



**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA DELLA FACOLTÀ
DI AGRARIA**

IX Ciclo - Nuova Serie -

Direttore: Chiar.mo Prof. Natale G. Frega

Curriculum Alimenti e Salute

Tesi di Dottorato

**Caratterizzazione della frazione lipidica dei prodotti ittici
nell'ambito del progetto Last Minute Fish**

Tutore

Chiar.mo Prof. Natale G. Frega

Dottorando

Dott. Stefano Boni

Triennio Accademico 2008-2010

Ai miei amati genitori

INDICE GENERALE

<i>Indice delle Figure</i>	3
<i>Indice delle Tabelle</i>	4
<i>Sintesi</i>	5
<i>Abstract</i>	7
I - PARTE GENERALE	
1. I PRODOTTI ITTICI - IL PESCE	9
1.1 GENERALITA' E CLASSIFICAZIONE	9
1.2 PRODUZIONE E CONSUMI	11
1.2.1 Il quadro internazionale	11
1.2.2 Il quadro nazionale	12
1.2.3 Catture, ricavi e prezzi nella regione Marche	16
1.2.4 Dinamica degli acquisti domestici	18
2. LAST MINUTE FISH	19
2.1 GENERALITA'	19
2.2 LAST MINUTE MARKET	19
2.3 LAST MINUTE FISH: ATTIVITÀ E RISULTATI	20
3. I CROSTACEI	24
3.1 IL GRANCHIO DI SABBIA	25
3.2 LA MAZZANCOLLA	27
3.3 LA PANNOCCCHIA	30
4. LA FRAZIONE LIPIDICA	33
4.1 GLI ACIDI GRASSI	34
4.2 GLI ACIDI GRASSI ESSENZIALI	36
4.3 GLI EICOSANOIDI	38
4.4 I FOSFOLIPIDI	39
4.5 GLI ACIDI GRASSI FURANICI (FFA)	41
4.5.1 Distribuzione	41

4.5.2	Struttura e nomenclatura degli FFA	42
4.5.3	Il ruolo biologico degli FFA	43
	II - PARTE Sperimentale	45
5.	MATERIALI E METODI	46
5.1	PROTOCOLLO SPERIMENTALE	46
5.2	ESTRAZIONE DEL GRASSO	47
5.3	TRANSMETILAZIONE BASICO-CATALIZZATA DEL GRASSO	47
5.4	ANALISI QUALITATIVA DEGLI ACIDI GRASSI	48
5.5	ANALISI QUANTITATIVA DEGLI ACIDI GRASSI	48
5.6	CARATTERIZZAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI FURANICI NELLE CLASSI FOSFOLIPIDICHE	48
5.7	ANALISI STATISTICA	49
6.	RISULTATI	51
6.1	CARATTERIZZAZIONE DELLA FRAZIONE LIPIDICA DEI CROSTACEI	50
6.2	CARATTERIZZAZIONE DELLA FRAZIONE LIPIDICA NEI DUE SESSI DELLA SPECIE <i>SQUILLA MANTIS</i>	58
6.3	CARATTERIZZAZIONE DELLA FRAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI FURANICI	60
6.3.1	Distribuzione degli FFA nelle diverse classi di lipidi	63
6.3.2	Correlazione fra il contenuto di FFA e di PUFA $\omega 3$ nelle diverse specie	64
6.4	CONFRONTO TRA LE FRAZIONI LIPIDICHE DEI CROSTACEI E DEI PESCI	67
7.	CONCLUSIONI	72
	<i>Appendice Statistica</i>	74
	<i>Bibliografia</i>	86

INDICE DELLE FIGURE

Figura 1 - Produzione, importazioni ed esportazioni di prodotti ittici (2003= 100 dati in quantità)

Figura 2 - Evoluzione delle quantità di prodotti ittici acquistate dalle famiglie (indici concatenati, 2000=100)

Figura 3 - Last Minute Fish - Forniture di pesce al 30.09.2010

Figura 4 - Morfologia di un crostaceo

Figura 5 - Distribution map of *Liocarcinus vernalis*

Figura 6 Distribution map of *Penaeus kerathurus*

Figura 7 Distribution map of *Squilla mantis*

Figura 8 Formula strutturale dell'acido oleico

Figura 9 Correlazioni biosintetiche tra gli acidi grassi delle famiglie $\omega 9$ (a), $\omega 6$ (b) e $\omega 3$ (c).

Figura 10 Struttura molecolare dell'acido linoleico e dell'acido linolenico

Figura 11 Struttura chimica dei principali fosfolipidi

Figura 12 Struttura degli acidigrassi furanici saturi

Figura 13 Contenuto lipidico (%) della parte edibile delle specie di crostacei studiati e dei due sessi della specie *Squilla mantis*

Figura 14 Contenuto in grasso (%) della parte edibile di alcune specie di pesci di mare, pesci d'acqua dolce e di crostacei

Figura 15 Distribuzione % delle diverse classi di acidi grassi nelle tre specie di crostacei analizzate.

Figura 16 Analisi delle Componenti Principali (PCA) della composizione in acidi grassi dei campioni di crostacei. (a) score plot dei campioni; (b) loadings delle variabili

Figura 17 Analisi delle Componenti Principali (PCA) mediante variabili normalizzate per la DS della composizione in acidi grassi dei campioni di crostacei. (a) score plot dei campioni;

(b) loadings delle variabili

Figura 18 Distribuzione % delle diverse classi di acidi grassi nei due sessi della specie *Squilla mantis*.

Figura 19 Tracciato GC-MS degli acidi grassi della polpa di mazzancolla: (a) corrente ionica totale; (b) picco base degli acidi grassi furanici

Figura 20 Frammentazione del DiMeF11,5

Figura 21 Correlazione tra il totale dei PUFA $\omega 3$ (%) e il totale dei FFA (%)

Figura 22 Correlazione tra $\omega 3$ e il totale degli FFA (a) DHA vs FFA; (b) EPA vs FFA; (c) DPA vs FFA

Figura 23 Distribuzione percentuale delle principale classi di acidi grassi nei pesci di mare (specie 1-6) pesci d'acqua dolce (specie 7-8) e nei crostacei (specie 9/11)

Figura 24 Distribuzione percentuale del totale dei PUFA $\omega 3$ e dei principali $\omega 3$ (EPA; DPA; DHA) nei pesci di mare (specie 1-6), pesci d'acqua dolce (specie 7-8) e nei crostacei (specie 9/11)

Figura 25 Distribuzione percentuale degli acidi grassi furanici nei pesci di mare (specie 1-5) e nei crostacei (specie 6-8).

Figura 26 Confronto dei tracciati gas cromatografici di tre diverse specie acquatiche: alici; trota; granchio

INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1 - Elenco e Codici ISSCAAP

Tabella 2 - Produzione mondiale di pesce per gruppi di specie (000 t)

Tabella 3 – Catture mondiali di pesce per gruppi di specie (000)

Tabella 4 – Acquacoltura mondiale per gruppi di specie (000 t)

Tabella 5 - Produzione ai prezzi di base delle branche agricoltura, selvicoltura e pesca

Tabella 6 – Valore aggiunto ai prezzi di base delle branche agricoltura, selvicoltura e pesca

Tabella 7 La produzione ittica in Italia: pesca e acquacoltura

Tabella 8 – Produzione, importazioni ed esportazioni di prodotti ittici.

Tabella 9 Catture per gruppi di specie in Italia (t)

Tabella 10 Catture per gruppi di specie in Italia (mln €)

Tabella 11 Evoluzione delle quantità di prodotti ittici acquistate dalle famiglie (indici concatenati, 2000=100)

Tabella 12 Catture, ricavi e prezzi per specie, Marche, 2008

Tabella 13 Last Minute Fish - Forniture di pesce al 30.09.2010

Tabella 14 Classificazione scientifica del granchio di sabbia

Tabella 15 Composizione chimica e valore energetico del granchio, in scatola (*Cancer pagurus*) per 100 g di parte edibile

Tabella 16 Classificazione scientifica della mazzancolla

Tabella 17 Composizione chimica e valore energetico dei gamberi freschi (*Crangon vulgaris*) per 100 g di parte edibile

Tabella 18 Classificazione scientifica della pannocchia

Tabella 19 Classificazione dei lipidi in saponificabili ed insaponificabili

Tabella 20 Nomenclatura degli acidi grassi furanici

Tabella 21 Schema dei campionamenti delle tre specie di crostacei

Tabella 22 Suddivisione dei campionamenti di pannocchie (*Squilla mantis*) per sesso

Tabella 23 Nome comune, nome della specie e contenuto lipidico (% \pm SD, n=5/11) della parte edibile delle specie di crostacei studiati

Tabella 24 Nome comune, nome della specie e contenuto lipidico (% \pm SD, n=5/11) della parte edibile nei due sessi della specie *Squilla mantis*

Tabella 25 Composizione della parte edibile delle tre specie di crostacei in esame (% di acidi grassi sulla frazione acidica totale)

Tabella 26 Composizione della parte edibile nei due sessi della specie *Squilla mantis*: % di acidi grassi sulla frazione acidica totale

Tabella 27 Frammentazione degli FFA presenti nei crostacei

Tabella 28 Quantità assolute dei singoli FFA, espresse come media mg \pm DS/100 g di polpa

Tabella 29 Distribuzione degli FFA nelle classi di lipidi delle singole specie di crostacei

Tabella 30 Distribuzione percentuale delle principali classi di acidi grassi: (a) pesci di mare e pesci d'acqua dolce; (b) crostacei

SINTESI

Il progetto si compone di due aree di attività, che sono state avviate in modo interdipendente l'una dall'altra.

La prima, il Last Minute Fish (LMF), ha una valenza e una ricaduta di carattere economico e sociale, mentre la seconda, concernente la caratterizzazione chimica della frazione lipidica di alcune specie ittiche, ha carattere preminentemente scientifico e tecnico-analitico con una ricaduta tecnologica e salutistica.

L'interesse per il pesce ed i prodotti ittici in genere, che rappresenta il motivo comune delle attività svolte, nasce dal ruolo che essi svolgono sul piano nutrizionale e dall'importanza che l'attività della pesca ha nella regione Marche, in particolare nelle città che si affacciano sul mare come la città capoluogo, coniugata alla presenza sul mercato del pesce di eccedenze di produzione strutturali, soprattutto in alcuni periodi dell'anno.

Questa seconda considerazione, associata all'importanza che viene sempre più riconosciuta all'eliminazione degli immensi sprechi che le filiere alimentari producono, ha costituito la base per l'attivazione del progetto Last Minute Fish come applicazione locale dell'idea del Last Minute Market nata presso l'Università di Bologna.

Tale attività ha consentito il recupero di 1,3 tonnellate di prodotti ittici freschi, rimasti invenduti nei mercati all'ingrosso e destinati alla distruzione, e la loro messa a disposizione in forma gratuita nei confronti delle associazioni no-profit aderenti.

Oltre all'attività di collegamento logistico dei vari soggetti potenzialmente interessati ed al monitoraggio delle consegne di pesce, è stata attivata parallelamente l'attività relativa alla parte sperimentale.

Tale attività si è concentrata in modo particolare su tre specie di crostacei pescate nel Mar Adriatico: il granchio di sabbia (*Leocarcinus vernalis*), la mazzancolla (*Penaeus kerathurus*) e la pannocchia (*Squilla mantis*).

La disponibilità di una base di dati concernenti altre specie ittiche sia d'acqua salata che dolce, prelevate presso le mense aderenti al Last Minute Fish, ha consentito anche un confronto tra le varie specie.

Il profilo degli acidi grassi della parte edibile dei crostacei e delle altre specie ittiche è stato determinato mediante gascromatografia capillare accoppiata alla spettrometria di massa (GC/MS). La quantificazione è stata effettuata mediante analisi gascromatografica utilizzando un rivelatore a ionizzazione di fiamma (GC/FID).

E' stata quindi determinata la composizione quali-quantitativa della frazione acidica della parte edibile delle tre specie di crostacei, sopra menzionate, con particolare attenzione alle frazioni degli acidi grassi polinsaturi (PUFA) $\omega 3$ e a quella degli acidi grassi furanici (FFA): i primi per il ruolo salutistico ormai confermato da decenni di ricerche ed i secondi in quanto componenti bioattivi di cui è stata dimostrata l'azione di prevenzione nei confronti dell'ossidazione dei PUFA.

Sono stati identificati trenta acidi grassi tra i quali quattro acidi grassi furanici saturi. Non sono stati trovati congeneri furanici olefinici.

Il profilo quantitativo mostra che i PUFA $\omega 3$ sono la classe di acidi grassi più presente in tutte e tre le specie.

Il granchio ha il quantitativo di PUFA $\omega 3$ più elevato, confrontabile con quello del pesce azzurro e, tra questi, l'acido grasso più presente è l'acido eicosapentaenoico (EPA), contrariamente a quello che accade nella maggior parte dei pesci, sia di mare che d'acqua dolce, in cui è l'acido docosesaenoico (DHA) ad essere percentualmente più rilevante. Inoltre ha il contenuto di acidi grassi saturi (SFA) più basso in assoluto tra tutte le specie analizzate.

Il contenuto di acidi grassi monoinsaturi (MUFA) in tutte e tre le specie è tra i più elevati, anche se il granchio ha contenuti più bassi: nonostante questo il contenuto di acido

oleico del granchio è tra i più elevati, non solo se confrontato con quello delle altre specie di crostacei, ma anche con quello delle altre specie ittiche analizzate.

Tra gli FFA e i PUFA $\omega 3$ esiste una correlazione lineare positiva significativa nel granchio che, anche per questo aspetto, si differenzia rispetto alle altre due specie.

I tracciati gascromatografici di specie acquatiche differenti come pesci di mare, pesci d'acqua dolce e crostacei evidenzia un profilo molto simile dal punto di vista qualitativo, con differenze che si esprimono solo all'analisi quantitativa.

Non sembrano esserci classi di acidi grassi o singoli acidi grassi che si possano considerare markers di una delle tre specie di crostacei oggetto di indagine.

ABSTRACT

The project consists of two related activities. The first one is the Last Minute Fish (LMF) project; it has an economic and social value and outcome; the second activity concerns the chemical characterization of the lipid fraction of some fish species; it has a main scientific importance and a technological and healthy outcome.

The interest in fish and fish products, which is the common reason of the activities, arises from the consideration of their nutritional role and of the importance that fishery has in the Marche region, especially in the towns overlooking the sea, as the capital city is. This reason is combined with the presence of a structural production surplus, in the fish market especially in certain times of the year.

This second aspect, associated with the importance of the removal of huge food waste, is the reason for implementing the LMF project, similarly to the origin of the Last Minute Market project of the University of Bologna.

LMF has allowed the recovery of 1,3 tonnes of fresh unsold fish, which would have been destined for destruction, and its availability free of charge for no-profit associations. Together with the activity of linking the various stakeholders and monitoring the deliveries of fish, the experimental part of the project has been carried out.

This activity has focused in particular on three species of crustaceans caught in the Adriatic Sea: the vernal crab (*Leocarcinus vernalis*), the karamote shrimp (*Penaeus kerathurus*) and the mantis shrimp (*Squilla mantis*).

The availability of a database concerning other species of sea and freshwater fish, coming from the Last Minute Fish project, has also allowed a comparison between different species.

The fatty acids (FA) profile of the edible part of crustaceans and other fish species was determined by capillary gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC / MS). The quantification was performed using a gas chromatographic flame ionization detector (GC / FID).

The quasi-quantitative composition of the fatty acids fraction of the edible part of three species of crustaceans, as mentioned above, with particular attention to the fractions of polyunsaturated fatty acids (PUFA) $\omega 3$ and of furan fatty acids (FFA) was determined: PUFA $\omega 3$ exert a positive role in healthy conditions, now confirmed by decades of researches, and FFA are bioactive components with a positive action in preventing PUFA oxidation.

Thirty fatty acids have been identified including four saturated furan fatty acids. No olefinic FFA have been found. The quantitative profile shows that PUFA $\omega 3$ are the main class of FA in all three species. The vernal crab has the highest amount of PUFA $\omega 3$, that is comparable to the blue fish, and eicosapentaenoic acid (EPA), among them is the main FA, contrary to what happens in most species of sea and freshwater fish, in which docosahexaenoic acid (DHA) is preponderant.

The vernal crab has the lowest content of saturated fatty acids (SFA) of all analyzed species. Each of the three species of crustaceans has a very high content of monounsaturated fatty acids (MUFA), although the vernal crab has the lowest one; in spite of this, the content of oleic acid of the crab is one of the highest, if compared with the other species of crustaceans, as well as with the other species of the analyzed fish.

The linear correlation between PUFA $\omega 3$ and FFA is significantly positive in the crab; this is another difference from the other two species. The gas chromatographic plot of different aquatic species like saltwater fish, freshwater fish and crustaceans shows a very similar qualitative profile, only with quantitative differences. No peculiar FA can be considered as a marker of the three species of crustaceans under investigation.

I - PARTE GENERALE

1. I PRODOTTI ITTICI - IL PESCE

1.1 GENERALITA' E CLASSIFICAZIONE

Con la denominazione di "prodotto ittico" si intende in genere tutto ciò che viene fornito dall'industria della pesca: il complesso delle materie prime, dei semilavorati e dei prodotti finali ad uso alimentare, che vengono ottenuti dall' industria della pesca. Sono compresi animali marini o di acqua dolce quali pesci, molluschi, crostacei, echinodermi e mammiferi.

Un'altra definizione è quella data dall' Allegato I del Reg. CE 853/2004, punto 3.1 che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale, che al punto 3.1 definisce come prodotti della pesca "*tutti gli animali marini o di acqua dolce (ad eccezione dei molluschi bivalvi vivi, echinodermi vivi, tunicati vivi e gasteropodi marini vivi e di tutti i mammiferi, rettili e rane), selvatici o di allevamento, e tutte le forme, parti e prodotti commestibili di tali animali*"

Con il termine "pesce" si intende l'insieme delle carni e delle altre parti edibili di animali acquatici ottenuti dalle attività della pesca e dell'acquacoltura.

L'ittiofauna in realtà, oltre che da veri e propri pesci, è costituita anche da molluschi, crostacei e altri gruppi di minor interesse. In tutto il mondo si consumano oltre 1000 varietà di pesci, molluschi e crostacei di cui 250 circa in Italia e in Europa.

Nei paragrafi seguenti verrà illustrato un quadro generale del comparto ittico a livello mondiale e nazionale con un dettaglio riguardante la situazione nella regione Marche ed evidenziando i dati relativi al settore dei crostacei, oggetto particolare della parte sperimentale del lavoro svolto.

Secondo la classificazione ISSCAAP (International Standard Statistical Classification of Aquatic Animals and Plants) i prodotti ittici si suddividono in: pesci di acqua dolce, pesci diadromi, pesci marini, crostacei e molluschi. [1]

In Tabella 1 è riportato l'elenco e i codici ISSCAAP, in uso dall'anno 2000, per tutti i prodotti derivanti o costituiti da organismi acquatici di maggiore interesse commerciale.

Esistono anche altre classificazioni basate su differenti parametri.

Considerando i diversi fattori biologici, una possibile classificazione considera il luogo che abitano e distingue i pesci in tre gruppi: *pesci littorali* che vivono presso le coste, *pesci pelagici* che vivono in mare aperto, *pesci batifili* che vivono nelle zone profonde sino ai grandi abissi oceanici.

Secondo l'anatomia, riproduzione e biologia i pesci sono vertebrati e si possono distinguere in tre gruppi: pesci privi di mascelle o *ciclostomi*, pesci a scheletro cartilagineo, o *selaci* poco numerosi (es. squali e razze) e pesci a scheletro osseo o *teleostei* che comprendono la quasi totalità delle specie.

La fauna ittica del Mediterraneo è caratterizzata da un'elevata biodiversità con 532 specie di teleostei e 81 specie di pesci cartilaginei che corrispondono rispettivamente al 4,1% e 9,5% del totale delle specie marine descritte per questi due gruppi. Sono inoltre presenti 3 specie di pesci ciclostomi. E' una percentuale consistente se si considera che il Mediterraneo costituisce solamente lo 0,32% del volume totale della massa d'acqua oceanica.

Tra gli invertebrati, forniti dall'industria della pesca, vengono compresi i tunicati, gli echinodermi, i crostacei ed i molluschi. Riguardo ai crostacei, di cui si dirà più estesamente in seguito, essi sono caratterizzati dall'avere il corpo racchiuso in un esoscheletro, costituito da chitina.

