinodermi, organismi con presentano caratteristiche fisiologiche ed ecologiche diverse (Virgilio *et al.*, 2005).

04. DETERMINAZIONI CHIMICHE

Sostanze Inquinanti

Il Mar Mediterraneo a causa del limitato ricambio idrico, risulta estremamente sensibile all'accumulo di sostanze inquinanti organiche persistenti (POPs, *Persistent Organic Pollutants*), che possono portare ad una progressiva degradazione dell'ecosistema marino. Tra queste sostanze sono inclusi pesticidi, sostanze chimiche industriali e PCB (*Polichlorobifenili*), diossine e furani. Uno studio pubblicato nel 2013, ha confermato la presenza nelle gonadi di Riccio di Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA), sostanze ubiquitarie, diffuse in tutti i comparti ambientali (atmosfera, suolo, acqua) e cancerogene per l'uomo. I risultati del monitoraggio effettuato indicano, inoltre, che il Riccio rappresenta un ottimo indicatore per la valutazione della

contaminazione ambientale, non solo degli IPA ma anche di altre sostanze tossiche presenti nell'ambiente, come metalli pesanti, PCB e fitofarmaci (Porcu, 2013).

Metalli pesanti

Nel corso del 2008, in Sardegna, durante la fase di classificazione delle acque destinate alla raccolta del Riccio di mare, è stata rilevata in un campione la presenza di Piombo, pari a 2,25 mg/Kg di parte edule esaminata, superiore ai limiti (1,5 mg/Kg) prescritti dal Regolamento (CE) 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari (Tabella 3). Trattandosi di un reperto occasionale, non ha destato preoccupazione.

L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVE) ha valutato i livelli di Piombo (Pb), Mercurio (Hg) e Cadmio (Cd) in Molluschi bivalvi, Gasteropodi ed Echinodermi, analizzando i dati raccolti durante il periodo 2007-2012, nell'ambito delle attività di classificazione e monitoraggio igienico-sanitario delle zone di produzione del Veneto (Tabella 5). Nei campioni di Riccio di mare esaminati (n = 41) le concentrazioni di Pb e Hg sono risultate ampiamente al di sotto dei limiti previsti dalla normativa vigente, mentre sono state riscontrate solo occasionalmente concentrazioni di Cd superiori al limite di legge di 1 mg/kg⁻¹ (Bille *et al.*, 2014).

Tabella 5 Concentrazioni medie e deviazioni standard di Piombo, Mercurio, Cadmio riscontrate nel periodo compreso tra il 2007 e il 2012 in un campione di n = 41 Ricci di mare (IZSVE).

Pb (limite 1,5 mg/kg ⁻¹)	Hg (limite 0,5 mg/kg ⁻¹)	Cd (limite 1,0 mg/kg ⁻¹)
0,16 ± 0,09	0,04 ± 0,02	0,11 ± 0,35

Materiali e metodi

Nel periodo compreso tra il mese di marzo del 2015 e il mese di aprile del 2016, nell'ambito del "Piano Regionale Molluschi Bivalvi Vivi", i Servizi Veterinari delle Aziende Sanitarie Locali (ASL) territorialmente competenti, hanno eseguito dei campionamenti ufficiali di *Paracentrotus lividus*. Sono stati prelevati 20 campioni, costituiti ciascuno da circa 20 esemplari, da diverse zone costiere della Regione Sardegna (Figura 17):



- **ASL 2 Olbia:** n = 10 campioni (Golfo di Olbia);
- **ASL 4 Lanusei:** n = 1 campione (Stagno di Tortoli);
- **ASL 5 Oristano:** n = 2 campioni (Mari Ermi, Su Pallosu);
- **ASL 8 Cagliari:** n = 7 campioni (Santa Gilla, Zona 3).

Figura 17 Aree di prelievo dei campioni ufficiali di Ricci della specie *Paracentrotus lividus* ("Piano Regionale Molluschi Bivalvi Vivi"), Marzo 2015-Aprile 2016 (IZSSa).

I Ricci prelevati, posti in contenitore pulito, in condizioni tali da non pregiudicarne la sopravvivenza, e conservati a temperatura controllata (refrigerazione), sono stati

recapitati, entro poche ore dalla raccolta, presso il Laboratorio di Microbiologia e Ispezione degli Alimenti dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna (Sassari). Ciascun campione, identificato con idonea etichetta (specie, coordinate del punto di prelevamento, data e firma del responsabile del prelievo ASL), è stato sottoposto a prova per la ricerca dei seguenti microrganismi, indicati nel verbale di accompagnamento e previsti dalle norme di riferimento:

- *E. coli* β -glucuronidasi positivi (motivo del prelievo: monitoraggio periodico delle zone di produzione, raccolta e stabulazione; criteri di sicurezza alimentare presso centri spedizione e depurazione; qualità microbiologica degli Echinodermi vivi presso la zona di produzione);
- *Vibrio parahaemolyticus* (motivo del prelievo: criteri di sicurezza alimentare presso centri spedizione e depurazione);
- *Salmonella spp* (motivo del prelievo: criteri di sicurezza alimentare presso centri spedizione e depurazione).