Tab. 1 - Elenco e Codici ISSCAAP degli organismi acquatici

Classificazione ISSCAAP degli organismi acquatici	
1 Pesci d'acqua dolce (<i>freshwater fishes</i>)	
11	Carpa, barbo e altri ciprinidi (<i>carps, barbels and other cyprinids</i>)
12	Tilapia e altri ciclidi (<i>tilapias and other cichlids</i>)
13	Miscele di pesci d'acqua dolce (<i>miscellaneous freshwater fishes</i>)
2 Pesci diadromi (<i>diadromous fishes</i>)	
21	Storione, pesce spatola (<i>sturgeons, paddlefishes</i>)
22	Anguille di fiume (<i>river eels</i>)
23	Salmone, trote, sperlanì (<i>salmons, trouts, smelts</i>)
24	Alose (<i>shads</i>)
25	Miscele di pesci diadromi (<i>miscellaneous diadromous fishes</i>)
3 Pesci di acqua salata (<i>marine fishes</i>)	
31	Passere, halibut, sogliole (<i>flounders, halibuts, soles</i>)
32	Merluzzi, naselli, eglefini (<i>cods, hakes, haddock</i> s)
33	Miscele di pesci costieri (<i>miscellaneous coastal fishes</i>)
34	Miscele di pesci demersali (<i>miscellaneous coastal fishes</i>)
35	Aringhe, sardine, alici (<i>herrings, sardines, anchovies</i>)
36	Tonni, palamite, pesci vela (<i>tunas, bonitos, billfishes</i>)
37	Miscele di pesci pelagici (<i>miscellaneous pelagic fishes</i>)
38	Squali, razzi, chimere (<i>sharks, rays, chimaeras</i>)
39	Pesci marini non identificati (<i>marine fishes not identified</i>)
4 Crostacei (<i>crustaceans</i>)	
41	Crostacei di acqua dolce (<i>freshwater crustaceans</i>)
42	Granchi, grancevole (<i>crabs, sea-spiders</i>)
43	Scampi, astici, aragoste (<i>lobsters, spiny-rock lobsters</i>)
44	Granchi reali, galateidi (<i>king crabs, squat-lobsters</i>)
45	Gamberetti, gamberi (<i>shrimps, prawns</i>)
46	Eufausiacei, crostacei planctonici (<i>krill, planktonic crustaceans</i>)
47	Miscele di crostacei marini (<i>miscellaneous marine crustaceans</i>)
5 Molluschi (<i>molluscs</i>)	
51	Molluschi di acqua dolce (<i>freshwater molluscs</i>)
52	Abaloni, lumache di mare, strombi (<i>abalones, winkles, conchs</i>)
53	Ostriche (<i>oysters</i>)
54	Mitilli (<i>mussels</i>)
55	Capesante, pettinidi (<i>scallops, pectens</i>)
56	Vongole, cuori, arche (<i>clams, cockles, arkshells</i>)
57	Calamari, seppie, polpi (<i>squids, cuttlefishes, octopuses</i>)
58	Miscele di molluschi marini (<i>miscellaneous marine molluscs</i>)
6 Balene, foche ed altri mammiferi acquatici (<i>whales, seals and other aquatic mammals</i>)	
61	Balene (<i>blue-whales, fin-whales</i>)
62	Capodogli, delfini (<i>sperm-whales, pilot-whales</i>)
63	Foche, trichechi (<i>eared seals, hair seals, walruses</i>)
64	Miscele di mammiferi acquatici (<i>miscellaneous aquatic mammal</i>)
7 Insieme di animali acquatici (<i>miscellaneous aquatic animals</i>)	
71	Rane ed altri anfibi (<i>frogs and other amphibians</i>)
72	Tartarughe (<i>turtles</i>)
73	Coccodrilli e alligatori (<i>crocodiles and alligators</i>)
74	Ascidiaicei e altri tuniciati (<i>sea-squirts and other tunicates</i>)
75	Limuli e altri aracnidi (<i>horseshoe crabs and other arachnoids</i>)
76	Ricci di mare e altri echinodermi (<i>sea-urchins and other echinoderms</i>)
77	Miscele di invertebrati acquatici (<i>miscellaneous aquatic invertebrates</i>)
8 Prodotti acquatici vari (<i>miscellaneous aquatic animal products</i>)	
81	Perle e conchiglie (<i>pearls, mother-of-pearl, shells</i>)
82	Coralli (<i>corals</i>)
83	Spugne (<i>sponges</i>)
9 Piante acquatiche (aquatic plants)	
91	Alghe brune (<i>brown seaweeds</i>)
92	Alghe rosse (<i>red seaweeds</i>)
93	Alghe verdi (<i>green seaweeds</i>)
93	Miscele di piante acquatiche (<i>miscellaneous aquatic plants</i>)

1.2 PRODUZIONE E CONSUMI

1.2.1 Il quadro internazionale

Nel 2007, secondo dati FAO, la produzione mondiale di pesce si è attestata sui 140,4 milioni di tonnellate, con un incremento del 10% rispetto al 2002; la quota di produzione rappresentata dai **crostacei** è il 7,6% del totale (10.729 tonnellate), con un aumento rispetto al 2002 del 27% (Tabella 2).

Tab. 2 Produzione mondiale di pesce per gruppi di specie¹ (000 t)

Gruppi di specie ²	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Pesci d'acqua dolce e diadromi	30.451	31.847	33.918	36.300	38.341	40.579
Pesci pelagici marini	39.987	36.454	40.352	39.947	36.379	37.012
Pesci demersali marini	19.665	21.383	21.614	20.936	21.862	20.743
Molluschi (esclusi i cefalopodi)	14.775	14.749	15.163	15.200	15.884	16.260
Crostacei	8.447	8.737	9.106	9.453	10.078	10.729
Altri pesci marini	10.513	9.588	9.622	9.934	9.568	9.805
Cefalopodi	3.250	3.517	3.698	3.836	4.150	4.375
Altri animali acquatici	684	877	697	859	922	889
Totale	127.773	127.153	134.169	136.465	137.185	140.393

1) E' esclusa la produzione di mammiferi acquatici, perle, coralli, spugne e piante acquatiche.

2) Ordinati per il volume 2007.

Fonte: FAO

Il 64% (90.064 t) della produzione totale deriva da attività della pesca, che mostra un andamento sostanzialmente stabile nel corso degli ultimi anni e il 36% (50.329 t) da acquacoltura che presenta invece una evoluzione decisamente positiva: + 37% rispetto al 2002.

Per quanto concerne più specificatamente i **crostacei**, il mercato mondiale di questi prodotti della pesca ha assunto nel corso degli anni un'importanza economica sempre maggiore via via che si sviluppavano progressivamente le possibilità di scambio tra Paesi produttori e Paesi consumatori.

La produzione mondiale si è sviluppata insieme alla domanda e ciò ha favorito il mantenimento di prezzi adeguati garantendo la remunerazione degli operatori del settore. Fenomeni di sovrasfruttamento delle risorse hanno fatto registrare, a partire dalla metà degli anni ottanta, un calo delle catture, compensato dallo sviluppo dell'allevamento dei crostacei.

Tale andamento è proseguito nel corso degli ultimi anni: nel corso del 2007 le quote di produzione derivate da catture e da acquacoltura rappresentano rispettivamente il 54% e il 46%, con una variazione rispetto al 2002 rispettivamente di -6% e + 116%, come si evince dalle Tabelle 3 e 4. [2]

Tab. 3 Catture mondiali di pesce per gruppi di specie (000 t)

Gruppi di specie¹	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Pesci pelagici marini	39.808	36.256	40.154	39.739	36.173	36.796
Pesci demersali marini	19.225	20.468	20.661	19.847	20.672	19.435
Pesci d'acqua dolce e diadromi	8.065	8.917	8.962	9.857	10.145	10.502
Altri pesci marini	10.002	9.399	9.420	9.688	9.228	9.478
Crostacei	6.187	5.695	5.682	5.638	5.781	5.840
Cefalopodi	3.250	3.517	3.698	3.836	4.150	4.375
Molluschi (esclusi i cefalopodi)	3.911	3.405	3.340	3.103	3.180	3.189
Altri animali acquatici	543	585	363	474	535	449
Totale	90.991	88.243	92.280	92.183	89.863	90.064

1) Ordinati per il volume 2007.

Fonte : FAO

Tab. 4 Acquacoltura mondiale per gruppi di specie (000 t)

Gruppi di specie¹	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Pesci d'acqua dolce e diadromi	22.386	22.930	24.956	26.443	28.197	30.076
Molluschi (esclusi i cefalopodi)	10.864	11.344	11.822	12.097	12.703	13.072
Crostacei	2.261	3.042	3.423	3.815	4.297	4.889
Pesci demersali marini	440	914	953	1.089	1.190	1.308
Altri animali acquatici	141	291	335	385	387	441
Altri pesci marini	511	189	202	246	341	327
Pesci pelagici marini	179	198	198	207	207	217
Cefalopodi	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,03
Totale	36.782	38.909	41.890	44.282	47.322	50.329

1) Ordinati per il volume 2007.

Fonte : FAO

1.2.2 Il quadro nazionale

Nell'agroalimentare italiano il settore ittico occupa una posizione secondaria, se si considera che l'incidenza della pesca e dell'acquacoltura sull'intero settore primario (branca agricoltura, silvicoltura e pesca) non ha oltrepassato nel 2007 il 5% in termini di produzione e il 5,9% in termini di valore aggiunto, come è evidenziato dai dati mostrati nelle Tabelle 5 e 6.

La produzione ittica nazionale è risultata composta, nel 2007, per un 53% dalla pesca marittima, di cui ben il 51% rappresentato dalla pesca nelle acque del Mediterraneo, e per il restante 47% dall'acquacoltura.

Tab. 5 Produzione ai prezzi di base delle branche agricoltura, selvicoltura e pesca

Brancha	Millioni di euro 2007	Peso %	Var. %		T.v.m.a. 02-07
			07/06	06/05	
<i>a prezzi costanti 2000¹</i>					
Agricoltura	43.647		-0,3	-1,8	-0,1
Silvicoltura	418		-6,7	2,2	0,7
Pesca ²	1.729		4,7	6,1	-0,5
Agricoltura, silvicoltura e pesca³	45.841		-0,1	-1,4	-0,1
<i>a prezzi correnti</i>					
Agricoltura	45.746	94,0	2,6	-0,4	-0,4
Silvicoltura	451	0,9	-8,3	8,1	2,4
Pesca ²	2.452	5,0	1,9	8,3	3,8
Agricoltura, silvicoltura e pesca	48.649	100,0	2,5	0,1	-0,2

1)Valori concatenati, anno di riferimento 2000. 2) Pesca, piscicoltura e servizi connessi.

3) L'utilizzo degli indici a catena comporta la perdita di additività delle componenti concatenate espresse in termini monetari.

Fonte: elaborazione Ismea su dati Istat, Conti nazionali

Tab. 6 Valore aggiunto ai prezzi di base delle branche agricoltura, selvicoltura e pesca

Brancha	Millioni di euro 2007	Peso %	Var. %		T.v.m.a. 02-07
			07/06	06/05	
<i>a prezzi costanti 2000¹</i>					
Agricoltura	27.165		-0,3	-1,9	0,0
Silvicoltura	329		-6,7	0,9	0,7
Pesca ²	978		6,3	7,4	-1,7
Agricoltura, silvicoltura e pesca³	28.507		0,0	-1,4	0,0
<i>a prezzi correnti</i>					
Agricoltura	25.903	92,8	0,2	-2,0	-1,8
Silvicoltura	355	1,3	-9,9	8,2	2,5
Pesca ²	1.668	6,0	0,8	9,0	4,1
Agricoltura, silvicoltura e pesca	27.926	100,0	0,1	-1,2	-1,4

1)Valori concatenati, anno di riferimento 2000. 2) Pesca, piscicoltura e servizi connessi.

3) L'utilizzo degli indici a catena comporta la perdita di additività delle componenti concatenate espresse in termini monetari.

Fonte: elaborazione Ismea su dati Istat, Conti nazionali

I dati della Tabella 7 evidenziano, in ogni caso, come l'evoluzione della produzione proveniente sia dalla pesca sia dall'allevamento sia risultata, nel periodo 2002-2007 negativa: in media, le catture complessive della flotta italiana hanno accusato una flessione del 2,8%, la produzione dell'acquacoltura è diminuita dell'1,3% con una flessione media annuale globale, in termini quantitativi, del 2,1%. [3]

Tab. 7 La produzione ittica in Italia: pesca e acquacoltura

Voci	2007		07/06	06/05	02-07
	Migliaia di tonnellate	Peso %		Var. %	T.v.m.a
Pesca marittima	277	52,8		-7,4	5,9
Pesca nel Mediterraneo ¹	267	51,0		-6,5	6,5
Pesca oceanica ²	9	1,8		-29,0	-6,6
Acquacoltura³	247	47,2		2,2	3,3
Pesci ⁴	72	13,8		0,3	4,1
Molluschi ⁵	175	33,4		2,9	3,0
Totale produzione	524	100,0		-3,1	4,7
			Millioni di euro	Peso %	Var. %
Pesca marittima	1.365	67,6		-10,2	7,5
Pesca nel Mediterraneo ¹	1.338	66,2		-10,5	7,7
Pesca oceanica ²	27	1,3		10,9	-3,4
Acquacoltura³	655	32,4		4,1	11,9
Pesci ⁴	348	17,2		2,2	14,8
Molluschi ⁵	307	15,2		6,3	8,7
Totale produzione	2.020	100,0		-6,0	8,7
					1,1

1) Mipaaf-Irepa. 2) Istat. 3) Api. 4) A partire dal 2006 viene rilevata anche la produzione di tonno. 5) Sono inclusi i mitili da banchi naturali.

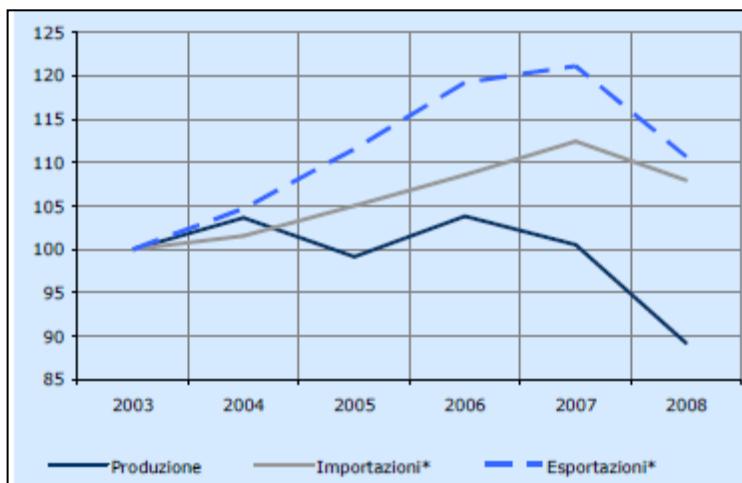
Fonte: elaborazioni Ismea su dati Mipaaf-Irepa, Api, Istat

Secondo i dati FaO, nel 2007 l'Italia, con una produzione complessiva di 524.000 tonnellate, si è collocata al sesto posto fra i maggiori paesi produttori di pesci, molluschi e crostacei dell'Ue 27, (dopo Spagna, Regno Unito, Francia, Danimarca, Paesi Bassi) con un'incidenza sulla produzione totale del 7,2%.

A fronte della flessione delle quantità prodotte, sono aumentati gli approvvigionamenti all'estero.

Il grafico nella Figura 1 mostra l'andamento nel periodo 2003-2008 degli indici relativi alle quantità di prodotti ittici prodotte, importate ed esportate.

Fig. 1.– Produzione, importazioni ed esportazioni di prodotti ittici*
(2003= 100 dati in quantità)



*Pesci, molluschi, crostacei ed altri invertebrati acquatici e loro preparazioni

Fonte: elaborazioni Ismea su dati Mipaaf-Irepa, Api, Istat.

Nelle Tabelle 8 e 9 viene mostrato l'andamento nel quinquennio 2004-2008 delle catture, per gruppi di specie in Italia (pesca nel Mar Mediterraneo) espresse in quantità (t) e in valore (mln €).

Tab. 8 Catture per gruppi di specie in Italia (t)

Gruppi di specie¹	2004	2005	2006	2007	2008
Pesci	201.230	186.503	200.624	174.346	137.517
Crostacei	27.965	28.039	28.799	24.737	21.933
Molluschi	59.089	53.826	56.408	68.285	57.117
Totale	288.284	268.368	285.831	267.368	216.567

1)Pesca nel Mediterraneo

Fonente: elaborazioni Ismea su dati Mipaaf-Irepa,

Tab. 9 Catture per gruppi di specie in Italia (mln €)

Gruppi di specie¹	2004	2005	2006	2007	2008
Pesci	814	792	843	746	590
Crostacei	259	307	354	311	245
Molluschi	306	289	298	281	248
Totale	1.380	1.388	1.495	1.338	1.082

1)Pesca nel Mediterraneo

Fonente: elaborazioni Ismea su dati Mipaaf-Irepa,

1.2.3 Catture, ricavi e prezzi nella regione Marche

L'analisi relativa ai dati delle catture effettuate nel 2008 suddivisi per regione evidenzia che le regioni con i valori più elevati sia in termini di tonnellaggio che di ricavi sono in ordine: la Sicilia, la Puglia e, in terza posizione, le Marche con il 14,2% e il 10,7% rispettivamente i termini di quantità e di valore (Tabella 10).

Relativamente alla regione Marche, nella quale si è svolta l'attività del LMF e la parte sperimentale del progetto sui crostacei, vengono mostrati nella Tabella 11 i dati concernenti le catture, i ricavi e i prezzi suddivisi per specie e riferiti all'anno 2008. Da tali dati si evidenzia come su un totale di catture di 30.810 tonnellate, i crostacei rappresentano il 6%, pari a 1878 tonnellate corrispondenti a un valore complessivo di € 23.934.000 cioè il 21% del totale dei ricavi.

Tab. 10 Ripartizione delle catture per regione (*anno 2008-pesca nel Mediterraneo*)

Regioni	Catture		Ricavi	
	t	%	mln euro	%
Liguria	3.787	1,7	33,79	3,1
Toscana	6.194	2,9	37,38	3,5
Lazio	4.923	2,3	39,09	3,6
Campania	11.281	5,2	67,81	6,3
Calabria	8.844	4,1	43,73	4,0
Puglia	35.474	16,4	173,81	16,1
Abruzzo	12.026	5,6	45,65	4,2
Molise	2.085	1,0	17,59	1,6
Marche	30.810	14,2	115,65	10,7
Emilia Romagna	23.763	11,0	77,06	7,1
Veneto	21.549	10,0	65,08	6,0
Friuli V. G.	5.036	2,3	22,47	2,1
Sardegna	7.495	3,5	56,51	5,2
Sicilia	43.301	20,0	286,65	26,5
Totale	216.567	100,0	1.082,26	100,0

Fonte: elaborazioni Ismea su dati Mipaaf-Irepa

Tab. 11 Catture, ricavi e prezzi per specie, Marche, 2008 (Fonte Mipaaf-Irepa)

<i>Specie</i>	Catture (ton.)	% sul totale	Ricavi (000 €)	% sul totale	Prezzi (€/kg)
Acciughe	5.685	18,5	8.249,27	7,1	1,45
Sardine	851	2,8	567,48	0,5	0,67
Lanzardi o lacerti	18	0,1	43,47	0,0	2,36
Sgombri	120	0,4	425,10	0,4	3,53
Alalunghe	0	0,0	0,04	0,0	3,91
Palamiti	12	0,0	64,83	0,1	5,62
Pesci spada	25	0,1	246,69	0,2	9,71
Tonni rossi	5	0,0	27,74	0,0	5,06
Altri tonni	6	0,0	19,52	0,0	3,11
Boghe	22	0,1	16,83	0,0	0,75
Gallinelle o capponi	233	0,8	1.006,96	0,9	4,33
Cappellani o busbane	118	0,4	362,44	0,3	3,08
Cefali	212	0,7	224,13	0,2	1,06
Menole e spicare	13	0,0	28,66	0,0	2,16
Merlani o moli	98	0,3	257,05	0,2	2,62
Naselli	1.929	6,3	12.244,88	10,6	6,35
Pagelli fragolino	46	0,1	67,80	0,1	1,47
Potassoli	111	0,4	84,84	0,1	0,76
Raiformi	48	0,2	267,43	0,2	5,53
Rane pescatrici	273	0,9	3.471,77	3,0	12,71
Ricciole	8	0,0	89,43	0,1	11,71
Rombi	122	0,4	1.123,23	1,0	9,18
Sogliole	344	1,1	5.583,63	4,8	16,21
Squali	110	0,4	723,12	0,6	6,58
Sugarelli	305	1,0	441,71	0,4	1,45
Triglie di fango	1.564	5,1	7.742,54	6,7	4,95
Triglie di scoglio	-	-	-	-	-
Altri pesci	734	2,4	4.321,55	3,7	5,89
Totale pesci	13.014	42	47.702	41	3,67
Calamari	66	0,2	1.209,78	1,0	18,19
Lumachini e murici	1.339	4,3	5.693,92	4,9	4,25
Moscardino bianco	83	0,3	165,50	0,1	2,00
Moscardino muschiato	557	1,8	1.598,09	1,4	2,87
Polpi	50	0,2	333,83	0,3	6,63
Seppie	1.172	3,8	7.569,20	6,5	6,46
Totani	736	2,4	1.606,19	1,4	2,18
Veneridi	-	-	-	-	-
Vongole	11.763	38,2	25.488,88	22,0	2,17
Altri molluschi	151	0,5	349,91	0,3	2,32
Totale molluschi	15.918	52	44.015	38	2,77
Aragoste e astici	1	0,0	48,46	0,0	45,29
Gamberi bianchi	18	0,1	238,07	0,2	13,50
Gamberi rossi	-	-	-	-	-
Gambero viola	-	-	-	-	-
Mazzancolla	213	0,7	3.745,31	3,2	17,61
Pannocchie	1.166	3,8	8.849,71	7,7	7,59
Scampi	379	1,2	10.842,75	9,4	28,57
Altri crostacei	101	0,3	210,06	0,2	2,07
Totale crostacei	1.878	6	23.934	21	12,74
Totale generale	30.810	100	115.652	100	3,75

1.2.4 Dinamica degli acquisti domestici

L'andamento dell'indice Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare (ISMEA) delle quantità di prodotti ittici acquistate dalle famiglie italiane mostra per l'anno 2008 una riduzione complessiva dell'1% rispetto al 2007, in una situazione di sostanziale stabilità dei consumi agroalimentari. Tale riduzione è comunque la risultante di una dinamica differente tra prodotti freschi (-3,4%) e trasformati (+1,7%).

Il consumo pro capite è ammontato a 20,5 kg nel 2008, in diminuzione del 7% sul 2007.

L'analisi di medio periodo, relativa al quinquennio 2003-2008, mentre conferma la stabilità degli acquisti per il totale agroalimentare, evidenzia invece un incremento medio annuo di circa il 3% per i prodotti ittici. (Tabella 12 e Figura 2).

Questo dopo un lungo periodo di aumento dei consumi legato alla crescente popolarità dei prodotti ittici tra i consumatori.

Tra i prodotti ittici freschi che più interessano in questo lavoro, segnaliamo che nel periodo 2003-2008 sono rimasti sostanzialmente stabili le richieste di pesce di mare, mentre la domanda di alcuni crostacei, in particolare gamberi e mazzancolle (+6,9%), mostra invece un sensibile incremento medio annuo.

Tab.12 Evoluzione delle quantità di prodotti ittici acquistate dalle famiglie (indici concatenati, 2000=100)

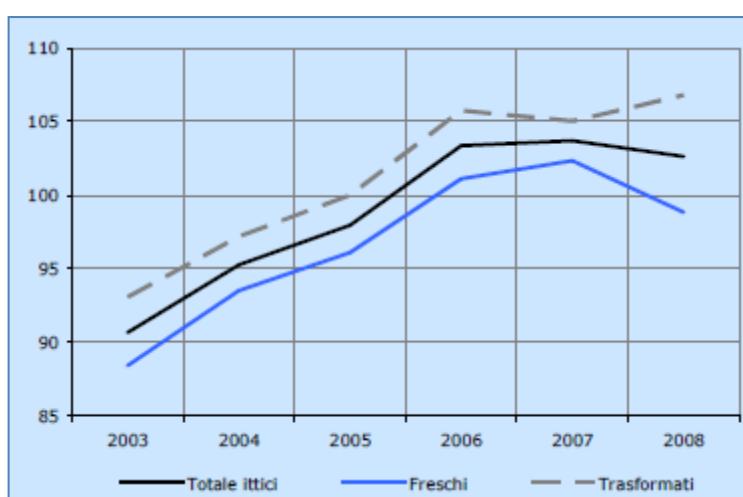
Prodotti	Var. %		T.v.m.a.
	08/07	07/06	
Prodotti freschi ¹	-3,4	1,2	3,0
Prodotti trasformati ²	1,7	-0,7	2,7
Totale prodotti ittici	-1,0	0,3	2,9
Totale agroalimentare	0,5	-0,4	0,5

1)Comprendono i prodotti freschi e decongelati sfusi interi, in tranci e in filetti.

2)Comprendono i prodotti congelati sfusi, congelati/surgelati confezionati, conservati e secchi, salati e affumicati sfusi e confezionati.

Fonte: Ismea

Fig. 2 Evoluzione delle quantità di prodotti ittici acquistate dalle famiglie (indici concatenati, 2000=100)



Fonte: Ismea

2. LAST MINUTE FISH

2.1 GENERALITA'

Lo spreco annuo di prodotti alimentari, ancora perfettamente consumabili, in Italia ammonta a 1,5 milioni di tonnellate, pari ad un valore di mercato di 4 miliardi di euro.^[4] Ogni giorno finiscono in discarica o all'incenerimento 4 mila tonnellate di alimenti; tra questi il 19% del pane, il 4% della pasta, il 18% della carne e il 17% della verdura e della frutta che gli italiani acquistano quotidianamente.

Oltre a questo si stima che il 95% dei prodotti alimentari ritirati dalle mensole dai negozianti sia perfettamente consumabile. ^[5]

In Gran Bretagna, a titolo di esempio e di confronto, si gettano ogni anno 6,7 milioni di tonnellate di cibo e il valore della produzione alimentare sprecata ammonta a 10 miliardi di sterline; negli Stati Uniti il 25% degli alimenti ancora perfettamente consumabili viene incenerito ogni anno; in Australia lo spreco riguarda 3,3 milioni di tonnellate di alimenti per un valore di 5,3 milioni di dollari.

Secondo un'indagine fatta dall' Associazione per la Difesa e l'Orientamento dei Consumatori (ADOC) nel novembre 2009, ogni nucleo familiare in Italia getta via ogni anno 515 euro di prodotti alimentari su una spesa mensile media di 475 euro, pari a circa il 9%.

L'obiettivo di ridurre tali sprechi assume pertanto una valenza positiva sotto molteplici profili: etico, sociale, ambientale, economico.

2.2 LAST MINUTE MARKET

Dall'approfondimento di tale realtà e dallo studio di possibili originali soluzioni è nato così presso la Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Bologna a partire dal 1998 uno studio che ha portato nel 2000 alla nascita del Last Minute Market (LMM) come associazione con l'obiettivo di recuperare a fini solidali le merci rimaste invendute, non più commercializzabili ma ancora perfettamente idonee al consumo.

Infatti gran parte dei prodotti sono scartati per motivi di carattere "estetico" (ammaccature delle confezioni, ad esempio) o perché hanno una data di scadenza ravvicinata.

L'associazione si è poi trasformata nella cooperativa *Carpe Cibum* nel 2003 e poi nel 2008 spin-off accademico, ossia impresa partecipata dall'Ateneo di Bologna.^[6]

Il nome dato al progetto intende richiamare un duplice significato: il primo di carattere economico poiché viene creato un mercato parallelo "dell'ultimo minuto", in quanto i beni sono prossimi alla scadenza o in via di dismissione; il secondo, di carattere sociale in quanto richiama l'idea che, per venire in aiuto dei cittadini più bisognosi, non si può sprecare neppure un minuto.

LMM è quindi un'attività di sviluppo locale sostenibile che è stata concepita come una fornitura di servizio, per la quale è stata creata un'apposita struttura di tipo associativo, al fine di coniugare a livello territoriale le esigenze delle imprese commerciali del settore alimentare e quelle degli enti no profit.

Le evidenti ricadute positive coinvolgono più livelli: ambientale, economico, sociale, sanitario ed educativo.

Le imprese, liberate dalle eccedenze pagano per il servizio e questo permette all'attività di intermediazione, svolta dal LMM, di autosostenersi economicamente.

Le imprese for profit, oltre al ritorno d'immagine, hanno anche un vantaggio economico: infatti si riducono i costi di smaltimento delle merci scartate, e fiscale, grazie alla possibilità di recuperare l'IVA sui prodotti alimentari donati. Quest'ultimo vantaggio è stato esteso poi anche ai beni non alimentari, per i quali l'IVA ammonta al 20%. Infatti mentre in passato l'IVA poteva essere scaricata quando il prodotto veniva smaltito, ma

non se veniva donato, una legge bipartisan comunemente denominata "Legge Antispreschi" (Legge 24.12.2007 n. 244 – Legge Finanziaria 2008-art.1 comma 130, pubblicata sulla G.U. 28.12.2007) ha esteso il recupero dell'IVA anche ai prodotti non alimentari che vengono donati.

Per gli enti e le associazioni che offrono assistenza a persone in condizioni di disagio sociale il vantaggio economico è evidente in termini di risparmio sull'acquisto di beni sia alimentari che di altra tipologia.

I vantaggi per le istituzioni e la società nel suo complesso sono molteplici: in primo luogo si riduce l'impatto ambientale attraverso l'utilizzo di beni che dovrebbero altrimenti essere smaltiti come rifiuti; a livello etico ed educativo perché una società in cui coesistono lo spreco con la povertà, la sottonutrizione e la malnutrizione, o addirittura la fame, e che non faccia niente per eliminare o almeno ridurre tali distorsioni, produce un disagio sociale diffuso che non può non avere conseguenze gravissime per il benessere e la felicità di tutti i cittadini; a livello economico perché si riduce il costo a carico della società nel suo complesso per il sostentamento di soggetti in situazione di disagio.

Al fine di evitare l'insorgere di problemi di carattere sanitario sono state inoltre coinvolte le ASL del territorio nello stabilire regole e limiti dell'utilizzo dei prodotti alimentari e nel controllo del rispetto delle stesse.

A tutto questo va poi aggiunto il vantaggio occupazionale per il fatto che il LMM crea posti di lavoro impiegando personale di volontari e non per la raccolta dei beni, nonché per le attività di supporto di natura giuridica, fiscale, gestionale, logistica ed informativa.

Si tratta in definitiva di un progetto che segue lo schema win-win: tutti i soggetti coinvolti ne ricavano un vantaggio.

Secondo alcune stime, se l'iniziativa, che attualmente coinvolge 16 città, fosse allargata su scala nazionale e coinvolgesse tutte le tipologie di vendita si potrebbero recuperare su base annua circa 283.000 tonnellate di beni alimentari (150 tonnellate da ogni supermercato) pari a un valore di 882 milioni di euro, potendo così aiutare 620.000 persone ogni giorno.^[4]

Pur partendo dagli sprechi di prodotti alimentari, LMM si è espanso anche in altre direzioni, promuovendo ed attuando efficacemente il recupero, oltre che dei beni alimentari (LMM-Food), di tutta la gamma di prodotti non alimentari, (LMM - No Food) grazie anche alla sopra citata "Legge Antispreschi"; di farmaci, (LMM-Pharmacy) che vengono comunemente tolti dagli scaffali sei mesi prima della data di scadenza; di libri (LMM-Book) inviati in Argentina, in Cile, in Brasile, a Cuba; di semi, (LMM-Seed) destinate principalmente all'Africa in un'ottica di cooperazione internazionale; di prodotti ortofrutticoli che rimangono non raccolti in campo (LMM-Harvest).

2.3 LAST MINUTE FISH: ATTIVITÀ E RISULTATI

Partendo dai presupposti descritti precedentemente, il gruppo di ricerca facente capo alla Sezione Scienze e Tecnologie Alimentari della Facoltà di Agraria dell'Università Politecnica delle Marche ha predisposto ed avviato un progetto coerente con le linee generali del LMM e con l'obiettivo che questo si prefigge di allargare l'area di intervento ad altre realtà locali. Conformemente ai principi di sostenibilità e di aderenza alle specificità territoriali della nostra zona, tale progetto ha coinvolto l'interesse delle imprese locali che operano in ambito ittico ed è stato quindi indirizzato a tale settore. Per tale motivo allo stesso è stato dato il nome di Last Minute Fish (LMF).

La scelta di attivare una iniziativa che consentisse il recupero delle eccedenze di pesce sul mercato locale è nata principalmente da due considerazioni.

La prima considerazione riguarda il ruolo e l'importanza che il pesce riveste sul piano nutrizionale. Per tale motivo, negli ultimi 10 anni, sotto la spinta delle raccomandazioni mediche e nutrizionali, la popolarità dei prodotti ittici tra i consumatori ha visto un

aumento. In Italia, in particolare, si stima che il consumo annuo pro capite di prodotti ittici sia di oltre 20 Kg.

La seconda, di carattere economico, è conseguente alla constatazione che il mercato ittico nel bacino dell'Adriatico, come quello della più vasta area del Mediterraneo, è caratterizzato da eccedenze di produzione strutturali soprattutto in alcuni periodi dell'anno.

In particolare, il porto di Ancona ospita circa 385 imbarcazioni da pesca, di cui circa 100 pescherecci a strascico (pesce bianco), con una stazza linda di oltre 100 tonnellate. Nell'area portuale sono presenti due mercati ittici, la cui produzione viene stimata attorno a 9365 tonnellate/anno. Se anche solo il 5% del prodotto costituisse il surplus di pesce invenduto, significherebbe un'eccedenza pari a 468 t/anno, pari a circa 1.200 kg/giorno di pesce destinato alla distruzione.

Basandosi su questi dati, è stato avviata, a partire dal 2007, un progetto di recupero che riguarda i prodotti ittici freschi invenduti dei mercati all'ingrosso.

E' stata quindi realizzata una rete LMF su base locale. I principi che sottendono tale progetto sono gli stessi descritti per il LMM: si vogliono coniugare a livello territoriale le esigenze delle imprese for profit e degli enti no profit, promuovendo un'azione di sviluppo sostenibile locale, con ricadute positive a livello ambientale, economico, e sociale.

Durante il primo anno di attività (2007), è stata condotta un'attività propedeutica di analisi progettuale. Sono stati individuati e contattati i possibili fornitori all'ingrosso di eccedenze ittiche di elevata qualità, disposti a cedere il prodotto invenduto senza profitto, risparmiando sui costi di distruzione/smaltimento dello stesso e i potenziali beneficiari, che, risparmiando sui costi d'acquisto della materia prima, fossero interessati ad approvvigionarsi direttamente dal fornitore.

A partire dal 2008 è stata attivata la rete operativa *LMF*: essa consta attualmente di quattro strutture locali no-profit (Associazione Onlus Opere Caritative Francescane-Casa Alloggio "Il Focolare" di Angeli di Varano, una comunità di accoglienza per malati di Aids; Opera Nazionale Francescana Padre Guido; Centro Papa Giovanni XXIII; Società Amore e Vita Coop. Sociale Onlus) che gestiscono mense interne, e tre aziende di produzione e commercializzazione di prodotti ittici della provincia di Ancona (Bigmar srl – Ancona; Oris Mare – Senigallia; Co.Pe.Mo. Cooperativa Pescatori Molluscoltori Soc. Coop. – Ancona).

Il tutto ha così consentito il recupero, alla data del 30 settembre 2010, di un totale di 1259 Kg di pesce di vario tipo e provenienza, di cui è così stato evitato lo spreco.

La Tabella 13 e il grafico in Figura 3 mostrano le quantità e le tipologie dei prodotti ittici forniti.

Contemporaneamente è stato attivato il monitoraggio dell'andamento del progetto in termini di risultati quantitativi e qualitativi: ricezione ed elaborazione statistica dei quantitativi coinvolti; caratterizzazione chimica della frazione lipidica di campioni di prodotto ceduto.

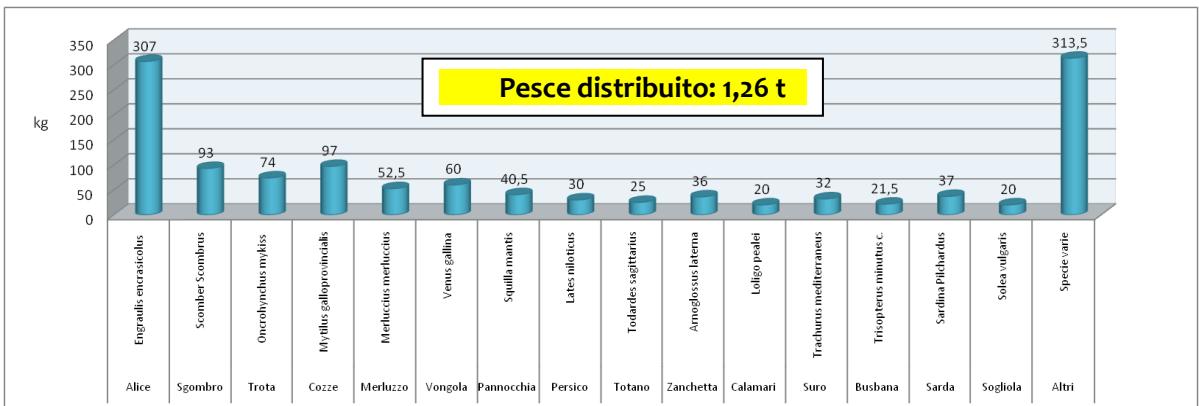
Tab.13 Last Minute Fish - Forniture di pesce al 30.09.2010

PRODOTTO	DESCRIZIONE	KG FORNITI	FORNITORI	
			1+2	3
Alice	<i>Engraulis encrasiculus</i>	307	307	
Astice	<i>Homarus gammarus</i>	0.5	0.5	
Busbana	<i>Trisopterus minutus c.</i>	21.5	21.5	
Calamari	<i>Loligo pealei</i>	20	20	
Callorinco	<i>Callorhinichus</i>	5	5	
Cannelli	<i>Solen vagina</i>	6	6	
Cappesante	<i>Pecten maximus</i>	3	3	
Cernia	<i>Epinephelus aeneus</i>	5	5	
Cozze	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	97	97	
Frittura fresca		3	3	
Frittura mista zona FAO 37		6	6	
Gambero di Fiume	<i>Palaemon alegans</i>	5	5	
Granchio	<i>Paralomis granulosa</i>	7	7	
Lumaconi o Bombi freschi Italia		10	10	
Lupino/ Vongola	<i>Venus gallina</i>	60	60	
Mazzola	<i>Trigla lucerna</i>	15	15	
Merluzzo	<i>Merluccius merluccius</i>	52.5	52.5	
Minutaglia fresca Italia		13	13	
Misto fresco		16	16	
Mollame misto Italia		22	22	
Orata	<i>Sparus aurata</i>	16.5	6.5	10
Palombo	<i>Mustelus asterias</i>	5	5	
Pangasio	<i>Pangasius Hypophthalmus</i>	3	3	
Pannocchia	<i>Squilla mantis</i>	40.5	40.5	
Persico (filetto)	<i>Lates niloticus</i>	30	30	
Pesce Fresco Misto		70	51	19
Pesce misto di seconda scelta		20	20	
Raguse	<i>Murex brandarie</i>	4	4	
Razza	<i>Raja miraletus</i>	1.5	1.5	
Rospo	<i>Lophius piscatorius</i>	2	2	
Salmone	<i>Salmo salar</i>	10	10	
Salpa	<i>Sarpa salpa</i>	10	10	
Sarda	<i>Sardina Pilchardus</i>	37	37	
Seppia	<i>Sepia officinalis</i>	2	2	
Sgombro	<i>Scomber Scombrus</i>	93	93	
Sogliola	<i>Solea vulgaris</i>	20	20	
Spada	<i>Xiphias glaudius</i>	3	3	
Spigola	<i>Dicentrarchus labrax</i>	19	19	
Suro	<i>Trachurus mediterraneus</i>	32	32	
Tonno	<i>Thunnus spp.</i>	10		10
Totano	<i>Todardes sagittarius</i>	25	25	
Triglia	<i>Mullus barbatus</i>	16	16	
Trota	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	74	74	
Vongola verace	<i>Dep. Tapes semidecussata</i>	5	5	
Zanchetta	<i>Arnoglossus laterna</i>	36	36	
TOTALE		1259	1220	39

Legenda Fornitori:

1. Bigmar s.r.l. – Ancona; 2. Co.Pe.Mo. – Ancona; 3. Oris Mare - Senigallia

Fig. 3 Last Minute Fish - Forniture di pesce al 30.09.2010



3. I CROSTACEI

I crostacei rappresentano il gruppo filogenetico con il grado di diversità morfologica più elevato: secondo una recente classificazione viene stimato in circa **52.000** il numero di specie di crostacei esistenti. Tutto ciò è il risultato di milioni di anni di evoluzione che comincia, probabilmente, all'inizio del cambriano (era paleozoica), quando ancora non esisteva la vita sulla terraferma, per arrivare ai giorni nostri.