01. RICERCA DI *Escherichia coli*

Per la ricerca di *E. coli* è stato utilizzato un terreno solido cromogenico addizionato di substrati per evidenziare l'attività beta-glucuronidasica (terreno TBX, *Tryptone Bile X-Glucuronide medium, Oxoid*). *E. coli* idrolizza i substrati cromogenici del terreno agarizzato mediante l'enzima beta-glucuronidasi. Le colonie crescono dopo incubazione a 44 °C per 18-24 ore e si presentano di colore blu/verde (colonie cromogeniche).

02. RICERCA DI *Vibrio parahaemolyticus*

Si applica la metodica ISO 8914:1990 (*Microbiology - General guidance for the detection of Vibrio Parahaemolyticus*). La semina è stata eseguita in due brodi di arricchimento (*Salt polymixin B broth* e *Acqua peptonata alcalina salina*), mentre per l'isolamento sono stati utilizzati due terreni selettivi (*TCBS Agar - Thiosulfate citrate bile e sucrose agar* e *Triphenyltetrazolium chloride soya tryptone agar*), previa incubazione a 37 °C per 24-48 ore. L'identificazione delle colonie sospette è stata effettuata mediante test microscopici e biochimici; le colonie Gram negative, saccarosio negative, ossidasi positive e positive al test di mobilità, sono state seminate in TSI-S (*Triple sugar saline iron agar*) e identificate mediante *Gallerie Biochimiche API 20 E*.

03. RICERCA DI *Salmonella spp.*

La metodica in uso per la ricerca di *Salmonella spp.* è definita dalla norma internazionale ISO 6579:2008 e si basa su 4 step successivi:

1. Pre-arricchimento in terreno liquido non selettivo: semina di 25 grammi di campione in *acqua peptonata tamponata* (BPW) e successiva incubazione a 37 °C per 16-20 ore.
2. Arricchimento in terreni liquidi selettivi: semina del brodo verde malachite-cloruro di magnesio (*Rappaport-Vassiliadis, RV*) e *Müller-Kauffmann Tetrathionate Novobiocin Broth* (MKTn) con la coltura di pre-arricchimento (Step 1) e successiva

incubazione del brodo RV a 42 °C per 24 ore e del brodo MKTTn a 37 °C per 18-24 ore.

3. Isolamento: semina delle colture di arricchimento ottenute in fase 2 nel terreno selettivo cromogeno solido *Salmonella Medium ID* (SM-ID, *BioMérieux*), incubato a 37 °C ed esaminato dopo 24–48 ore per verificare la presenza di colonie presumibilmente riferibili a *Salmonella spp.* (colore rosa), e nel terreno *Xylose Lysina Deoxycholate Agar* (XLD Agar), incubato a 37 °C per 24 ore per esaminare la presenza presunta di *Salmonella spp.* (colonie nere con alone rossastro).
4. Conferma: esecuzione di subcolture di colonie riferibili a *Salmonella spp.* isolate nel terreno selettivo di cui al punto 3 e conferma mediante test biochimici e sierologici. Per la conferma biochimica si utilizza l'Agar TSI (*Triple Sugar Iron*) e le *Gallerie Biochimiche API 20 E* o, in alternativa, le card *GNI* del sistema automatico *VITEK2* (*BioMérieux*). Per la conferma sierologica le colonie sospette vengono saggiate con siero polivalente anti-salmonella.

Risultati e Discussione

Di seguito vengono esposti i risultati delle analisi microbiologiche eseguite presso il Laboratorio di Microbiologia e Ispezione degli Alimenti, oggetto del presente studio.

Tabella 6 Risultati dei campionamenti ufficiali eseguiti nell'ambito del "Piano Regionale Molluschi Bivalvi Vivi", su Ricci della specie *Paracentrotus lividus* - Marzo 2015-Aprile 2016 (IZSSa).