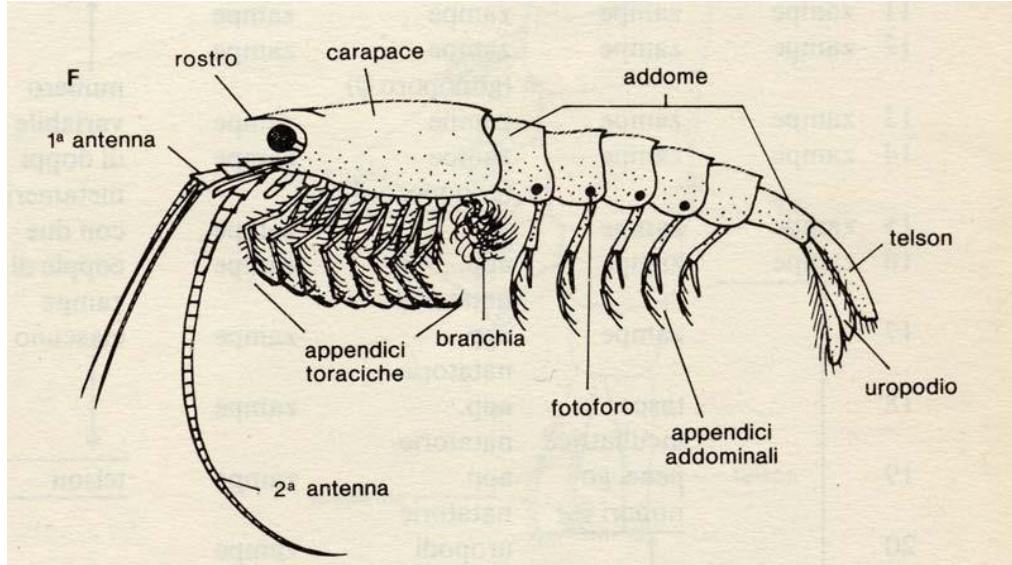
Anche se l'interesse commerciale si rivolge a ben poche specie, in particolare a quelle dell'ordine dei decapodi con all'interno i gamberetti (peneidi), le aragoste e gli scampi (palaenidi e nefropidi) e i granchi (portunidi e xantoidi), la possibilità di allevamento è stata sfruttata anche grazie all'adattamento che tante specie di crostacei hanno messo in campo durante la loro lunghissima evoluzione. [6]

Appartengono al phylum degli Artropodi e sono quindi caratterizzati da un esoscheletro protettivo chitinoso che comporta la necessità per questi animali di un periodico ricambio dell'intera cuticola (muta). Inoltre il corpo è spesso suddiviso in placche rigide alternate a giunture sottili e flessibili.

I crostacei sono per la maggior parte delle specie di animali marini e di acqua dolce; solo poche specie vivono sulla terraferma.

Il loro corpo è suddiviso in un capo e un torace oppure un cefalotorace, spesso con carapace, addome, telson, due paia di antenne, occhi composti, appendici bifide, due o più paia di appendici toraciche, un paio di zampe per ogni segmento del corpo. (Figura 4)

Fig. 4 Morfologia di un crostaceo



3.1 IL GRANCHIO DI SABBIA

La specie *Liocarcinus vernalis* (Risso, 1816) è una specie prevalentemente mediterranea, che abita i fondali sabbiosi e vive interrato nella sabbia dalla zona intertidale fino a 100 m di profondità e nelle lagune salmastre.^[7]

Il suo areale di diffusione è comunque più vasto e va dalle coste occidentali africane al sud-ovest della Francia. A partire dagli ultimi anni '80, è stata ritrovata lungo la costa nord-ovest della Francia, quella belga e quella olandese. Ulteriori ricerche attestano ritrovamenti di esemplari di questa specie nelle acque delle coste britanniche e irlandesi che risalgono alla metà del 19° secolo. L'estremo limite nord della sua distribuzione sembra essere perciò definito nella parte meridionale del Mare del Nord (Figura 5).^{[8] [9]}

Fig. 5 Distribution map of *Liocarcinus vernalis*

Fonte: Ocean Biogeographic Information System (OBIS) www.iobis.org



La classificazione scientifica è riportata nella Tabella 14.

Tab. 14 – Classificazione scientifica del granchio di sabbia



PHYLUM	Arthropoda
SUBPHYLUM	Crustacea
CLASSE	Malacostraca
SOTTOCLASSE	Eumalacostraca
SUPERORDINE	Eucarida
ORDINE	Decapoda
SOTTORDINE	Pleocyemata
INFRAORDINE	Brachyura
SUPERFAMIGLIA	Portunoidea
FAMIGLIA	Portunidae
GENERE	Liocarcinus
SPECIE	<i>L. vernalis</i> (Risso, 1816)
NOMI COMUNI	granchio di sabbia; grancella (It); vernal crab (GB)
SINONIMI	<i>Portunus vernalis</i> Risso, 1827 <i>Macropipus vernalis</i> Risso, 1816 <i>Portunus valentieni</i> Cocco, 1833 <i>Portunus dubius</i> Rathke, 1837 <i>Portunus barbarus</i> Lucas, 1846

Fonte: Marine Species Identification Portal

<http://species-identification.org>

Si caratterizza morfologicamente per avere un carapace di larghezza fino a 40 millimetri, nettamente superiore alla lunghezza, convesso longitudinalmente, con regioni ben evidenti e superficie liscia o più o meno granulosa, di colore tipicamente da grigio a verde uniforme e con peluria corta e sporadica. Il segmento terminale della quarta zampa posteriore è appiattito, e viene utilizzato per scavare una fossa in cui il granchio si nasconde. [10]

La riproduzione, avviene da febbraio a giugno; le femmine sono ovigere nel periodo marzo-agosto.

Per quel che concerne il valore nutritivo vengono riportati nella tabella 15 i dati relativi ad una specie affine (*Cancer pagurus*) in quanto non sono stati reperiti in letteratura i valori relativi alla specie in esame (fonte: Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione -INRAN)

Tab. 15– Composizione chimica e valore energetico
del granchio, in scatola (*Cancer pagurus*) per 100 g
di parte edibile

Parte edibile (%)	100
Acqua (g)	80.0
Proteine (g)	18.1
Lipidi (g)	0.9
Carboidrati (g)	0.0
Amido (g)	0.0
Zuccheri solubili (g)	0.0
Fibra totale (g)	0.0
Energia (Kcal)	81
Sodio (mg)	550
Potassio (mg)	100
Ferro (mg)	2.8
Calcio (mg)	120
Fosforo (mg)	32
Tiamina (mg)	tr
Riboflavina (mg)	0.05
Niacina (mg)	1.1
Vit. A ret. Eq. (μg)	tr
Vit. C (mg)	tr

Fonte: INRAN.

3.2 LA MAZZANCOLLA

La specie *Penaeus (Melicertus) kerathurus* (Forskål, 1775) ha un range di distribuzione che interessa l'intero Mediterraneo e l'Atlantico orientale dalle coste meridionali inglesi fino all'Angola. (Figura 6).

Fig. 6 Distribution map of *Penaeus kerathurus*
Fonte: Ocean Biogeographic Information System (OBIS) www.iobis.org



Il suo habitat sono i fondali sabbiosi o fangosi, generalmente tra i 5 e i 40 m di profondità, anche se può arrivare fino ai 75 m.

Da adulto vive nelle acque costiere marine, mentre allo stadio di postlarva e giovanile preferisce gli ambienti delle foci dei fiumi o le lagune dove la salinità è più bassa ed il nutrimento (a base di fitoplancton e zooplankton) è più abbondante.

La lunghezza media del corpo varia dai 110 ai 140 mm per i maschi e dai 130 ai 170 mm per le femmine, mentre quella massima può raggiungere rispettivamente i 180 e i 225 mm.

Ha abitudini marcatamente fossorie: nelle ore diurne resta infossato nel substrato ed esce solo dopo il tramonto fino all'alba.

E' caratterizzata da un rostro dentellato sino al centro delcefalotorace. Il colore è chiaro con bande o macchie trasversali marrone.

Si riproduce in primavera-estate vicino a costa.

E' una specie pescata in tutte le coste del Mediterraneo ed è un prodotto importante della pesca costiera, perché di grande taglia e di gusto eccellente. Lungo le coste dell'Africa occidentale ha una minore importanza economica.^[11]

La classificazione scientifica è riportata nella Tabella 16.

Tab. 16 – Classificazione scientifica della mazzancolla

PHYLUM	Arthropoda
SUBPHYLUM	Crustacea
CLASSE	Malacostraca
SOTTOCLASSE	Eumalacostraca
ORDINE	Decapoda
SOTTORDINE	Dendrobranchiata
INFRAORDINE	Brachyura
SUPERFAMIGLIA	Penaeoidea
FAMIGLIA	Penaeidae
GENERE	Penaeus
SPECIE	P. kerathurus
NOMI COMUNI	mazzancolla; gambero imperiale, gamberone mediterraneo (It); karamote shrimp; caramote prawn; triple grooved shrimp (GB).
SINONIMI	Melicertus kerathurus

Fonte: World Register of Marine Species

<http://www.marinespecies.org/>

Per quel che concerne il valore nutritivo vengono riportati nella tabella 17 i dati relativi ad una specie affine, (*Crangon vulgaris*) in quanto non sono stati reperiti in letteratura i valori relativi alla specie in esame (fonte: Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione -INRAN)

Tab. 17– Composizione chimica e valore energetico dei gamberi freschi (*Crangon vulgaris*) per 100 g di parte edibile

Parte edibile (%)	45
Acqua (g)	80.1
Proteine (g)	13.6
Lipidi (g)	0.6
Colesterolo (mg)	150
Carboidrati (g)	2.9
Amido (g)	0.0
Zuccheri solubili (g)	2.9
Fibra totale (g)	0.0
Energia (Kcal)	71
Sodio (mg)	146
Potassio (mg)	266
Ferro (mg)	1.8
Calcio (mg)	110
Fosforo (mg)	349
Magnesio (mg)	39
Zinco (mg)	1.9
Rame (mg)	0.7
Selenio (μg)	30
Tiamina (mg)	0.08
Riboflavina (mg)	0.1
Niacina (mg)	3.2
Vit. A ret. Eq. (μg)	2
Vit. C (mg)	2

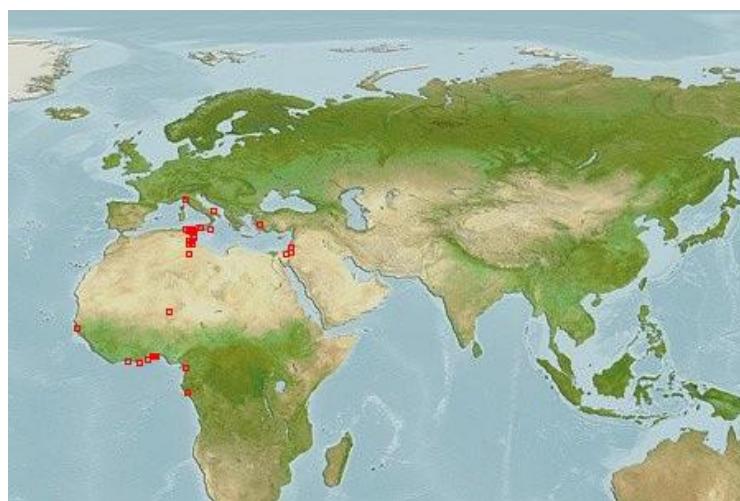
Fonte: INRAN.

3.3 LA PANNOCCHIA

La specie *Squilla mantis* (L.,1758) è un crostaceo della famiglia degli Squillidae. Le zone di diffusione e di pesca si trovano nel Mediterraneo per lo più nelle vicinanze della foce dei principali fiumi (Figura 7)

Fig. 7 Distribution map of *Squilla mantis*

Fonte: Ocean Biogeographic Information System (OBIS) www.iobis.org



Ha una corazza di colore bianco-grigiastra con riflessi rosati e con due caratteristiche macchie ovali bruno-violacee sulla coda simili ad occhi, la forma è allungata e può raggiungere una lunghezza massima di 20 cm.

Vive ad una profondità che va dai 10 m ai 200 m sui fondi sabbiosi, fangosi costieri, spesso in prossimità della foce dei fiumi o dello sbocco dei canali.

La pannocchia, chiamata anche canocchia o con nomi diversi nelle varie regioni italiane, è un animale solitario, vive durante il giorno in gallerie scavate nel fondo e di notte esce alla ricerca di cibo o per la riproduzione. Si nutre di piccoli pesci, di organismi morti o di detriti. Viene generalmente catturata con le reti a strascico.^[10]

Nella Tabella 18 viene riportata la classificazione scientifica della specie.

Tab. 18 – Classificazione scientifica della
pannocchia

	
PHYLUM	Arthropoda
SUBPHYLUM	Crustacea
CLASSE	Malacostraca
SOTTOCLASSE	Hoplocarida
ORDINE	Stomatopoda
SOTTORDINE	Unipeltata
SUPERFAMIGLIA	Squilloidea
FAMIGLIA	Squillidae
GENERE	Squilla
SPECIE	<i>S.mantis</i> (L.,1758)
NOMI COMUNI	Pannocchia(It-Marche); Mantis shrimp (GB).

Fonte: World Register of Marine Species
<http://www.marinespecies.org/>

Il ciclo di vita di questa specie è ben conosciuto: ha sessi separati e la fecondazione è interna; il periodo di deposizione è concentrato dall'inverno alla primavera e le larve planctoniche si trovano d'estate. L'insediamento delle post-larve avviene dalla fine dell'estate al tardo autunno.

Il ripopolamento delle zone di pesca incomincia nel tardo autunno per raggiungere il massimo tra gennaio e maggio. La popolazione in mare consiste di tre classi di età e il ciclo di vita è stimato in circa tre anni. La pannocchia è una specie bentonica, fortemente legata ai sedimenti dei fondali, come è dimostrato dal suo comportamento scavatore e dalla composizione della sua dieta. La specie mostra uno schema territoriale di comportamento. La struttura delle popolazioni varia stagionalmente a causa delle nuove nascite (inverno-primavera) e della scomparsa degli adulti (estate-autunno).

La pesca è principalmente basata sullo sfruttamento di un singolo gruppo costituito dalle nascite dell'anno precedente, ed è altamente dipendente dal ripopolamento. I livelli delle

catture sono rimasti abbastanza costanti negli anni '90 a causa dell'elevato turnover delle risorse.

Le femmine che portano le uova non escono dalla loro tana durante il periodo di incubazione; inoltre l'entità delle catture è più bassa durante il giorno e la pesca a strascico non è permessa a una profondità di meno di 50 m nel Mediterraneo: tutto ciò protegge le popolazioni di questa specie da un eccessivo depauperamento a causa della pesca.^[12] Relativamente alla composizione chimica e al valore energetico, riferiti a 100 grammi di parte edibile anche in questo caso, non essendo stati reperiti in letteratura i valori relativi alla specie *Squilla mantis*, si fa riferimento ai dati riportati in Tabella 17 per una specie affine (*Crangon vulgaris*).

4. LA FRAZIONE LIPIDICA

I lipidi comprendono un ampio gruppo di composti che sono generalmente solubili in solventi organici ma solo moderatamente solubili in acqua.

Sono i maggiori componenti del tessuto adiposo, e insieme alle proteine e ai carboidrati costituiscono i principali componenti strutturali di tutte le cellule viventi.

Gli esteri glicericì degli acidi grassi, che costituiscono fino al 99% dei lipidi di origine vegetale e animale, sono stati tradizionalmente chiamati grassi ed oli. La distinzione, basata solamente sul fatto se siano solidi o liquidi a temperatura ambiente, è di poca importanza pratica e i due termini sono spesso intercambiabili.

I lipidi della dieta svolgono un importante ruolo nella nutrizione. Forniscono calorie e acidi grassi essenziali (EFA), si comportano da trasportatori di vitamine, e accrescono la palatabilità del cibo, ma per molto tempo sono stati al centro di controversie relativamente riguardo alla loro tossicità, alla obesità e alle malattie.^[13]

Dal punto di vista chimico i lipidi possono essere distinti in saponificabili e non saponificabili, a seconda che contengano o meno una o più molecole di acidi grassi che, per idrolisi alcalina, si distaccano sotto forma di saponi, cioè sali alcalini degli acidi grassi.^[1]

Riportiamo nella Tabella 19 la suddivisione delle differenti classi di lipidi in base a tale tipo di classificazione:

Tab. 19 Classificazione dei lipidi in saponificabili ed insaponificabili

Lipidi saponificabili	Lipidi non saponificabili
Acilgliceroli (tri-, di- e mono-acilgliceroli) o gliceridi	Terpeni
Fosfolipidi	Steroli
Glicolipidi	Eicosanoidi
Cere	
Steridi	

Questa classificazione è molto utile anche dal punto di vista analitico in quanto fornisce elementi utili a fare ipotizzare strategie analitiche per la separazione dei lipidi nelle singole classi.^[14]

Dal punto di vista della funzione svolta nell'organismo, possono essere classificati in: lipidi di deposito o trigliceridi (98%) che fungono da riserva energetica; lipidi cellulari (2%): fosfolipidi, glicolipidi e colesterolo, che hanno invece funzione strutturale; lipidi con specifiche attività biologiche (tracce): si identificano in gran parte con la frazione insaponificabile dei grassi e rivestono ruoli di grande importanza fisiologica (ormoni, messaggeri intracellulari, pigmenti per l'assorbimento della luce ecc.)^[1]

4.1 GLI ACIDI GRASSI

Il termine acidi grassi (FA) si riferisce a qualsiasi acido monocarbossilico alifatico che può essere liberato dai grassi esistenti in natura attraverso l'idrolisi.^[13]

Gli acidi grassi nei lipidi sono normalmente uniti, con legame estere oppure di tipo ammidico, ad alcoli di vario tipo (glicerolo, sfingosina, alcoli monovalenti superiori, steroli).

Le catene alifatiche monocarbossiliche sono prevalentemente lineari con numero pari di atomi di carbonio, ma non mancano, anche se sono meno frequenti acidi grassi a numero dispari di atomi di carbonio, a catena ramificata e con sostituenti diversi nella catena idrocarburica.

Vengono detti saturi, in sigla **SFA** (Saturated Fatty Acids) se tra gli atomi di carbonio ci sono solo legami semplici C-C; monoinsaturi, in sigla **MUFA** (Monounsaturated Fatty Acids) e polinsaturi in sigla **PUFA** (Polyunsaturated Fatty Acids) quando vi è la presenza rispettivamente di uno o più doppi legami C=C.

I saturi prevalgono nel mondo animale e i più comuni sono il palmitico a 16 atomi di carbonio e lo stearico a 18.

Gli insaturi si ritrovano prevalentemente nei vegetali e negli animali che vivono a basse temperature. I più importanti sono l'oleico, tra i monoinsaturi, il linoleico e il linolenico, tra i polinsaturi.

Esistono differenti sistemi di nomenclatura.

La denominazione più antica è quella nella quale il nome dell'acido grasso deriva dalla fonte naturale dalla quale fu isolato per la prima volta, o nella quale è o era ritenuto predominante.

Il metodo ufficiale di nomenclatura dell'International Union Pure and Applied Chemistry (IUPAC) prevede che ogni singolo acido grasso venga indicato prendendo come riferimento l'idrocarburo con lo stesso numero di atomi di carbonio, sature o insature, e sostituendo il suffisso "O" dell'idrocarburo satturo con il suffisso -oico. Se l'acido contiene due gruppi carbossilici il suffisso diventa -dioico.

Gli atomi di carbonio della catena vengono numerati assegnando il numero 1 al carbonio del gruppo carbossilico e proseguendo con la numerazione in ordine crescente dei restanti carboni.

Nelle designazioni abbreviate per i trigliceridi, ad ogni acido può essere assegnata una abbreviazione con una lettera standard come P per palmitico ed L per linoleico.

Per gli acidi grassi insaturi viene utilizzato il suffisso -enoico, preceduto dal numero che contrassegna l'atomo di carbonio insatturo e dalla sigla indicante il numero di insaturazioni (di, tri ecc.)

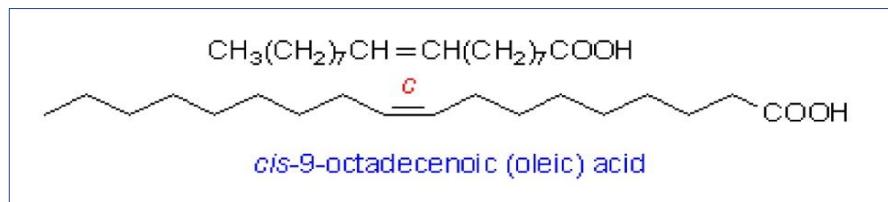
La posizione dei doppi legame, nel caso dei PUFA, è prevalentemente isolata; può diventare coniugata nel caso di un rialzo termico e durante il processo di irrancidimento autossidativo.

L'isomeria geometrica del legame viene indicata con le sigle *cis* e *trans*.

Il modo più semplice di specificare la posizione del doppio legame è mettere, prima del nome dell'acido, un numero per ogni legame insatturo. Così l'acido oleico può essere indicato come acido cis -9-ottadecenoico

(figura 8).