Data accettazione	Località	<i>E. coli</i> β -glucuronidasi positivi ¹	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ²	<i>Salmonella Spp.</i> ²
18/03/2015	Santa Gilla - Cagliari	<18 MPN/100g	Assente	Assente
18/03/2015	Santa Gilla - Cagliari	<18 MPN/100g	Assente	Assente
15/04/2015	Santa Gilla - Cagliari	<18 MPN/100g	Assente	Assente
15/04/2015	Santa Gilla - Cagliari	<18 MPN/100g	Assente	Assente
15/04/2015	Santa Gilla - Cagliari	<18 MPN/100g	Assente	Assente
17/12/2015	Zona 3 Ricci - Cagliari	<18 MPN/100g	Assente	Assente
26/01/2016	Mari Ermi - Cabras	<18 MPN/100g	Assente	Assente
10/03/2016	Cala Sassari - Olbia	<18 MPN/100g	Assente	Assente
10/03/2016	Golfo Di Olbia	<18 MPN/100g	Assente	Assente
10/03/2016	Torre di Vignola - Olbia	<18 MPN/100g	Assente	Assente
10/03/2016	Golfo di Cugnana - Olbia	<18 MPN/100g	Assente	Assente
10/03/2016	Isola Rossa - Olbia	<18 MPN/100g	Assente	Assente
11/03/2016	Zona 3 Ricci - Cagliari	<18 MPN/100g	Assente	Assente
06/04/2016	Isola Rossa - Olbia	<18 MPN/100g	Assente	Assente
06/04/2016	Torre di Vignola - Olbia	<18 MPN/100g	Assente	Assente
06/04/2016	Cala Sassari - Olbia	<18 MPN/100g	Assente	Assente
06/04/2016	Golfo di Olbia	<18 MPN/100g	Assente	Assente
06/04/2016	Golfo di Cannigione - Olbia	<18 MPN/100g	Assente	Assente
11/04/2016	Stagno di Tortolì	<18 MPN/100g	Assente	Assente
13/04/2016	Su Pallosu - Oristano	<18 MPN/100g	Assente	Assente

Nota ¹: per *E. coli* si utilizza il metodo di conta MPN (*Most Probable Number*) in 100 grammi di prodotto edibile

Nota ²: per *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella Spp.* è prevista l'assenza in 25 grammi di prodotto edibile

Nella Tabella 6 sono riportati i risultati dei campionamenti ufficiali eseguiti tra il 2015 e il 2016. L'analisi dei dati ottenuti evidenzia l'assenza di *E. coli* β -glucuronidasi positivi, *V. parahaemolyticus* e *Salmonella spp.*

Il presente studio conferma che le gonadi degli Echinodermi rappresentano un alimento sicuro sotto il profilo microbiologico, in linea con quanto messo in luce da studi pregressi effettuati in merito e precedentemente riportati (Capitolo relativo ai "Controlli sanitari", paragrafo 02 "Determinazioni microbiologiche").

In definitiva, si può affermare che, sulla base degli accertamenti di laboratorio effettuati e dei dati epidemiologici esaminati, la Polpa di Riccio di mare, tradizionalmente consumata cruda, rappresenta un alimento caratterizzato da un livello di rischio microbiologico per la salute umana molto basso.

Per completezza di informazioni, si rimanda al capitolo sui "Controlli sanitari" (paragrafi 03 e 04), dove sono, inoltre, citati i dati epidemiologici riferiti dalla letteratura in merito alle determinazioni biotossicologiche e chimiche.

La ricerca dei virus nelle gonadi di Riccio non è stata presa in esame nel presente studio a causa dello scarso reperimento di dati epidemiologici. Si precisa, tuttavia, che le ricerche eseguite su campioni prelevati per i piani di monitoraggio regionale non hanno evidenziato la loro presenza.

Conclusioni

I risultati ottenuti dalle analisi microbiologiche sui prodotti presi in esame e l'indagine dei dati epidemiologici disponibili in letteratura confermano che i Ricci di mare, animali non filtratori, non risentono di forme di inquinamento ambientale di tipo microbiologico e tossicologico, ciò nonostante soffrono, viceversa, della presenza di inquinanti chimici ambientali (*indicatori*).

La gestione complessiva del prodotto di nicchia è caratterizzata da problematiche di varia natura, lungo tutta la filiera, dalla fase di raccolta sino al consumo del prodotto finito.

Una delle principali difficoltà riguarda l'applicazione della rigorosa normativa regionale per quanto riguarda la gestione ecologica della risorsa, la sostenibilità dei prelievi e la futura reperibilità del prodotto. Per ora l'unica soluzione al problema pare essere l'allevamento semi-artificiale delle larve e il ripopolamento delle aree depredate, già ampiamente messi in atto in Irlanda, Norvegia, Corea, Cina e Giappone.

Sulla scia delle esperienze già consolidate in questi Paesi, gli Atenei sardi (Cagliari e Sassari), hanno sperimentato la coltivazione dei Ricci in vasche a terra e a mare, conseguendo precisi obiettivi.

La pratica dell'allevamento potrebbe incrementare il numero delle attività commerciali legate al Riccio e le risorse economiche delle imprese coinvolte. Queste ultime, avendo

la possibilità di lavorare tutto l'anno, sarebbero maggiormente motivate ad effettuare investimenti e ricerche in tecnologie moderne, che non sono sostenibili nelle condizioni attuali, per garantire un prodotto sicuro e gradito al consumatore (*fresh-like*).

L'attuazione della normativa cogente (Regolamenti comunitari del "*Pacchetto Igiene*") ha profondamente modificato la gestione igienico-sanitaria, prescrivendo adattamenti strutturali e funzionali agli operatori del settore ittico, al fine di rendere al consumo un prodotto sicuro. Tuttavia, i piccoli pescatori locali meno attrezzati e non in grado di sostenere investimenti ingenti, a fronte di una stagione di pesca che ha la durata di cinque mesi e di un volume d'affari ridotto, alimentano il fenomeno della commercializzazione "*clandestina*" dei Ricci di mare freschi e della Polpa confezionata, già ampiamente praticata da soggetti "*laici*", non professionisti, per i quali tale illecito rappresenta l'unico sbocco retributivo. I Servizi Veterinari delle ASL territorialmente competenti, non possono garantire, attualmente, data la vastità e la frammentarietà del mercato, controlli igienico-sanitari efficaci e capillari lungo tutta la filiera. Il problema della manipolazione illegale della preziosa risorsa potrebbe essere, almeno in parte, risolto attraverso una politica di ampio spettro, che tenga conto del contesto generale. La tutela e la valorizzazione di questa specialità, nel rispetto delle norme igieniche, potrebbero attuarsi con l'istituzione di un marchio fiduciario di tutela e l'organizzazione di campagne informative per sensibilizzare il consumatore (Guidi, 2012; Corona, 2014).

Per ovviare alla presenza di rivendite improvvisate di Ricci freschi o lavorati ai bordi delle strade, da parte di soggetti privi di autorizzazioni igienico-sanitarie, amministrative e fiscali, nel 2011, sono state pubblicate delle linee guida per la gestione della filiera corta degli Echinodermi, in cui si propone la possibilità di commercializzare i Ricci di mare, previo passaggio presso un centro di spedizione autorizzato (CSM), attraverso i cosiddetti “*mercati del primo pescato*”. In tal modo, il pescatore professionale, previa autorizzazione comunale e parere favorevole della ASL territorialmente competente, potrebbe vendere il proprio pescato, etichettato da un CSM autorizzato, su un banco ambulante temporaneo, con annessa area di degustazione. La struttura e le attrezzature devono essere conformi alla normativa vigente (banchi costruiti in materiale lavabile e disinfettabile, rialzati dal suolo di un metro, riparati dagli agenti atmosferici, dotati di un sistema di rifornimento ed erogazione di acqua potabile e di un dispositivo per lo scarico), e deve essere garantito il rispetto della catena del freddo, attraverso un adeguato sistema di refrigerazione (Terrosu *et al.*, 2011).

Un esempio di recente gestione integrata del Riccio, sanitaria ed ecologica, è il progetto pilota “*GIRA*” (“*Gestione integrata delle risorse alieutiche*”), che, attraverso la creazione di sinergie e la cooperazione tra ASL, Regione Sardegna, Enti di Ricerca, Università e Agenzia per la protezione ambientale e la salvaguardia dell’ecosistema, ha avuto l’obiettivo di individuare strategie volte allo sviluppo sostenibile e all’uso razionale delle risorse marine, nelle località costiere dell’Isola. Il progetto ha riguardato l’attività di ripopolamento del Riccio di mare (*Paracentrotus lividus*), dell’astice (*Homarus gammarus*) e del polpo comune (*Octopus vulgaris*).

In conclusione, si evidenzia la necessità improrogabile di rielaborare le misure frammentarie ed inefficaci finora adottate, e, quindi, predisporre ed attuare un piano di gestione della filiera del Riccio di mare, che sia coerente con il contesto regionale e che sia in grado di governare l'intero comparto produttivo e distributivo della risorsa, a garanzia della tutela ecologica e commerciale del prodotto, in termini di tracciabilità e salubrità.