Fig. 8- Formula strutturale dell' acido oleico
 Fonte: *The American Oil Chemists' Society (AOCS) Lipid Library web site*



Gli acidi grassi possono essere anche rappresentati da una semplice espressione numerica; la più frequente, con la numerazione della catena carboniosa a partire dal gruppo carbossilico è:

$Cm:n \Delta^x$ dove m indica il numero di carboni costituenti la catena carboniosa, n il numero di insaturazioni e x il numero del carbonio insaturo per esempio l'acido oleico viene indicato con C18:1 Δ^9 .

Per specificare l'isomeria del doppio legame vicino a x si scrive C, per doppi legami in configurazione *cis*, e T per quelli in configurazione *trans*.

Un'altra modalità, con la numerazione della catena carboniosa a partire dal gruppo metilico terminale, è nella forma nx o ωx dove x indica il numero di atomi di carbonio dal doppio legame alla regione terminale della molecola , per esempio sempre l'acido oleico viene indicato è C18:1 n-9, o C 18:1 $\omega 9$.

Sebbene questo contraddica la convenzione che la posizione dei gruppi funzionali dovrebbe essere correlata a quella del carbonio carbossilico, questo è di grande convenienza per i biochimici. I lipidi di animali e piante frequentemente contengono famiglie di acidi grassi monoenoici con strutture terminali similari, ma con differenti lunghezze della catena, che possono derivare da un precursore comune attraverso l'elongazione o la β - ossidazione. Tale nomenclatura aiuta a segnalare tali relazioni.

Sulla base di quanto detto sopra gli acidi grassi monoinsaturi e polinsaturi possono essere ulteriormente suddivisi in serie di cui le più importanti sono:

- Omega-3 ($\omega 3$) o serie dell'acido linolenico;
- Omega-6 ($\omega 6$) o serie dell'acido linoleico;
- Omega-9 ($\omega 9$) o serie dell'acido oleico.

L'esigenza di raggruppare gli acidi grassi monoinsaturi e polinsaturi nelle famiglie $\omega 3$, $\omega 6$, $\omega 7$, $\omega 9$ nasce sulla base delle relazioni biometaboliche intercorrenti tra essi (Figura 9) [1] [13] [14].

4.2 GLI ACIDI GRASSI ESSENZIALI

La biosintesi degli acidi grassi avviene per successive reazioni di elongazione della catena carboniosa, cioè per successive condensazioni di unità bicarboniose a partire dall'acetil-CoA. A partire dall'acido palmitico (C16:0) inoltre, accanto alle reazioni di elongazione della catena, possono tuttavia avere luogo anche reazioni di deidrogenazione che portano alla formazione dei MUFA e dei PUFA.

L'organismo umano non è in grado di biosintetizzare tutti gli acidi grassi necessari al suo funzionamento in quanto, in particolare, esso non dispone di desaturasi in grado di agire sui primi 7 legami (a partire dal CH₃ terminale) della catena alifatica dell'acido grasso.

Gli acidi grassi **linoleico** C 18: 2 (18:2 Δ9c,12c ω6, LA) e **α-linolenico** (18:3 Δ9c,12c,15c ω3, LnA) che hanno un doppio legame a 6 o 3 atomi di C dal fondo della catena (n-6 o ω6; n-3 o ω3) non possono essere biosintetizzati e devono quindi essere introdotti con l'alimentazione essendo i precursori di due serie di composti.

Sono per questo chiamati Acidi Grassi Essenziali(EFA). Nella figura 10 è mostrata la loro struttura molecolare.

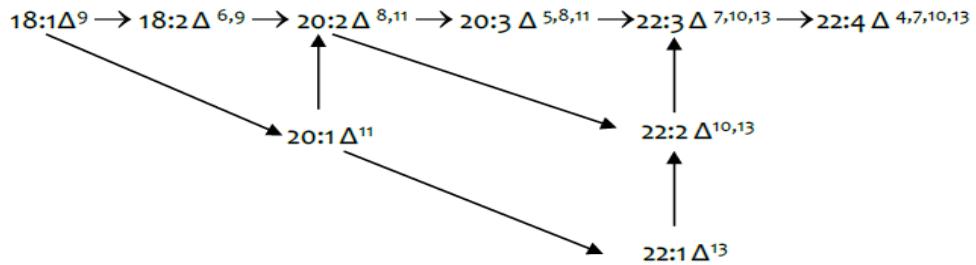
Gli EFA sono indispensabili per la struttura delle membrane biologiche, in quanto costituenti dei fosfolipidi; sono i precursori degli eicosanoidi, mediatori chimici a livello cellulare; regolano i lipidi ematici svolgendo un'azione preventiva nei confronti dell'aterosclerosi.^[1]

Fig. 9– Correlazioni biosintetiche tra gli acidi grassi delle famiglie $\omega 9$ (a), $\omega 6$ (b) e $\omega 3$ (c).

(a)

Famiglia $\omega 9$

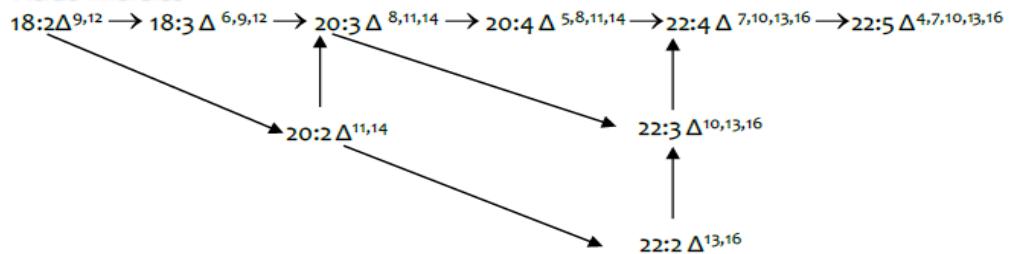
Acido oleico



(b)

Famiglia $\omega 6$

Acido linoleico



(c)

Famiglia $\omega 3$

Acido α -linolenico

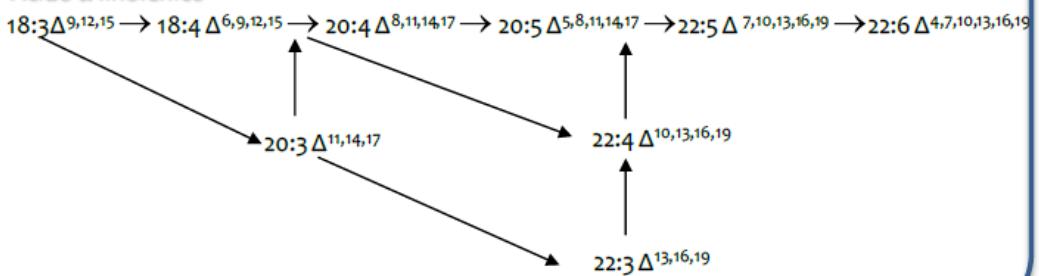
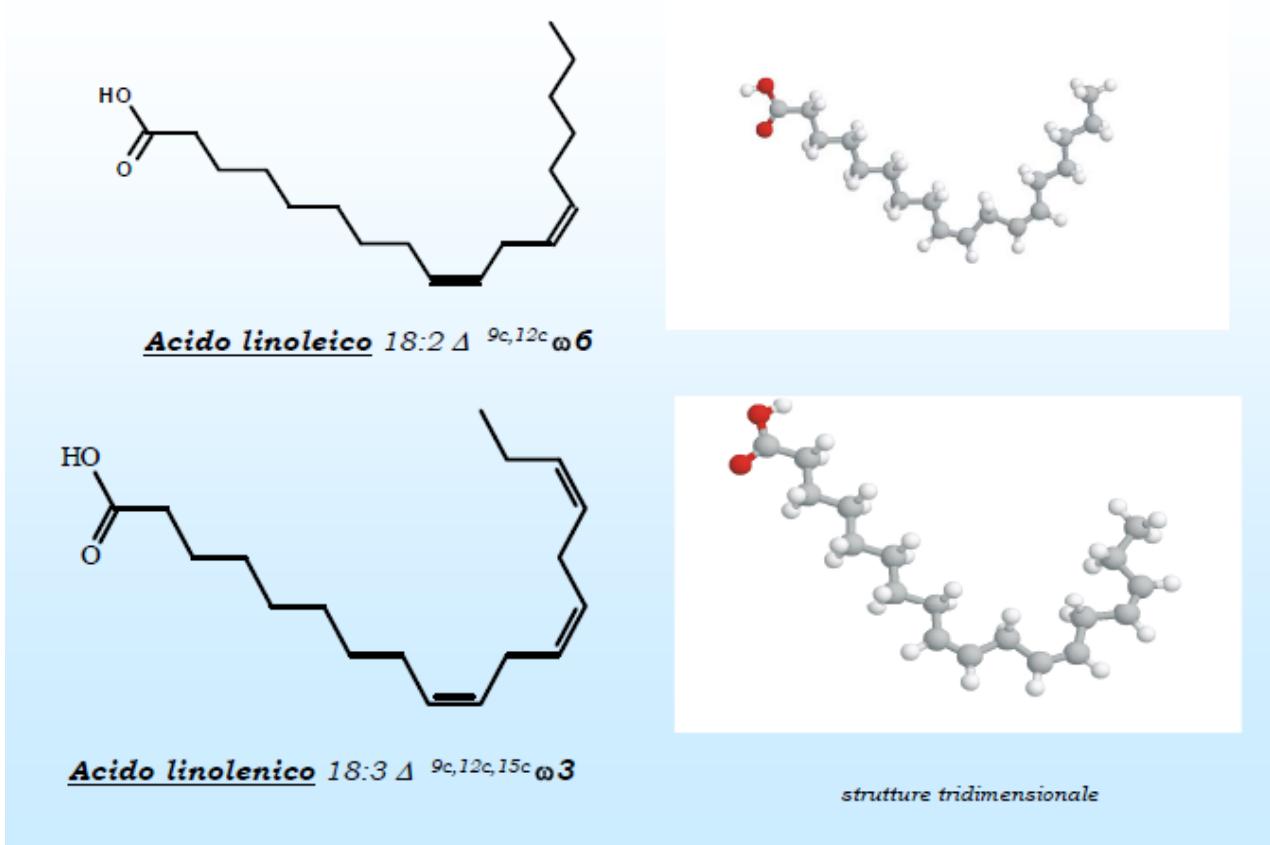


Figura 10. Strutture molecolari dell'acido linoleico e dell'acido linolenico

ACIDI GRASSI ESSENZIALI (EFA)



4.3 GLI EICOSANOIDI

Gli eicosanoidi sono molecole che prendono origine da acidi insaturi a 20 atomi di carbonio della serie $\omega 6$ e $\omega 3$; hanno azione ormonosimile, ma a differenza degli ormoni hanno un'azione locale diretta sul tessuto che li ha prodotti (autacoidi).

La loro azione fisiologica si esplica sulla contrazione della muscolatura liscia, l'aggregazione piastrinica e la motilità vasale, sul metabolismo lipidico e nei processi infiammatori e immunitari.

Si suddividono in:

- prostaglandine (PG): devono il loro nome al loro ritrovamento nel liquido seminale umano, e pertanto ritenute un prodotto della prostata, da parte di Von Euler U. Sono composti a 20 atomi di carbonio, con un anello pentatomico e due catene laterali, di cui una con un gruppo carbossilico terminale; derivano dall'acido arachidonico ed esplicano un ruolo importante come mediatori dei processi derivanti dalle infiammazioni.
- trombossani (TX): esplicano la loro azione influenzando l'aggregazione piastrinica e la contrazione della muscolatura liscia delle arterie;

- leucotrieni (LT): acidi carbossilici non ciclizzati a 20 atomi di carbonio con tre doppi legami coniugati, isolati per la prima volta nei leucociti, sono coinvolti nella patogenesi dell'asma bronchiale e nella reazione anafilattica e intervengono nella contrazione delle arterie e nella permeabilità delle vene;
- idrossiacidi (HETE - *HydroxyEicosaTetraEnoic acid*) : hanno azione leucotattica cioè favoriscono la migrazione dei globuli bianchi. [1]

4.4 I FOSFOLIPIDI

La presenza di fosforo nei lipidi estratti con etanolo da tessuto cerebrale furono inizialmente scoperti nel 1811 da Vauquelin.

I fosfolipidi sono costituenti essenziali di tutte le cellule, concentrati in particolare nei mitocondri, nei microsomi e nelle membrane plasmatiche; sono abbondanti nel tuorlo d'uovo, nel tessuto nervoso, nel midollo osseo.

Non c'è un generale accordo sul modo migliore di classificarli, ma la maggior parte delle classificazioni dividono i fosfolipidi (PL) in due gruppi:

- fosfogliceridi che sono derivati del *sn-glicerolo 3-P*
- sfingolipidi in cui il glicerolo è sostituito dalla *sfingosina* (o da un suo derivato), un amminoalcol insaturo

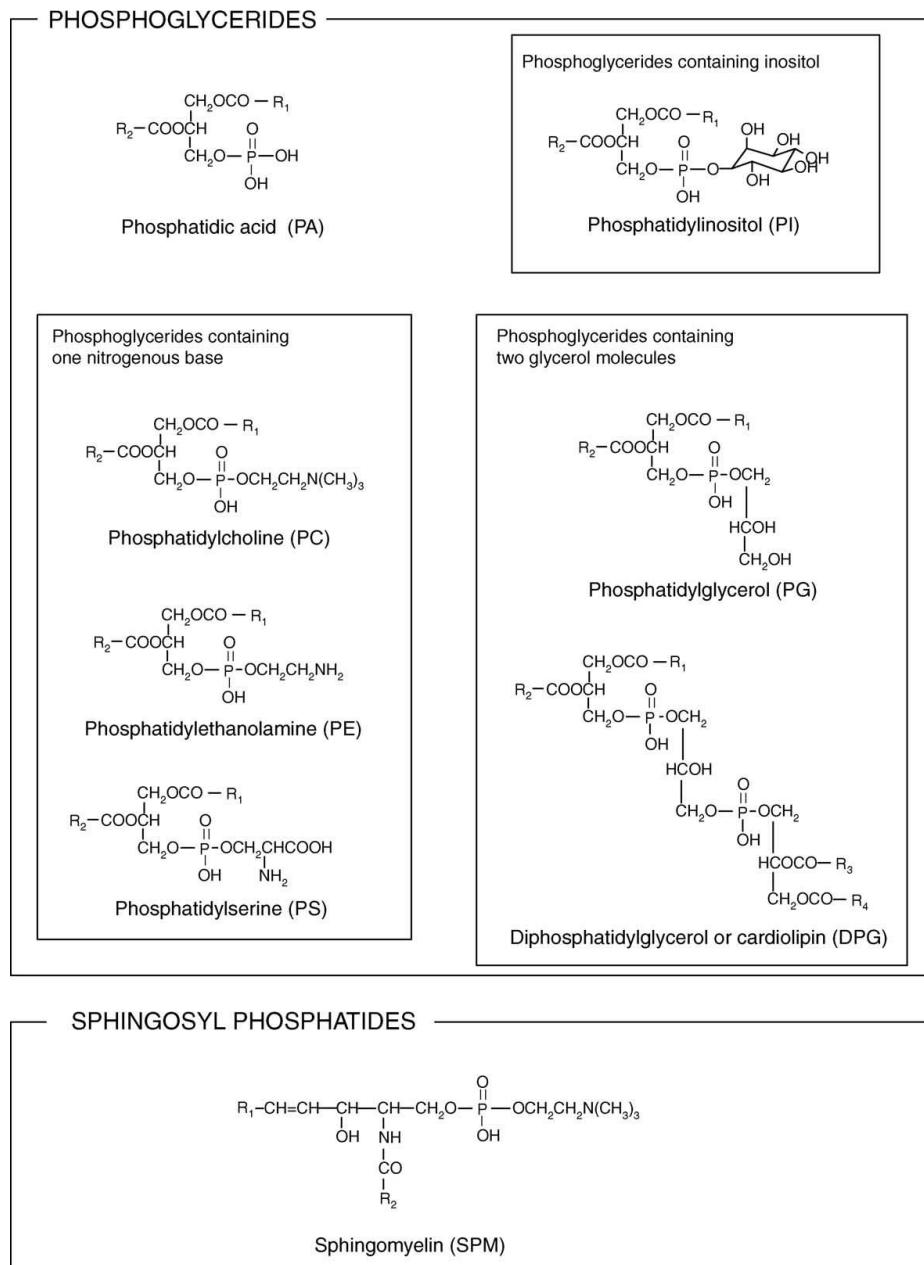
I fosfoglyceridi sono un gruppo di lipidi complessi presente in tutte le membrane cellulari. Derivano dal più semplice composto, l' acido fosfatidico (PA) (Figura 9) e possono essere classificati in diversi sotto-gruppi in base alla loro struttura molecolare.

Per esempio la fosfatidilcolina (PC) la fosfatidiletanolammina (PE) e la Fosfatidilserina (PS) contengono una base azotata; il fosfatidilinositolo (PI) contiene inositolo; il fosfatidilglicerolo (PG) e il difosfatidilglicerolo o cardiolipina (DPG) due molecole di glicerolo.

Tra i sfingolipidi, particolarmente rappresentativa è la sfingomielina (SPM) che si ritrova nelle membrane plasmatiche, nella guaina mielinica delle fibre nervose e nella sostanza bianca del cervello.

Nella figura 11 vengono raffigurate le strutture chimiche dei principali fosfolipidi .[15]

Fig 11. Strutture chimiche dei principali fosfolipidi



4.5 GLI ACIDI GRASSI FURANICI

Gli effetti protettivi di una dieta ricca di prodotti del mare o dell'olio di pesce nei confronti delle malattie cardiovascolari sono ben noti.

Considerato che i pesci sono ricchi di PUFA $\omega 3$, le proprietà protettive del consumo di pesce sono state attribuite a questi particolari acidi grassi senza considerare la possibilità che composti minori naturali possano avere effetti fisiologici molto maggiori e che i PUFA $\omega 3$, come tutti gli altri PUFA, vanno incontro rapidamente a fenomeni perossidativi, mentre gli acidi grassi saturi ed i monoinsaturi non ne sono interessati.

Recenti studi hanno indagato sulla possibilità che anche componenti minori naturali presenti nei pesci potessero essere coinvolti nella protezione da malattie cardiovascolari. Tra questi, numerose ricerche si sono indirizzate nella valutazione del ruolo biologico degli acidi grassi furanici (FFA).

4.5.1 Distribuzione

Gli FFA sono un gruppo di acidi grassi identificati per la prima volta da Glass *et al.* nel luccio (*Esox lucius*)^[16]

Gli FFA, sono in seguito stati trovati in un grande numero di pesci d'acqua dolce^[17] e marini,^[18] nell'olio di pesce. e, nei tessuti di alcuni invertebrati^[19] come i crostacei (gamberi), dove sembravano essere presenti abbondantemente solo nelle specie d'acqua dolce e non in quelle marine.^{[20][21][22]} anfibi ("rana toro"- bullfrog) e nei rettili (tartarughe). Sono stati inoltre identificati nelle spugne marine,^[23] nei coralli molli^[24] in diverse piante, lieviti, alghe, funghi^[25], batteri marini,^{[26][27][28]} grassi alimentari come il burro^[29] e l'olio vergine d'oliva,^[30] tessuti di mammiferi^[31] e sangue, incluso quello umano.^{[32][33][34]}

Dagli studi eseguiti sul luccio, è stata riscontrata una variazione del contenuto degli FFA nell'anno e il loro accumulo nei testicoli e nel fegato dei maschi nel periodo riproduttivo. Questo sembrò indicare una correlazione fra gli FFA e i processi di riproduzione. In un secondo momento, però, altri studi hanno correlato questo aumento del contenuto in FFA con la mancanza di cibo.

Gli FFA sono stati rinvenuti in tutti i tessuti dei pesci analizzati e nel loro sangue; la fonte più ricca risulta essere il fegato.

Come gli altri acidi grassi, si trovano nelle cellule viventi sottoforma di esteri e non in forma libera. Nel fegato dei pesci principalmente si presentano esterificati con il colesterolo e in minor percentuale nei trigliceridi e nei fosfolipidi.

Durante il periodo di scarsità di cibo, gli esteri del colesterolo presenti nel fegato diventano particolarmente ricchi in FFA.

Nei testicoli, differentemente dal fegato, si trovano quasi esclusivamente come esteri dei trigliceridi. Nelle uova di salmone sono prevalentemente presenti come esteri del glicerolo. La carne del pesce ne risulta particolarmente ricca nella frazione fosfolipidica, dove si riscontrano principalmente nella fosfatidilcolina (PC); questo risulta anche per il tessuto muscolare dei crostacei come i gamberi.^[22]

Solo recentemente è stato dimostrato che gli FFA non sono prodotti nei pesci ma originano nella parte terminale della catena alimentare cioè dalle alghe. Possono però essere biosintetizzati da alcuni batteri presenti nell'intestino dei pesci^[27]

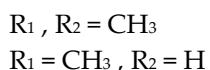
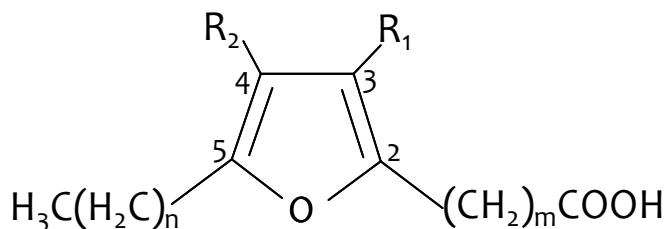
Perciò possiamo dire che gli FFA sono largamente rappresentati in tutta la materia vivente.^[35]

4.5.2 Struttura e nomenclatura degli FFA

La molecola degli FFA è caratterizzata da un anello furanico che porta in una delle due posizioni α un acido grasso saturo, non ramificato, con 9, 11, o 13 atomi di carbonio e nell'altra una corta catena lineare alchilica con 3 o 5 atomi di carbonio.

Una (quella adiacente alla catena alchilcarbossilica) o entrambe le posizioni β dell'anello furanico sono sostituite da un gruppo metilico. (Figura 12) [35]

Fig. 12 Struttura degli Acidi Grassi Furanici Saturi



$n = 2$: FFA propile
 $n = 4$: FFA pentile

La loro struttura è simile a quella delle prostaglandine [30]

Per la nomenclatura sono utilizzati due differenti sistemi di abbreviazione. Glass *et al.* [36] nominano gli FFA con la sigla F1, F2, ... in base alla sequenza di eluizione in gaschromatografia. Rahn *et al.* [37] denominano gli FFA con le sigle F ($m+1, n+1$), MeF ($m+1, n+1$) o DiMeF ($m+1, n+1$). F indica l'anello furanico, i prefissi Me o DiMe indicano la mono o dimetile sostituzione in posizione 3 o in posizione 3 e 4 rispettivamente. Gli affissi ($m+1, n+1$) indicano le due catene, la catena alchilcarbossilica in posizione 2 e la catena alchilica in posizione 5.

Nella presente tesi verrà utilizzata la nomenclatura applicata da Rahn *et al.* (a volte per semplicità abbreviata senza la F finale).

In natura, il DiMeF è l'acido grasso furanico predominante, mentre il monometile (MeF) è, generalmente, presente in concentrazioni significativamente più basse.

La tabella 20 mostra un elenco dei principali FFA identificati secondo i diversi sistemi di nomenclatura.

Il più comune FFA ritrovato in natura è il DiMeF (11,5) un FFA con gruppi metilici in entrambe le posizioni β , un residuo pentilico in una posizione α , e un residuo $-(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ nell'altra.

Tab. 20 – Nomenclatura degli acidi grassi furanici

Nomenclatura sistematica	Glass <i>et al.</i> (1975)	Rahn <i>et al.</i> (1981)	R ₁	R ₂	m	n
Acido 10,13-epossi-11,12-dimetilesadeca-10,12-dienoico	F ₁	diMeF (9,3)	CH ₃	CH ₃	8	2
Acido 10,13-epossi-11-metilocta-deca-10,12-dienoico	F ₂	MeF (9,5)	CH ₃	H	8	4
Acido 10,13-epossi-11,12-dimetil-octadeca-10,12-dienoico	F ₃	diMeF (9,5)	CH ₃	CH ₃	8	4
Acido 12,15-epossi-13,14-dimetil-octadeca-12,14-dienoico	F ₄	diMeF (11,3)	CH ₃	CH ₃	10	2
Acido 12,15-epossi-13-metil-eicosa-12,14-dienoico	F ₅	MeF (11,5)	CH ₃	H	10	4
Acido 12,15-epossi-13,14-dimetil-eicosa-12,14-dienoico	F ₆	diMeF (11,5)	CH ₃	CH ₃	10	4
Acido 14,17-epossi-15-metil-docosa-14,16-dienoico	F ₇	MeF (13,5)	CH ₃	H	12	4
Acido 14,17-epossi-15,16-dimetil-docosa-14,16-dienoico	F ₈	diMeF (13,5)	CH ₃	CH ₃	12	4

4.5.3 Il ruolo biologico degli FFA

Il ruolo biologico degli FFA non è ancora univocamente chiaro, ma diversi studi hanno dimostrato la loro azione antiossidante, poiché prevengono ad esempio l'ossidazione dell'acido linoleico, e fungono da antiossidanti nelle piante. [38] [39]

La correlazione tra il consumo di pesce ricco in FFA e la protezione contro la mortalità per patologie coronariche è stata dimostrata. [35]

Inoltre gli FFA hanno dimostrato di avere effetti inibitori sull'aggregazione piastrinica del sangue^[40] sull'attività dell'ureasi batterica ^[41] ed hanno una potenziale attività antitumorale [42]

Una dieta ricca di alimenti di origine marina o di olio di pesce è protettiva nei confronti delle malattie cardiovascolari. Abbassa la quantità di trigliceridi nelle lipoproteine a bassa densità (LDL) e riduce il rischio di morte improvvisa da infarto nei pazienti.

Dal momento che il pesce è ricco in PUFA ω3, le proprietà protettive del consumo di pesce sono state ascritte a questi. Queste deduzioni non considerano la possibilità che componenti naturali minori possano avere molto più grandi effetti fisiologici dei maggiori costituenti e che i PUFA ω3, come tutti i PUFA, facilmente subiscono la perossidazione lipidica, mentre gli SFA e i MUFA non ne rimangono coinvolti.

Perciò una dieta a base di pesce dovrebbe produrre un incremento negli effetti aterogenici, non un decremento, come invece osservato. Infatti alcune ricerche riferiscono un incremento nella ossidabilità delle LDL dopo il consumo di olio di pesce.

L'ipotesi è che i benefici effetti dei cibi ricchi in PUFA ω3, in particolare EPA e DHA, che sono incorporati nei fosfolipidi in quantità maggiori rispetto all'AA, sono dovuti alla diminuzione della produzione di trombossano (TX) A₂, che causa l'aggregazione delle

piastrine e incrementa l'attività delle prostacicline, così riducendo il rischio di aterogenesi.^[43]

L'ipotesi che, alterando il rapporto AA/EPA/DHA attraverso il consumo di una dieta a base di pesce si riduce la quantità di AA, e perciò la produzione di TX, non considera che la produzione di TX è un processo enzimatico e perciò fisiologico.

Invece le reazioni che devastano le cellule nelle malattie cardiovascolari sembrano essere indotte da radicali.

Un decremento dei radicali può essere ottenuto solo attraverso "radical scavengers".

Perciò sembra ragionevole assumere che la presenza di altri componenti in una dieta ricca di pesce o olio di pesce, o altri fattori non considerati prima, possano essere responsabili della osservata riduzione della ossidazione delle LDL.^[44]

Questa considerazione è ulteriormente convalidata dalla osservazione che la quantità di acidi propilurofuranici aumenta di 3-6 volte dopo il consumo di una dieta a base di pesce.^[45]

Poiché gli acidi urofuranici sono prodotti di degradazione degli FFA, questo indica che gli oli di pesce sono abbondanti risorse di FFA.

Sebbene gli FFA sono presenti nei pesci solo in quantità di circa l'1%, essi potrebbero ridurre l'ossidazione delle LDL in misura rilevante perché fungono da "radical scavengers" e inibiscono la progressione delle reazioni di perossidazione non enzimatica. E poiché i radicali inducono una reazione a catena, la quantità di FFA può essere sufficiente a sopprimere l'ossidazione delle LDL.

Gli FFA sono principalmente incorporati nei fosfolipidi del plasma sanguigno che è in intimo contatto con la superficie delle cellule dell'endotelio dove avviene l'ossidazione delle LDL.

Così le molecole "scavengers"(gli FFA) sono incorporate esattamente nei siti dove essi possono prevenire l'ossidazione lipidica più efficacemente. Conseguentemente, gli FFA possono contribuire alle proprietà protettive di una dieta a base di pesce o olio di pesce.

L'ipotesi che gli FFA siano effettivamente antiossidanti è ulteriormente convalidata dalla osservazione che i fosfolipidi delle uova di salmone marino resistono alla perossidazione lipidica indotta da ioni di rame molto meglio dei fosfolipidi delle uova di pollo.^[46]

Inoltre può essere assunto che gli FFA polari siano più facilmente in contatto con gli idroperossidi polari che con i meno polari esteri degli acidi grassi.^[35]

II - PARTE Sperimentale

5. MATERIALI E METODI

5.1 PROTOCOLLO Sperimentale

Il presente lavoro si è sviluppato all'interno di un più ampio progetto di caratterizzazione della frazione lipidica delle varie specie ittiche pervenute alle mense delle OnLus aderenti al programma Last Minute Fish.

In particolare l' obiettivo del lavoro è stato quello di definire le caratteristiche della frazione lipidica di tre specie di crostacei anche al fine di confrontare alcune di queste con quelle di altre specie ittiche di mare e d'acqua dolce. Le specie di crostacei oggetto del lavoro sono:

Granchio di sabbia (*Liocarcinus vernalis*) (nel prosieguo del lavoro verrà chiamato anche "Granchio");

Mazzancolla (*Penaeus kerathurus*);

Pannocchia (*Squilla mantis*).

I campioni sono stati prelevati presso una delle associazioni aderenti al programma Last Minute Fish all'arrivo, subito dopo la consegna da parte di una delle ditte all'ingrosso aderenti, o acquistati presso un commerciante di prodotti ittici del porto di Ancona e si riferiscono ad esemplari tutti provenienti dal Mare Adriatico.

I campionamenti sono stati effettuati nel periodo settembre 2009-luglio 2010 per i granchi; settembre 2009-febbraio 2010 per le mazzancolle; aprile 2008-luglio 2010 per le pannocchie con una concentrazione ed una maggiore frequenza per tutte e tre le specie nel periodo settembre 2009-febbraio 2010, per un totale di 8 campionamenti .

Per quanto che riguarda *Squilla mantis*, gli esemplari appartenenti ai 4 campioni prelevati nel periodo novembre 2009-febbraio 2010, che corrisponde alla parte centrale del periodo riproduttivo della specie, sono stati suddivisi in base al sesso, in modo da verificare eventuali differenze significative nella componente lipidica dovute al sesso e/o al periodo riproduttivo.

I campioni hanno riguardato soggetti vivi o comunque in ottimo stato di conservazione, in quanto la morte era avvenuta da pochissimo tempo; sono stati trasportati immediatamente in laboratorio ed è subito stata prelevata la parte edibile di n. 5/7 soggetti (5 nel caso delle mazzancolle e delle pannocchie e 7 nel caso dei granchi).

Il materiale prelevato è stato immediatamente sottoposto ad estrazione della frazione lipidica o, in alternativa, messo in congelatore a temperatura di -21°C e sottoposto alle indagini analitiche entro un periodo di una settimana.

Il prelievo, l'estrazione del grasso e le determinazioni analitiche effettuate precedentemente su campioni di altre specie ittiche, sia di mare, che d'acqua dolce, prelevati presso una delle associazioni aderenti al programma LMF, ha consentito anche un confronto tra le principali caratteristiche della frazione lipidica delle varie specie e categorie (pesci di mare, pesci d'acqua dolce e crostacei).

Tab. 21. – Schema dei campionamenti delle tre specie di crostacei

Mesi di campionam.	→Aprile 2008	Settembre 2009	Ottobre 2009	Novembre 2009	Dicembre 2009	Gennaio 2010	Febbraio 2010	Luglio 2010
Specie ↓								
Granchio	n.r.	x	x	x	n.r.	x	x	x
Mazzancolla	n.r.	x	x	x	x	x	n.r.	n.r.
Pannocchia	x	x	n.r.	x	x	x	x	x

n.r.= non reperito

Tab. 22. – Suddivisione dei campionamenti di Pannocchie (*Squilla mantis*) per sesso

Campioni Anni 2009/2010	Novembre 2009	Dicembre 2009	Gennaio 2010	Febbraio 2010
Pannocchia ♂	x	x	x	x
Pannocchia ♀	x	x	x	x

5.2 ESTRAZIONE DEL GRASSO

Per ogni campione, l'estrazione del grasso è stata effettuata seguendo il metodo descritto da Bligh e Dyer (*Bligh and Dyer, 1959*).

Il metodo prevede l'omogenizzazione (mediante Ultra-Turrax IKA-Werke) di 20 grammi di campione previo scongelamento dello stesso, con cloroformio/metanolo (1:2 V/V), l'addizione di una soluzione benzenica di metile nonadecanoato (standard interno) nell'ordine dell'1% del grasso del campione in esame, e la filtrazione sottovuoto. Successivamente, al liquido di filtrazione viene aggiunta una soluzione acquosa di KCl all'0,88% e, dopo aver lasciato separare le due fasi (fase cloroformica e fase acquosa), viene recuperata la fase cloroformica. Dopo aver fatto evaporare il solvente, l'estratto lipidico ottenuto viene risospeso con una soluzione di cloroformio/metanolo (2:1 V/V).

5.3 TRANSMETILAZIONE BASICO-CATALIZZATA DEL GRASSO

Gli esteri metilici degli acidi grassi sono stati ottenuti mediante trasmetilazione basico-catalizzata del grasso (*Suter et al., 1997 a,b*) precedentemente estratto.

La metodica prevede che in una sovirel vengano posti 20 mg di grasso e 1 ml di diossano. Successivamente, viene aggiunto 1 ml di sodio metossido e la provetta viene agitata manualmente. Si lascia riposare per circa 60-90 secondi e vengono aggiunti 5 ml di eptano e 2 ml di una soluzione di disodio idrogeno citrato. Dopo aver lasciato separare le due fasi, vengono prelevati gli esteri metilici (fase superiore) e viene fatto evaporare il solvente. Gli esteri metilici ottenuti vengono risospesi in esano e analizzati per via gascromatografica.

5.4 ANALISI QUALITATIVA DEGLI ACIDI GRASSI

E' stata effettuata sugli esteri metilici con l'ausilio di un gascromatografo (Focus - Thermo Electron Corporation, West Palm Beach, FL) equipaggiato con una colonna capillare CP-Sil 88 (100 m x 0.25 i.d, spessore fase stazionaria 0.25 µm, Chrompack, Middelburg, NL), la stessa colonna utilizzata per l'analisi quantitativa tramite GC-FID, accoppiato ad uno spettrometro di massa (Focus DSQ) a ionizzazione per impatto elettronico (Electron Impact, EI). I campioni sono stati iniettati con sistema split/splitless (rapporto di splittaggio 12:1); Il flusso del gas di trasporto è stato impostato a 1.6 ml min⁻¹ e la temperatura dell'iniettore e quella della sorgente ionica a 250°C. La programmata di temperatura del forno partiva da 55°C, dove rimaneva per 3 min, per risalire a 190 °C alla velocità di 4°C min⁻¹ e quindi a 240°C alla velocità di 2°C min⁻¹. A 240°C rimaneva stazionaria per 30 min. Gli spettri di massa sono stati acquisiti utilizzando il software *Xcalibur Data System, Ver. 1.4*. L'identificazione dei composti è avvenuta per confronto degli spettri ottenuti con quelli riportati in letteratura e nella libreria NIST *Mass Spectral Database*.

5.5 ANALISI QUANTITATIVA DEGLI ACIDI GRASSI

Gli esteri metilici degli acidi grassi sono stati analizzati mediante gascromatografia capillare utilizzando il gascromatografo Varian 430-GC Gas Chromatograph (Walnut Creek, CA, USA) equipaggiato con rilevatore a ionizzazione di fiamma (*Flame ionization detector - FID*) e colonna capillare CP-Sil 88 (100m x 0.25 mm di diametro interno, spessore fase stazionaria 0.2 µm, Chrompack). I campioni sono stati iniettati con sistema split/splitless (rapporto di splittaggio 20:1); il flusso del gas di trasporto (He) è stato impostato a 1.6 mL min⁻¹. La temperatura del forno partiva da 55°C, dove rimaneva per 3 min, per arrivare a 190°C alla velocità di 4°C min⁻¹; da qui saliva a 240°C alla velocità di 2°C min⁻¹ e rimaneva in isoterma per 19 min. L'identificazione dei picchi è stata fatta per confronto con i tempi di ritenzione di standard puri, forniti dalla Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo) e gli acidi grassi sono stati quantificati sulla base dello standard interno.

5.6 CARATTERIZZAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI FURANICI NELLE CLASSI FOSFOLIPIDICHE

La caratterizzazione delle specie molecolari fosfolipidiche è stata effettuata mediante SPE con minicartucce amino propiliche da 500 mg. I lipidi neutri sono stati eluiti per mezzo di 5 ml di cloroformio e le varie frazioni fosfolipidiche fosfatidicolina, fosfatidiletanolammina, fosfatidilsersina e fosfatidilinositolo sono state sequenzialmente eluite con 10 ml di acetonitrile:n-propanolo (2:1 v/v), 8 ml di metanolo, 8 ml di isopropanolo: HCl metanlico 3N (4:1) e 10 ml di metanolo:HCl metanlico 3N (9:1), rispettivamente. Ogni frazione fosfolipidica è stata sottoposta ad analisi HPLC-MS (*High Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry*).

Per la determinazione quantitativa è stato utilizzato un sistema HPLC accoppiato on – line ad un ELSD (*Evaporative Light Scattering Detector*). Sono stati inoltre ricavati da tali frazioni gli esteri metilici mediante transmetilazione basico-catalizzata, secondo il metodo sopra citato. Gli esteri metilici sono poi stati identificati mediante GC-MS.

Tra le varie metodiche testate, le condizioni cromatografiche che hanno fornito i risultati migliori sono le seguenti:

Colonna HPLC: 150 mm di lunghezza x 4.6 mm di diametro interno, impaccata con Hypersil Si (3 µm particle size)

Fase mobile A = CHCl₃/MeOH/NH₃ (70:25:1, v/v)

Fase mobile B = CHCl₃/MeOH/H₂O/NH₃ (60:40:5.5:0.5, v/v)

Gradiente di eluizione: l'eluizione inizia con il 100 % della fase mobile A; in 10 minuti arriva al 100% di B, dove rimane per 15 min; nei successivi 5 min torna al 100 % di A
Rivelatore ELSD: temperatura di vaporizzazione 65 °C; flusso d'aria 8.2 l/ora
Le specie fosfolipidiche sono state identificate per confronto con soluzioni standard e con specie fosfolipidiche provenienti da varie matrici alimentari.

5.7 ANALISI STATISTICA

I dati ottenuti sono stati trattati statisticamente. E' stata condotta l'analisi della varianza ad una via (ANOVA) e il test di Tukey-Kramer utilizzando il software GraphPad InStat ver.3.0 system (GraphPad Software, San Diego, Ca, USA). Inoltre è stata svolta l'Analisi delle Componenti Principali (PCA) utilizzando il programma *The Unscrambler* (CAMO, Corvallis, USA) che permette di riassumere i risultati, ottenuti sulla base di numerose variabili, in poche dimensioni, conservando il più possibile l'informazione presente nei dati originali. La PCA risulta un mezzo molto efficace per l'espressione concisa di dati sperimentali. Infatti, le variabili misurate nella sperimentazione (acidi grassi) possono essere correlate in diverso modo e possono contenere notevoli quote di ridondanza nell'informazione. L'utilizzo della PCA consente di ridurre il numero delle variabili ricorrendo ad un nuovo gruppo di variabili, combinazione lineare di quelle originali, da utilizzare per la descrizione del campione, dette *componenti principali*. La trasformazione delle variabili è operata in modo tale che le funzioni lineari siano tra loro non correlate (indipendenti se le variabili originali sono normalmente distribuite) e quindi consentano di utilizzare solo quelle che presentano una varianza maggiore che, dunque, rappresentano una maggiore porzione della variabilità complessiva del campione. Le funzioni lineari non correlate, dette *componenti principali*, si prestano anche ad un'interpretazione geometrica, poiché l'asse corrispondente alla prima componente è quella linea che ha la minore somma delle proiezioni al quadrato di tutte le osservazioni originali su di essa, mentre il secondo asse, perpendicolare al primo, minimizza la somma delle proiezioni rimanenti.

Dall'elaborazione dei dati la PCA restituisce due diagrammi:

- 1) Lo *score plot* dove viene rappresentata la distribuzione dei campioni e i raggruppamenti fra campioni simili.
- 2) Il *loading plot* (*X-loading*) dove viene evidenziata la distribuzione delle variabili, rappresentate come vettori, che hanno, come origine, l'origine di uno spazio cartesiano che ha le dimensioni delle componenti principali.^[47]

6. RISULTATI

6.1 CARATTERIZZAZIONE DELLA FRAZIONE LIPIDICA DEI CROSTACEI

La quantità di grasso estratta dalla parte edibile di tutte e tre le specie di crostacei ed espressa in % sul t.q. risulta essere mediamente inferiore all'1%, tranne che nella pannocchia (1,05%) come è possibile vedere nella Tabella 23.