Bibliografia e Siti Internet consultati

- Arafa S., Chouaibi M., Sadok S., El Abed A. (2012) The Influence of Season on the Gonad Index and Biochemical Composition of the Sea Urchin *Paracentrotus lividus* from the Gulf of Tunis. Department of Valorisation and Conservation of food product, Ecole Superieure des Industries Alimentaires de Tunis; Department of Biotechnology, Institut National des Sciences et Technologies de la Mer. The Scientific World Journal. Vol. 2012, Pagg. 1-8.
- Bille L., Binato G., Toson M., Dalla Pozza M., Muzzolon O., Arcangeli G., Ricci A., Angeletti R., Piro R. (2014) Metalli pesanti in molluschi bivalvi vivi, gasteropodi marini ed echinodermi prodotti in Veneto: risultati del monitoraggio igienico sanitario dal 2007 al 2012. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD). Atti del III° Convegno Nazionale S.I.R.A.M. - Società Italiana di Ricerca Applicata alla Molluschicoltura 2014, Pagg. 14-15.
- Boudouresque C. F., Verlaque M. (2013) *Paracentrotus lividus*. Sea Urchins: Biology and Ecology. Third edition, Ed. Jhon M. Lawrence, Chapter 21, Pagg. 297-327.
- Carboni S. (2013) Research and development of hatchery techniques to optimise juvenile production of the edible Sea Urchin, *Paracentrotus lividus*. Thesis for the degree of doctor of philosophy, Institute of Aquaculture University Of Stirling. <http://dspace.stir.ac.uk/handle/1893/13178#.V4YecNerFwQ>
- Carlucci A. (2014) Tecniche tradizionali e innovative di conservazione degli alimenti. Tecnologie emergenti di sanitizzazione. Università degli Studi della Basilicata. Corso di Industrie agrarie e meccanizzazione. <https://www.google.it/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&act=8&ved=0ahUKEwjzla7VoPDNAhVE6RQKHbB1BzsQFggkMAE&url=http%3A%2F%2Fportale.unibas.it%2Fsite%2Fhome%2Fdidattica%2Fformazione-degli-insegnanti%2Fdocumento3819.html&usq=AFQjCNFBzLbOmRiiiUTI1Zkdh0I3AHnMBg&sig2=xKye3JPciWXprMnSq8Lfw&bvm=bv.126993452,d.d24>, Pagg. 30-42.
- Cattaneo P., Bernardi C. (2010) Editoriale *Food In* - Collezione di studi sull'ispezione degli alimenti di origine animale: Molluschi bivalvi vivi ed echinodermi, tunicati e gasteropodi marini vivi. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Facoltà di Medicina Veterinaria. Vol. 1, Cap. I, Pagg. 11-12; Cap. 3, Pagg. 27-32; Cap. 4, Pagg. 41-42; Cap. 7, Pagg. 60-67; Cap. 8, Pagg. 68-70.
- Ceccherelli G., Pinna S., Sechi N. (2009), Evaluating the effects of protection on *Paracentrotus lividus* distribution in two contrasting habitats, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 81, 2009, Pagg. 59-64.
- Corona S. (2014). La filiera del Riccio di mare. *Il Pesce*, 6/2014, Pag. 55. http://www.pubblicitaitalia.com/pesce/riviste/t_testata.htm
- Decreto del Ministero delle Risorse Agricole, Alimentari E Forestali del 12 gennaio 1995 Disciplina della pesca del Riccio di mare. GU Serie Generale n.20 del 25-1-1995.
- Decreto Legislativo 6 novembre 2007 n. 193 Attuazione della Direttiva 2004/41 CE relativa ai controlli in materia di sicurezza alimentare e applicazione dei regolamenti comunitari nel medesimo settore. GU Serie Generale n.261 del 9-11-2007 - Suppl. Ordinario n. 228.
- Decreto Regione Autonoma della Sardegna, BURAS (2015) n. 2423/DecA/49 del 15.10.2015 Calendario della pesca del Riccio di mare (*Paracentrotus lividus*) per la stagione 2015/2016.
- Fabbrocini A., Maselli M.M.A., D'Adamdamdamo R. (2012) Effects of feeding and light regime on the gonad of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (LMK, 1816). Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Scienze Marine, Lesina (FG), Italia. *Biologia Marina Mediterranea*, 19, Pagg. 156-157.
- Fernandez C., Boudouresque C-F. (1997) Phenotypic plasticity of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in a lagoonal environment. Université de Corse; Faculté des Sciences de Luminy. Marseilles, France. *Marine ecology progress series*, Vol. 152, Pagg. 145-154.