Nel caso di questa ultima specie, inoltre, il valore medio e la deviazione standard (DS) sono stati calcolati previa esclusione dei due valori (minimo e massimo) che sono stati trovati rispettivamente sui campioni di pannocchie maschi e femmine entrambi del mese di gennaio, in quanto ritenuti fuori scala.

Tab. 23 – Nome comune, nome della specie e contenuto lipidico (% ±DS) della parte edibile delle specie di crostacei studiati.

Nome comune	Nome della specie	% di grasso	n*
Granchio (Vernal crab)	<i>Liocarcinus vernalis</i>	0.58±0.1	6
Mazzancolla (Karamote shrimp)	<i>Penaeus kerathurus</i>	0.67±0.1	5
Pannocchia (Mantis shrimp)	<i>Squilla mantis</i>	1.05±0.5	11

*n= numero di ripetizioni

Il confronto tra sessi nella specie *Squilla mantis* ha confermato quanto si verifica in molte specie animali, in particolare nel periodo riproduttivo: la presenza di una percentuale maggiore di grasso nelle femmine della specie rispetto ai maschi (Tabella 24), ciò che giustifica anche il valore relativamente elevato di deviazione standard registrato sulla media di tutti i campioni (1.05%±0.5).

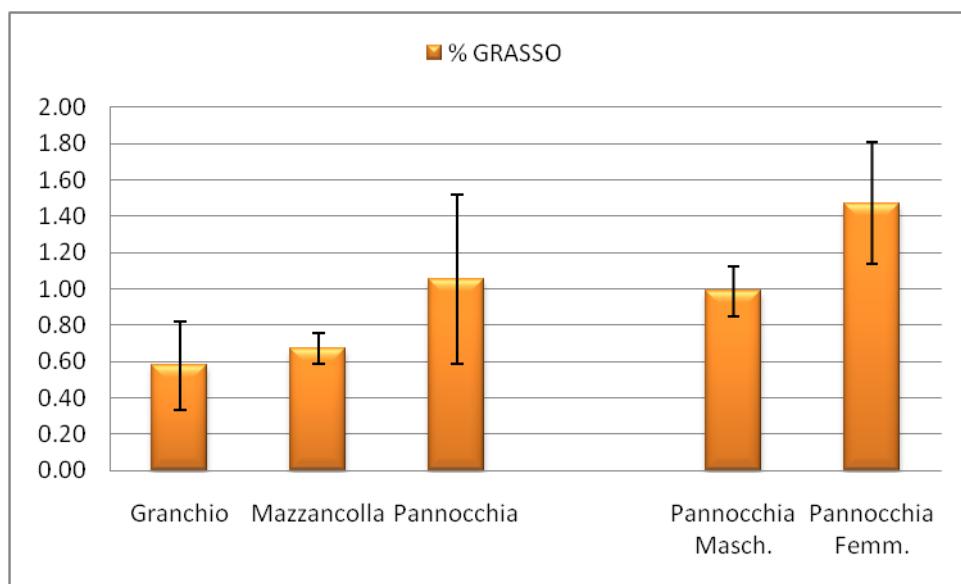
Tab. 24 – Nome comune, nome della specie e contenuto lipidico (%±DS) della parte edibile nei due sessi della specie *Squilla mantis*.

Nome comune	Nome della specie	Sesso	% di grasso	n*
Pannocchia (Mantis shrimp)	<i>Squilla mantis</i>	M	0.99±0.1	4
Pannocchia (Mantis shrimp)	<i>Squilla mantis</i>	F	1.47±0.3	4

*n= numero di ripetizioni

La Figura 13 mostra graficamente i risultati trovati.

Fig. 13 Contenuto lipidico (%) della parte edibile delle specie di crostacei studiati e dei due sessi della specie *Squilla mantis*

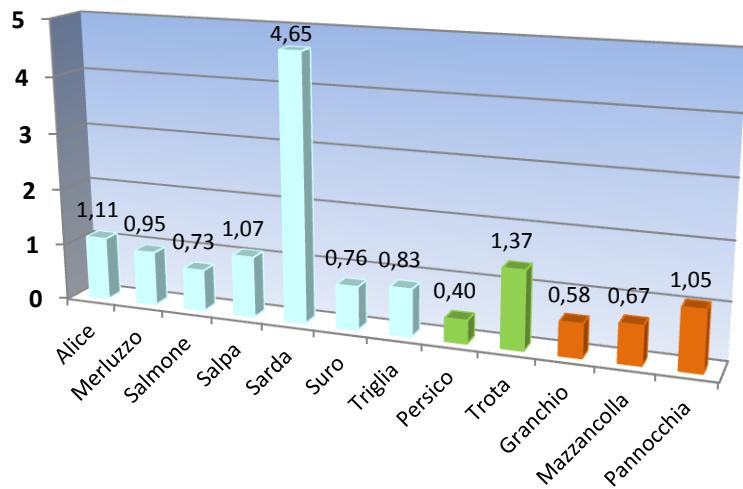


I valori riscontrati nei crostacei studiati sono stati confrontati con quelli di altre specie ittiche analizzate.

Il grafico della Figura 14 mostra i valori percentuali di grasso riscontrati in sette specie di pesci di mare pescati, ad eccezione del salmone, nel mare Adriatico; due specie di pesci d'acqua dolce, di cui uno da allevamento (trota), e tre specie di crostacei, provenienti dal mare Adriatico.

I valori dei pesci di mare sono inferiori all'1% ad eccezione di due specie di pesce azzurro, l'alice (1.11%) e la sarda (4.65%). Quest'ultima in particolare presenta i valori di grasso più alti in assoluto tra tutte le specie analizzate, valori che comunque variano molto durante l'anno in funzione della fase del periodo riproduttivo. Tra le due specie di pesci d'acqua dolce, la trota, (unica specie proveniente da acquacoltura) presenta il secondo valore più elevato (1.37%); le tre specie di crostacei hanno quindi valori confrontabili con quelli della maggior parte dei pesci sia marini che d'acqua dolce, e, nel caso dei granchi e delle mazzancolle, tra i più bassi riscontrati: valori inferiori sono stati trovati solo nel pesce persico.

Figura 14 Contenuto in grasso (%) della parte edibile di alcun specie di pesci di mare, pesci d'acqua dolce e di crostacei



La composizione in acidi grassi della parte edibile delle tre specie di crostacei in esame, espressa come percentuale sul totale della frazione acidica totale, è riportata nella Tabella 25.

Sono stati identificati in totale trenta acidi grassi dei quali quattro sono costituiti da congeneri furanici.

La distribuzione % delle diverse classi degli acidi grassi è riportata in Figura 15.

In tutte e tre le specie la classe dei PUFA $\omega 3$ è la più rappresentata in termini di percentuale sulla frazione acidica totale, variando dal $30.1\% \pm 3.6$ della pannocchia al $42.6\% \pm 3.2$ del granchio. Le differenze tra le specie sono risultate estremamente significative ($p < 0,0001$).

All'interno di questa frazione il contenuto acidico percentuale più elevato è dato dall'EPA (C20:5 $\omega 3$) nel granchio e nella mazzancolla (rispettivamente $24.3\% \pm 2.2$ e $14.6\% \pm 0.6$) e dal DHA (C22:6 $\omega 3$) nella pannocchia ($14.7\% \pm 2.3$).

Le differenze tra le specie sono risultate estremamente significative per l'EPA ($p < 0.0001$) e non significative per il DHA ($p > 0.05$).

Il granchio ha i contenuti sia di EPA che di DHA più elevati (rispettivamente $24.3\% \pm 2.2$ e $16.4\% \pm 1.5$)

Il contenuto percentuale di DPA è più basso, con differenze estremamente significative tra le specie ($p < 0.0001$).

La classe dei PUFA $\omega 6$ è presente con contenuti percentuali variabili tra l' $8.7\% \pm 1.2$ delle pannocchie e il $10.7\% \pm 0.3$ delle mazzancolle con differenze risultate molto significative ($p < 0.01$).

All'interno della classe l'acido grasso con contenuti più elevati è l'acido arachidonico (C20:4 $\omega 6$) che varia tra il $5.3\% \pm 1.3$ delle pannocchie e il $7.3\% \pm 0.8$ dei granchi.

La frazione di acidi grassi con contenuti percentuali più elevati dopo i PUFA $\omega 3$, è quella dei SFA che varia dal $24.7\% \pm 2.4$ nei granchi al $29.8\% \pm 2.1$ nelle pannocchie, con differenze

estremamente significative ($p<0.001$). Essa è prevalentemente costituita da **acido palmitico (C16:0)** e, a seguire, dall'**acido stearico (C18:0)**.

La frazione dei **MUFA** varia tra il $21.4\%\pm2.0$ nei granchi e il $28.2\%\pm2.3$ nelle pannocchie con differenze estremamente significative ($p<0.0001$).

L'acido grasso più presente è l'**oleico (C18:1 $\omega 9$)** che è contenuto in misura più elevata nei granchi ($11.4\%\pm1.9$) seguiti dalle pannocchie ($10.7\%\pm1.1$).

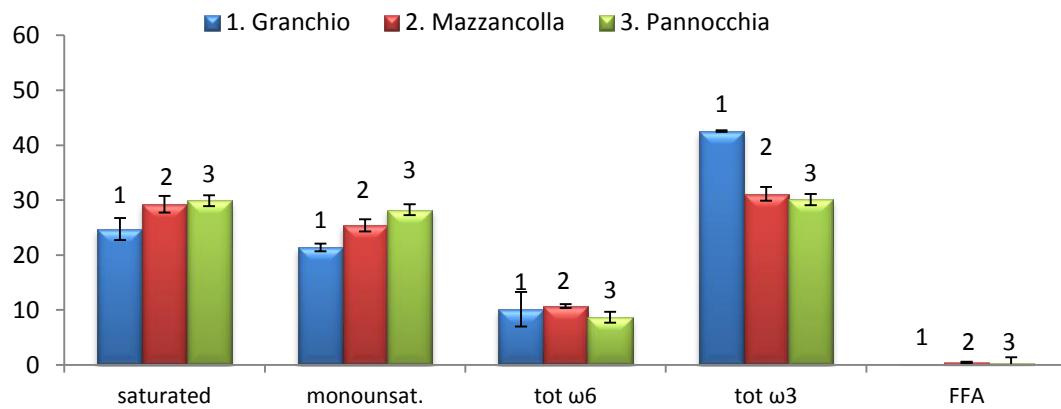
Tali valori, come verrà in seguito meglio evidenziato, sono tra i più elevati tra quelli riscontrati nelle varie specie ittiche studiate.

Tab. 25 Composizione della parte edibile delle tre specie di crostacei in esame (% di acidi grassi sulla frazione acidica totale)

Acidi Grassi %	granchio	mazzancolla	pannocchia
14:0	0.7±0.2 ^a	1.0±0.2 ^a	2.9±0.8 ^b
Iso 15:0	0.2±0.1	0.2±0.0	0.2±0.2
15:0	0.6±0.1 ^a	1.4±0.1 ^b	0.9±0.2 ^c
Iso 16:0	0.2±0.0 ^a	0.4±0.1 ^b	0.4±0.2
16:0	16.0±1.4	14.3±0.9 ^a	16.5±1.5 ^b
17:0	0.7±0.3 ^a	1.1±0.3 ^b	0.9±0.6 ^a
Iso 17:0	1.7±0.3	2.7±0.1	1.4±0.3
18:0	4.6±0.5 ^a	8.2±0.8 ^b	6.7±1.1 ^c
Totale SFA	24.7±2.4^a	29.3±1.5^b	29.8±2.1^c
 Iso 16:1	0.7±0.2	0.6±0.2	0.8±0.3
16:1 Δ9	3.3±0.4 ^a	5.7±0.3 ^a	9.1±2.2 ^b
17:1	1.6±0.2	2.3±0.5 ^a	1.3±0.8 ^b
18:1 Δ9trans	0.3±0.1	0.6±0.2	0.4±0.2
18:1 Δ9cis	11.4±1.9	10.0±0.6	10.7±1.1
18:1 Δ11	3.3±0.2 ^a	3.5±0.3	3.9±0.5 ^b
20:1	0.4±0.0 ^a	2.1±0.6 ^b	1.3±0.6
24:1	0.4±0.1 ^a	0.7±0.1 ^b	0.8±0.1 ^b
Totale MUFA	21.4±2.0^a	25.4±1.1^b	28.2±2.3^c
 18:2 Δ9,12ω6	1.5±0.6	1.4±0.1	1.3±0.4
18:3 Δ6,9,12ω6	0.1±0.1	0.3±0.2	0.3±0.1
18:3 Δ9,12,15ω3	0.4±0.0	0.6±0.1	0.6±0.2
18:4 Δ6,9,12,15ω3	0.4±0.1 ^a	0.1±0.0 ^b	0.7±0.3 ^a
20:2 Δ11,14ω6	0.9±0.1 ^a	0.8±0.1	0.6±0.2 ^b
20:4 Δ5,8,11,14ω6	7.3±0.8 ^a	7.0±0.3 ^a	5.3±1.3 ^b
20:5 Δ5,8,11,14,17ω3	24.3±2.2 ^a	14.6±0.6 ^b	12.2±1.8 ^b
22:4 Δ7,10,13,16ω6	0.4±0.1 ^a	1.3±0.1 ^b	1.1±0.2 ^b
22:5 Δ7,10,13,16,19ω3	1.0±0.3 ^a	1.5±0.1 ^b	1.9±0.3 ^b
22:6Δ4,7,10,13,16,19ω3	16.4±1.5	14.4±1.2	14.7±2.3
Totale PUFA	52.7±3.6^a	41.9±1.5^b	38.8±3.9^b
PUFA ω6	10.2±0.7	10.7±0.3^a	8.7±1.2^b
PUFA ω3	42.6±3.2^a	31.2±1.2^b	30.1±3.6^b
MeF 9,5	0.0±0.0	0.1±0.1	0.1±0.1
diMeF 9,5	0.0±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1
diMeF 11,3	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1
diMeF 11,5	0.0±0.0	0.1±0.1	0.1±0.1
Totale FFA	0.2±0.1	0.5±0.1	0.4±0.3

SFA, Acidi Grassi Saturi; MUFA, Acidi Grassi Monoinsaturi; PUFA, Acidi Grassi Polinsaturi; FFA, Acidi Grassi Furanici. I risultati sono rappresentati come la media±DS (n=5/11); le lettere in apice a,b,c indicano le differenze significative (p<0.05), in accordo con la MSD (minimum significant differences) tra le diverse specie di crostacei.

Fig. 15 – Distribuzione % delle diverse classi di acidi grassi nelle tre specie di crostacei analizzate.



Con l'obiettivo di fornire una visione completa della variazione della composizione in acidi grassi della polpa in funzione della specie, è stata svolta l'Analisi delle Componenti Principali (*Principal Component Analysis - PCA*). L'elaborazione statistica dei risultati mediante PCA è stata eseguita su una matrice di 22 campioni utilizzando come variabili i 30 acidi grassi indicati nella Tabella 25. Il loading plot e lo score plot della PCA sono riportati in **Figura 16**: le prime due componenti principali spiegano l'83 % della varianza del sistema (il 72% è spiegato da PC1 e l'11% da PC2). Lo score plot evidenzia che i campioni si possono raggruppare in tre zone distinte del grafico: nel quadrante in alto a sinistra si localizza il 64% di tutti i campioni di pannocchia (individuati dalla lettera iniziale **m**- **Mantis shrimp**); tra questi la totalità dei campioni di sesso femminile (individuati dalla lettera finale **f**). Gli altri campioni si situano (ad eccezione di uno) nel quadrante inferiore sinistro ma in una zona molto vicina all'asse.

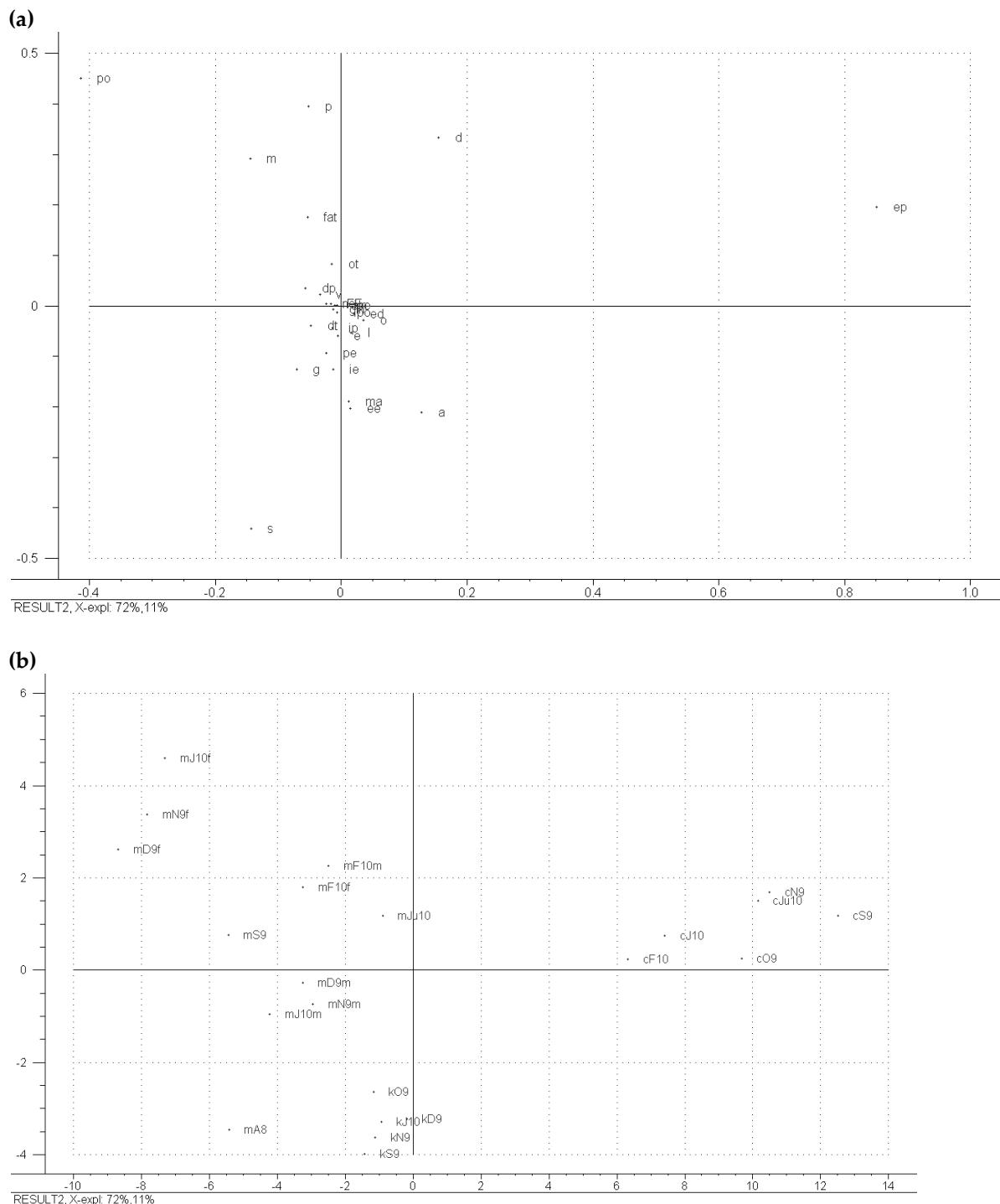
Nel quadrante in alto a destra si raggruppano tutti i campioni di granchio (individuati dalla lettera iniziale **c-crab**).

I restanti campioni si localizzano nel quadrante inferiore sinistro: lungo la PC2 tutti i campioni di mazzancolla (individuati dalla lettera iniziale **k**- **Karamote shrimp**) e lungo la PC1 il 75% dei campioni di sesso maschile della pannocchia (individuati con la lettera finale **m**).

Il loading plot delle variabili mostra che gli acidi DHA (**d**), EPA (**ep**) arachidonico (**a**), stearico (**s**) e palmitoleico (**po**) mostrano la più alta variabilità, in quanto sono molto lontani dall'origine. I più importanti tra questi, ai fini della caratterizzazione della varianza tra le specie, sono lo stearico (**s**) l'EPA (**ep**) e il palmitoleico (**po**). La pannocchia risulta la più ricca in grasso (**fat**), e palmitoleico (**po**) e la più povera in arachidonico (**a**) e EPA. Diversamente, il profilo acidico del granchio è caratterizzato dai più alti contenuti di EPA (**ep**) e DHA (**d**) e i più bassi di stearico (**s**) e palmitoleico (**po**) ed in genere di SFA e di MUFA. Il profilo acidico della mazzancolla si caratterizza invece per i più elevati contenuti di alcuni SFA come stearico (**s**), margarico (**ma**) e i suoi isomeri (**ie**) e di un MUFA, l'eptadecenoico (**ee**).