- Floris R., Fois N., Manca P., Manca S., Montisci S., Pais A. (2009) Microbiological analyses on edible sea urchin *Paracentrotus lividus* roe commercialised in Sardinia. Dip. per la Ricerca nelle Produzioni Animali, Servizio Risorse Ittiche, AGRIS Sardegna (Agenzia per la Ricerca Scientifica in Agricoltura), Loc. Bonassai - Olmedo (SS). Sez. di Acquacoltura e Gestione delle Risorse Acquatiche, Dip. di Scienze Zootecniche, Università di Sassari. *Biologia marina mediterranea* 16, Pagg. 398-399.
- Frantzis A., Grémare A. (1992) Ingestion, absorption, and growth rates of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) fed different macrophytes. *Laboratoire Arago, Banyuls-sur-mer, France. Marine ecology progress series*, Vol. 95, Pagg. 169-183.
- Giordano L. (2002), Il Riccio di mare. Aspetti biologici, legislativi, culinari e tecnologici del Riccio di mare. *Il Pesce*, 6/2002, Pag. 86. http://www.pubblicitaitalia.com/pesce/riviste/t_testata.htm
- González Irusta J. M. (2009) Contribución al conocimiento del erizo de mar *Paracentrotus lividus* (LAMARCK, 1816) en el Mar Cantábrico: ciclo gonadal y dinámica de poblaciones (2009) Tesis Doctoral Universidad De Cantabria E.T.S. Ingenieros De Caminos, Canales Y Puertos. Dpto. De Ciencias Y Técnicas Del Agua Y Del Medio Ambiente. Area De Ecología.
- Guidetti P., Terlizzi A., Boero F. (2003) Effects of the edible sea urchin, *Paracentrotus lividus*, fishery along the Apulian rocky coast (SE Italy, Mediterranean Sea). *Laboratory of Zoology and Marine Biology, DiSTeBA, CoNISMa, University of Lecce. Fisheries Research* 66 (2004) 287–297.
- Guidi G. (2012), Riccio di mare, che bontà *Il Pesce*, 1/2012, Pag. 21. http://www.pubblicitaitalia.com/pesce/riviste/t_testata.htm
- Jacinto D., Cruz T. (2012) *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) attachment force and burrowing behavior in rocky shores of SW Portugal. *Centro de Oceanografia, Laboratório de Ciências do Mar, Universidade de Évora, Portugal. Zoosymposia* 7; Pagg.231–240.
- Kızılkaya B., Baris Özalp B., Türker G., Alparslan M., Adem Tekinay A. (2013) Determination of some nutritional compositions of roe samples of the edible sea urchin *Paracentrotus Lividus* (Lamarck, 1816) in the Dardanelles (Marmara Sea). *Faculty of Marine Science and Technology, Turkey. Indian Journal of Geo-Marine Sciences* · April 2015 - Vol. 44 (3), Pagg. 519-523.
- Lozano J., Galera J., Lopez S. , Turon X., Palacin C., Morera G. (1995) Biological cycles and recruitment of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats. *Department of Animal Biology (Invertebrates). Faculty of Biology, University of Barcelona, Spain. Marine ecology progress series*, Vol. 122, Pagg. 179-191.
- Maltagliati F., Di Giuseppe G., Barbieri M., Castelli A., Dini F. (2010) Phylogeography and genetic structure of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) inferred from the mitochondrial cytochrome *b* gene. *Dipartimento di Biologia – Unità di Biologia Marina e Ecologia – Unità di Protistologia-Zoologia, Università di Pisa. Biological Journal of the Linnean Society*, 100, Pagg. 910–923.
- Manzoni P. (2010), Grande enciclopedia illustrata dei crostacei, dei molluschi e dei Ricci di mare, Ed. Eurofishmarket, Castel Maggiore (BO), Pagg. 561-568.
- Matarrese A. (2010), Echinodermata, *Biologia Marina Mediterranea*, 2010, 17, 619-624.
- Meloni D., Fais F. (2013). Aspetti biologici, note igienico-sanitarie e commerciali del Riccio di mare nella costa nord-occidentale della Sardegna. *Il pesce* 5/13. Pagg. 1-8. http://www.pubblicitaitalia.com/pesce/riviste/t_testata.htm
- Nettuno L. (2014) *Tecnologie di conservazione degli alimenti*. ASL 1 Napoli 1 Centro – Servizi Veterinari. Pagg. 1-25. https://www.google.it/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKewjClS2WpvDNAhUC0xoKHRHGbHMQFggeMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.ispalim.unina.it%2FTECNOLOG-5.pdf&usq=AFQjCNEZ4XXS1XM3S5VAqV3iw4r_Sgz7KQ&sig2=dpKDCvKCr6D09zd2EdtMgA
- Pais A., Chessa L. A., Serra S., Ruiu A., Meloni G. (2007), Suspended culture of *Ostrea edulis* in the Calich lagoon (North western Sardinia, Italy): preliminary results. *Italian Journal of Animal Science*, 6, 1, Pagg. 811-813.
- Pais A., Chessa L. A., Serra S., Ruiu A., Meloni G., Donno Y. (2007), The impact of commercial and recreational harvesting for *Paracentrotus lividus* on shallow rocky reef sea urchin communities in North-Western Sardinia, Italy. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 73, 2007, Pagg. 589-597.

- Pais A., Chessa L.A., Serra S., Ruiu A., Meloni G., Saba S. (2007) Protection effects on the sea urchin *Paracentrotus lividus* at Capo Caccia - Isola Piana marine protected area (North Western Sardinia). Sezione di Acquacoltura ed Ecologia Marina, Dip. di Scienze Zootecniche, Università di Sassari. *Biologia marina mediterranea*, 14, Pagg. 112-113.
- Pais A., Chessa L.A., Serra S., Meloni G., Ruiu A., Manunza B. (2006) Morphometric relationships and annual gonad index of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus* from North Western Sardinia. Sez. di Acquacoltura ed Ecologia Marina, Dip. di Scienze Zootecniche, Università di Sassari. *Biologia marina mediterranea*, 12 (2), Pagg. 202-203.
- Pais A., Saba S., Rubattu R., Meloni G., Montisci S. (2011) Proximate composition of edible sea urchin *Paracentrotus lividus* roe commercialized in Sardinia. Sez. di Acquacoltura e Gestione delle Risorse Acquatiche, Dip. di Scienze Zootecniche, Università di Sassari. *Biologia marina mediterranea*, 18, Pagg. 390–391.
- Palese L., Palese A. (1991), *Il controllo sanitario e qualitativo dei prodotti alimentari e della pesca*, Vol. 1, Ed. Piccin Nuova Libreria, Padova, Pagg. 566-567.
- Paredes E., Bellas J., Costas D. (2014) Sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larval rearing - Culture from cryopreserved embryos. Departamento de Ecología e Biología Animal, Universidade de Vigo, Galicia, Spain; Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Vigo, Galicia, Spain; Estación de Ciencias Mariñas de Toralla (ECIMAT), Universidade de Vigo, Galicia, Spain. *Aquaculture* 437 (2015), Pagg. 366–369.
- Peng J., Yuan J., Wang J. (2012) Effect of Diets Supplemented with Different Sources of Astaxanthin on the Gonad of the Sea Urchin *Anthocardia crassispina*. Guangdong Provincial Key Laboratory of Marine Resources and Coastal Engineering, School of Marine Sciences, Sun Yat-Sen University, China. *Nutrients* 2012, Vol. 4, Pagg. 922-934.
- Piano di monitoraggio molluschi, classificazione delle acque e georeferenziazione allevamenti nella regione Sardegna - Stato dell'arte (2008) Regione Autonoma della Sardegna (RAS), Assessorato dell'Igiene e Sanità e dell'Assistenza Sociale – Servizio Prevenzione; Assessorato dell'Agricoltura e Riforma Agro-pastorale – Servizio Pesca.
- Piano Regionale di Controllo Ufficiale sulla Produzione e Commercializzazione dei Molluschi Bivalvi Vivi - Revisione 2016 - Regione Autonoma della Sardegna (RAS), Assessorato dell'Igiene e Sanità e dell'Assistenza Sociale.
- Pinna S., Pais A., Campus P., Sechi N., Ceccherelli G. (2012) Habitat preferences of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. Dipartimento di Scienze Botaniche, Ecologiche e Geologiche, Università di Sassari; Sezione di Acquacoltura e Gestione delle Risorse Acquatiche, Dipartimento di Scienze Zootecniche, Università di Sassari. *Marine ecology progress series* Vol. 445: Pagg. 173–180.
- Porcu L. (2013) Studio della contaminazione da IPA del Riccio di mare *Paracentrotus lividus* in Sardegna. Relazione scientifica finale Scuola di Dottorato in Tossicologia. Università degli Studi di Cagliari.
- Prado P., Tomas F., Pinna S., Farina S., Roca G., Ceccherelli G., Romero J., Alcoverro T. (2012) Habitat and Scale Shape the Demographic Fate of the Keystone Sea Urchin *Paracentrotus lividus* in Mediterranean Macrophyte Communities. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries (IRTA), Aquatic Ecosystems, Tarragona, Spain; Dept. of Biology East Carolina University, Greenville, North Carolina, United States of America; Instituto Mediterraneo de Estudios Avanzados (IMEDEA), Islas Baleares, Spain; Dept. of Science for Nature and Environmental Resources University of Sassari, Sassari, Italy; Centre d'Estudis Avançats de Blanes (CEAB)-CSIC, Girona, Spain; Departamento de Ecología, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona, Spain. *Plos one* 1 April 2012, Vol. 7, Issue 4, Pagg. 1-10.
- Pulina L. (2014) Economia del Riccio di mare in Sardegna. Laore – Agenzia regionale per lo sviluppo in agricoltura. Pagg. 1-67.
- Punzo E. (2012), La vita sul fondo del mare: gli echinodermi. *Il Pesce*, 1/2012, Pag. 112. http://www.pubblicitaitalia.com/pesce/riviste/t_testata.htm
- Reg. (CE) n. 1881/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. GU L 364 del 20.12.2006.
- Reg. (CE) n. 2073/2005 della Commissione del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari. GU L 338 del 22.12.2005.

- Reg. (CE) n. 852/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 sull'igiene dei prodotti di origine animale. GU L 139 del 30.4.2004.
- Reg. (CE) n. 853/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 che stabilisce norme specifiche in materia di igiene dei prodotti di origine animale. GU L 139, 30.4.2004.
- Reg. (CE) n. 854/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004, che stabilisce norme specifiche per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano. GU L 139, 30.4.2004.
- Reg. (UE) 2015/2285 della Commissione dell'8 dicembre 2015 che modifica l'allegato II del regolamento (CE) n. 854/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio che stabilisce norme specifiche per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano per quanto riguarda taluni requisiti per i molluschi bivalvi vivi, gli echinodermi, i tunicati e i gasteropodi marini, nonché l'allegato I del regolamento (CE) n. 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari. GU L 323/2, 09.12.2015.
- Roggio T., Scano E. A., Catzeddu P. (2006) Progetto pilota "Stabilizzazione" - Impiego di tecnologie di stabilizzazione convenzionali e innovative nella conservazione di prodotti alimentari. Porto Conte Ricerche. Consorzio 21 Polaris. Pagg. 1-20.
- Sellem F., Guillou M. (2007) Reproductive biology of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats of northern Tunisia (south-east Mediterranean). Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. Volume 87, Issue 03, June 2007, Pagg. 763-767.
- Stabili L., Canicattì C. (1994) Antibacterial activity in the seminal plasma of *Paracentrotus lividus*. Department of Biology, University of Lecce. Canadian Journal of Zoology · February 2011. 72, Pagg. 1211 - 1216.
- Terrosu G., Tedde T., Scarano C., Congiu S., Caria G., Uda M.T., Chessa G., Lorenzoni G., Virgilio S. (2011). Proposal of sanitary management of edible echinoderms in Sardinia. Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Sassari; A.S.L. di Cagliari, Servizio Veterinario di Igiene degli Alimenti; Regione Autonoma della Sardegna, Assessorato alla Sanità, Servizio della Prevenzione; A.S.L. di Sassari, Servizio Veterinario di Igiene degli Alimenti. AIVI on-line giugno 2011, vol. 1, Pagg. 25-28.
- Tortonese E. (1965), Echinodermata, Fauna d'Italia, 6, Ed. Calderini, Bologna, Pag. 419.
- Virgilio S., Marongiu E., Lorenzoni G., Carusillo F., Tedde T., Pes A., Rosa M.N., Serra S., Pes P., Achenza A., Canu A., Puggioni G. (2005) Ricerca di biotossine algali del tipo P.S.P. (*Paralytic Shellfish Poison*) in mitili e echinodermi commestibili della specie *Paracentrotus lividus*. Atti XV Convegno Nazionale AIVI. Tirrenia (PI).
- Virgilio S., Marongiu E., Pisanu M., Idda G., Rosa M.N., Sias S. (1999), Rilievi microbiologici su echinodermi commestibili della specie *Paracentrotus lividus*, Atti IX Congresso Nazionale AIVI, Pagg. 259-261.
- Virgilio S., Marongiu E., Pisanu M., Idda G., Sias S., Caria G. (1995), Indagine microbiologica su Ricci di mare commestibili della specie *Paracentrotus lividus* commercializzati nella USL di Alghero (SS), Atti XLVIII Con gresso Nazionale SISVET, Pagg. 455-466.
- Vitelletti M. L., Colangelo M. A., Farina S., Loi B. (2013) Biologia riproduttiva di *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) in due zone della Sardegna. Tesi di laurea presso Alma Mater Studiorum - Università di Bologna Corso di Laurea Magistrale in Biologia Marina.
- <http://notizie.admaioramedia.it/cagliari-concluso-il-progetto-resurch-sullallevamento-del-riccio-di-mare-sostenibilita-e-ripopolamento-video/>
- <http://www.smeralda.com/Prodotti/Sapori-di-mare/Polpa-di-riccio-di-mare-Polpa-di-granchio-reale-e-queen-Smeralda/index.aspx?m=89&f=2&id=6>
- <https://www.google.it/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=8&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjfLuRktDNAhWHMBoKHQ-uDWoQFgg2MAc&url=http%3A%2F%2Fwww.mesasurgelati.it%2Fwp-content%2Fuploads%2F986-Polpa-di-riccio-Mesa.pdf&usq=AFQjCNGPOHcNmN1nZ4pn0AhmWXolrVlvnw&sig2=yq2cGEkfgUxtsj5PnY-jtA>
- <https://www.youtube.com/watch?v=AkUorUTGyLA>

Ringraziamenti

Un sincero ringraziamento va a tutti coloro che, in momenti diversi e in vari modi, mi hanno sostenuta nel raggiungimento di questo nuovo traguardo e aiutata nella realizzazione di questo lavoro di tesi.

Vorrei esprimere la mia gratitudine alla Dottoressa Roberta Nuvoloni, relatrice della mia tesi, per l'aiuto e il sostegno fornitomi durante la stesura del lavoro.

Desidero, inoltre, ringraziare la correlatrice Dott.ssa Margherita Pisanu per avermi fornito i dati delle analisi di laboratorio, per aver dedicato numerose ore alla mia tesi, per i preziosi consigli e per il graditissimo sostegno ricevuto durante le mie ricerche.