Inoltre esiste una correlazione negativa significativa tra **s** e **DHA** ($r=-0,585$) e tra **a** e **po** ($r=-0,643$) come si può osservare meglio nei grafici della Figura 17, che mostrano il risultato dell'elaborazione statistica mediante PCA eseguita sugli stessi campioni, ma utilizzando le variabili normalizzate per la deviazione standard (DS). In sintesi possiamo dire inoltre che per la varianza complessiva del sistema è molto più importante la specie che non il periodo dell'anno in cui è stato prelevato il campione o, nel caso della pannocchia, il sesso.

Fig. 16– Analisi delle Componenti Principali (PCA) della composizione in acidi grassi dei campioni di crostacei. (a) score plot dei campioni; (b) loadings delle variabili.



Legenda (a)- 1° carattere alfab.: identificativo specie (m = pannocchie -Mantis shrimp; k= mazzancolle-Karamote shrimp; c = granchio-Vernal crab);

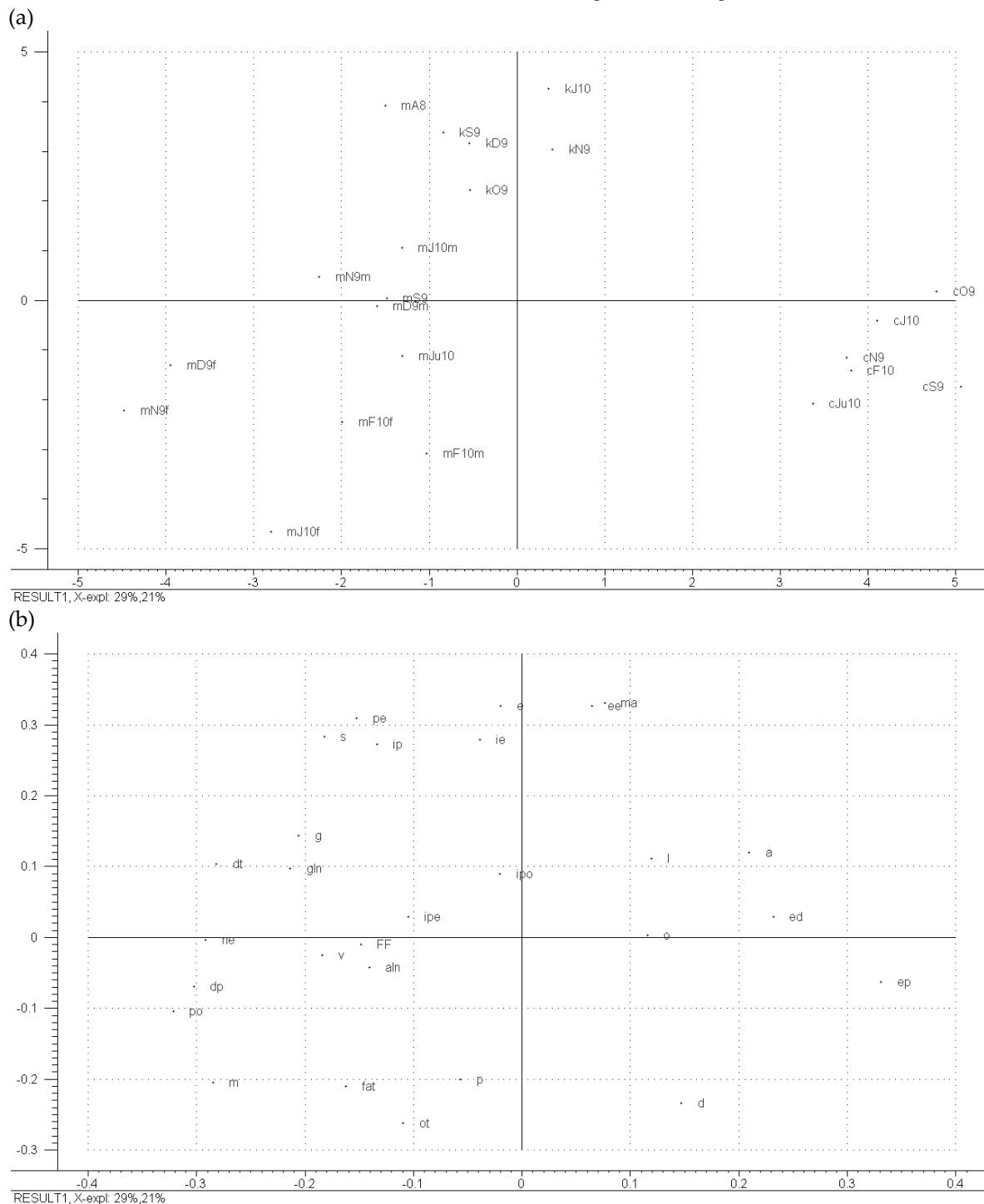
2° + 3°(event.) carattere alfab.: mese di prelievo del campione (J = gennaio; F = febbraio; A = aprile; Ju = luglio; S = settembre; O = ottobre; N = novembre; D = dicembre;

1° + 2°(event.) carattere numer.: anno di prelievo del campione (9 = 2009; 10 = 2010)

ultimo carattere (alfab. – solo pannocchie) identificativo del sesso (m = maschi; f = femmine)

Legenda (b)- (vedi legenda fig. 17)

Fig. 17– Analisi delle Componenti Principali (PCA) mediante variabili normalizzate per la DS della composizione in acidi grassi dei campioni di crostacei. (a) score plot dei campioni; (b) loadings delle variabili. (Per le abbreviazioni delle variabili far riferimento alla legenda della Figura 16).



Legenda (a)- (vedi legenda fig. 16)

Legenda (b)- **m**=C 14:0; **ipe**= iso C 15:0; **pe**=C15:0; **ip**= iso C 16:0; **p**=C 16:0; **ipo**=isoC16:1; **po**=16:1Δ9; **ie**=iso C17:0;

ma=C17:0; **ee**=C17:1; **s**=C18:0; **e**=C18:1Δ9t; **o**=C18:1Δ9c; **v**=C18:1Δ11c; **l**=18:2ω6; **gln**=18:3ω6;

aln=18:3ω3; **g**=C20:1Δ11; **ot**= C18:4ω3; **ed**=C20:2Δ11c14c; **a**=C20:4ω6; **ep**=C20:5ω3; **ne**=24:1; **dt**=C22:4;

dp=C22:5ω3; **d**=C22:6ω3;

fat=grasso; **FF**=ac.gr.furanici.

6.2 CARATTERIZZAZIONE DELLA FRAZIONE LIPIDICA NEI DUE SESSI DELLA SPECIE *SQUILLA MANTIS*

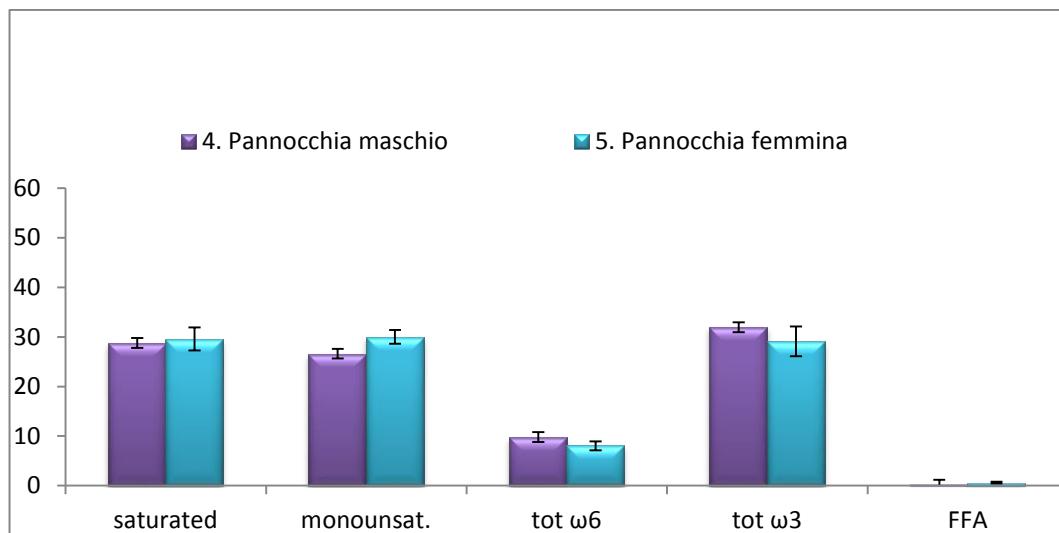
Il confronto tra individui appartenenti ai due sessi della specie *Squilla mantis* effettuato su un numero totale di otto campioni (quattro per sesso) ha dato i risultati che vengono mostrati nella Tabella 26 e rappresentati graficamente nella Figura 18.

Tab. 26 - Composizione della parte edibile nei due sessi della specie *Squilla mantis* : % di acidi grassi sulla frazione acidica totale

	Pann. Maschi		Pann. Femm.			
14:0	2.6	±	0.3	3.6	±	0.9
Iso 15:0	0.2	±	0.0	0.3	±	0.2
15:0	1.0 ^a	±	0.1	0.8 ^b	±	0.1
Iso 16:0	0.3	±	0.1	0.3	±	0.2
16:0	15.7	±	0.3	17.0	±	1.5
17:0	0.9	±	0.3	0.6	±	0.3
Iso 17:0	1.6	±	0.3	1.2	±	0.2
18:0	6.4	±	0.8	5.8	±	0.3
Totale SFA	28.8	±	1.3	29.6	±	2.3
Iso 16:1	0.9	±	0.2	0.6	±	0.1
16:1 Δ9	7.3 ^a	±	0.5	11.5 ^b	±	1.2
17:1	1.4	±	0.9	0.8	±	0.8
18:1 Δ9trans	0.3	±	0.1	0.3	±	0.2
18:1 Δ9cis	10.5	±	0.7	10.3	±	1.1
18:1 Δ11	3.9	±	0.3	3.9	±	0.2
20:1	1.4	±	0.3	1.7	±	0.3
24:1	0.9	±	0.1	0.8	±	0.1
Totale MUFA	26.6	±	2.6	30.0	±	1.4
18:2 Δ9,12ω6	1.3 ^a	±	0.2	1.0 ^b	±	0.1
18:3 Δ6,9,12ω6	0.3	±	0.2	0.3	±	0.1
18:3 Δ9,12,15ω3	0.7	±	0.2	0.6	±	0.1
18:4 Δ6,9,12,15ω3	0.6	±	0.5	0.7	±	0.1
20:2 Δ11,14ω6	0.7	±	0.2	0.5	±	0.3
20:4 Δ5,8,11,14ω6	6.2	±	1.0	5.1	±	0.8
20:5 Δ5,8,11,14,17ω3	12.6	±	0.4	11.2	±	1.8
22:4 Δ7,10,13,16ω6	1.2	±	0.1	1.2	±	0.1
22:5 Δ7,10,13,16,19ω3	2.0	±	0.2	2.0	±	0.3
22:6 Δ4,7,10,13,16,19ω3	16.1	±	2.5	14.6	±	1.7
Totale PUFA	41.7	±	2.6	37.2	±	3.8
PUFA ω6	9.8^a	±	0.9	8.0^b	±	0.9
PUFA ω3	32.0	±	3.1	29.1	±	3.0
MeF 9,5	0.1	±	0.1	0.1	±	0.0
diMeF 9,5	0.0	±	0.1	0.1	±	0.1
diMeF 11,3	0.0	±	0.1	0.1	±	0.1
diMeF 11,5	0.0	±	0.1	0.2	±	0.1
Totale FFA	0.2^a	±	0.2	0.6^b	±	0.2

SFA, Acidi Grassi Saturi; MUFA, Acidi Grassi Monoinsaturi; PUFA, Acidi Grassi Polinsaturi; FFA, Acidi Grassi Furanici. I risultati sono rappresentati in accordo con la MSD (minimum significant differences) tra i due sessi della specie *Squilla mantis*.

Fig. 18. – Distribuzione % delle diverse classi di acidi grassi nei due sessi della specie *Squilla mantis*.



L'analisi dei dati relativi alle varie frazioni di acidi grassi nei maschi e nelle femmine della specie in esame mostra una composizione differente tra i due sessi. Infatti la classe di acidi grassi più rappresentata nei **maschi** è quella dei **PUFA ω3** ($32.0\% \pm 3.1$) seguita dai **SFA** ($28.8\% \pm 1.3$) e dai **MUFA** ($26.6\% \pm 2.6$), mentre nelle **femmine** l'ordine è invertito: il quantitativo percentuale più rilevante è quello dei **MUFA** ($30.0\% \pm 1.4$), seguito dai **SFA** ($29.6\% \pm 2.3$) e dai **PUFA ω3** ($29.1\% \pm 3.0$).

I **PUFA ω6** sono contenuti in percentuali importanti ma inferiori alle altre classi in entrambi i sessi ($9.8\% \pm 0.9$ nei maschi e 8.0 ± 0.9 nelle femmine).

Gli **FFA**, sono presenti in quantità molto basse soprattutto nei maschi nei quali tre di essi, il **diMeF 9,5**, il **diMeF 11,3** e il **diMeF 11,5** sono presenti solo in tracce se non addirittura assenti in alcuni campioni e variano complessivamente tra $0.2\% \pm 0.2$ dei maschi e $0.6\% \pm 0.2$ delle femmine.

Le differenze tra i due sessi sono risultate significative solo per la classe degli **ω6** e dei **FFA**.

All'interno delle singole frazioni gli acidi grassi più rappresentativi sono rispettivamente: per gli **SFA** l'**acido palmitico (C16:0)** seguito dallo **stearico (C18:0)** in tutti e due i sessi, con differenze non significative;

per i **MUFA** l'**acido oleico (C18:1 Δ⁹)** seguito dal **palmitoleico (C 16:1 Δ⁹)** nei maschi; gli stessi nelle femmine ma in ordine di rappresentatività inverso; le differenze tra i sessi sono significative solo per l'**acido palmitoleico**;

per i **PUFA ω3** il **DHA (C22:6 ω3)** seguito dall'**EPA (C20:5 ω3)** sia nei maschi che nelle femmine con quantitativi comunque più elevati nei primi anche se in misura non significativa;

per i **PUFA ω6** è l'**acido arachidonico (C20:4 ω6)** ad avere i contenuti percentuali più elevati in entrambi i sessi, senza differenze significative tra di essi.

6.3 CARATTERIZZAZIONE DELLA FRAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI FURANICI

Come si evince dalle tabelle e dai grafici precedenti il profilo delle frazioni lipidiche relative ai campioni delle tre specie di crostacei in esame, mostra la presenza di quattro congeneri furanici saturi e precisamente :

Acido 10,13-epossi-11-metilocta-deca-10,12-dienoico	MeF (9,5)
Acido 10,13-epossi-11,12-dimetil-octadeca-10,12-dienoico	DiMeF (9,5)
Acido 12,15-epossi-13,14-dimetil-octadeca-12,14-dienoico	DiMeF (11,3)
Acido 12,15-epossi-13,14-dimetil-eicosa-12,14-dienoico	DiMeF (11,5)

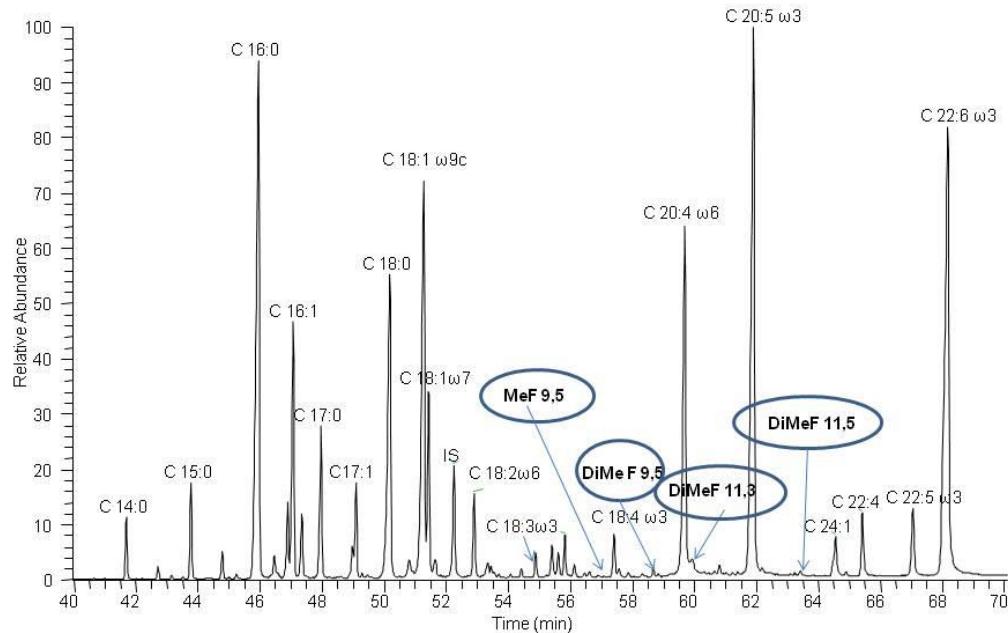
Risultano assenti in tutti i campioni analizzati i furanici olefinici.

Nella Figura 19 viene riportato un esempio di profilo di acidi grassi relativo ad una delle specie e dei campioni oggetto di indagine (mazzancolla; campione del 17.11.2009).

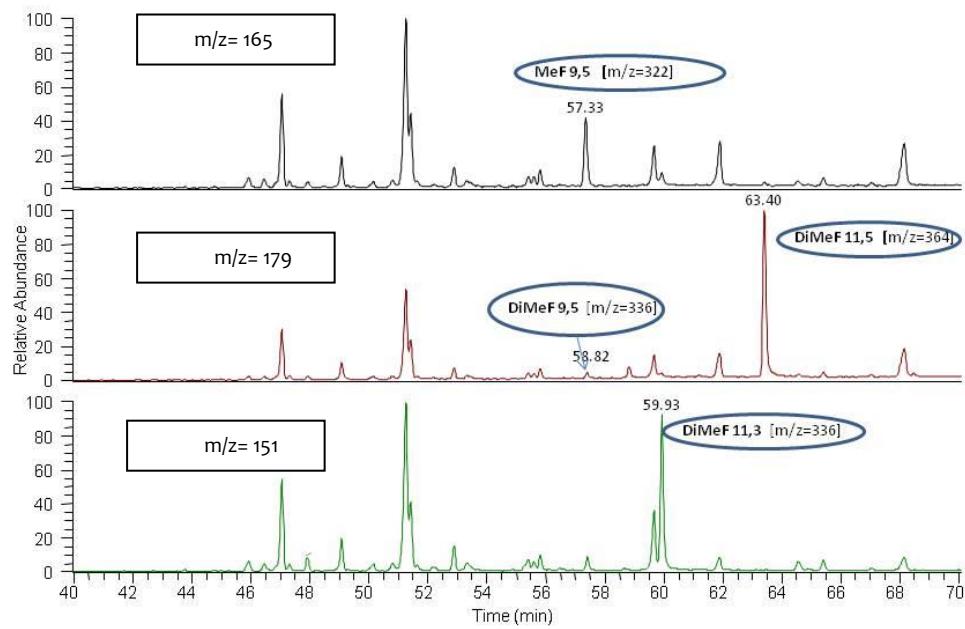
Dai tracciati si evidenzia che la classe degli FFA è costituita solamente da congeneri saturi. Tra essi sono stati identificati l'acido 10,13-epossi-11-metiloctadeca-10,12-dienoico [MeF (9,5)], Acido 10,13-epossi-11,12-dimetil-octadeca-10,12-dienoico [DiMeF (9,5)], l'acido 12,15- epoxi-13,14-dimetiloctadeca-12,14-dienoico [DiMeF11,3], 12,15-epossi-13,14-dimetileicosa- 12,14-dienoico [DiMeF11,5]. Il loro tempo di ritenzione aumenta all'aumentare del peso molecolare: [MeF(9,5)] < [DiMeF(9,5)] < [DiMeF(11,3)] < [DiMeF(11,5)]. Il tracciato (Figura 19) mostra come i congeneri degli acidi grassi furanici sono completamente separati ed eluiscono tutti dopo l'acido stearidonico (C18:4 ω 3) ad eccezione del MonoMeF 9,5. Gli spettri di massa degli FFA mostrano frammenti caratteristici per ogni singolo FFA (Tabella 27).

Fig. 19 - Tracciato GC-MS degli acidi grassi della polpa di mazzancolla: (a) corrente ionica totale; (b) picco base degli acidi grassi furanici.

(a)



(b)

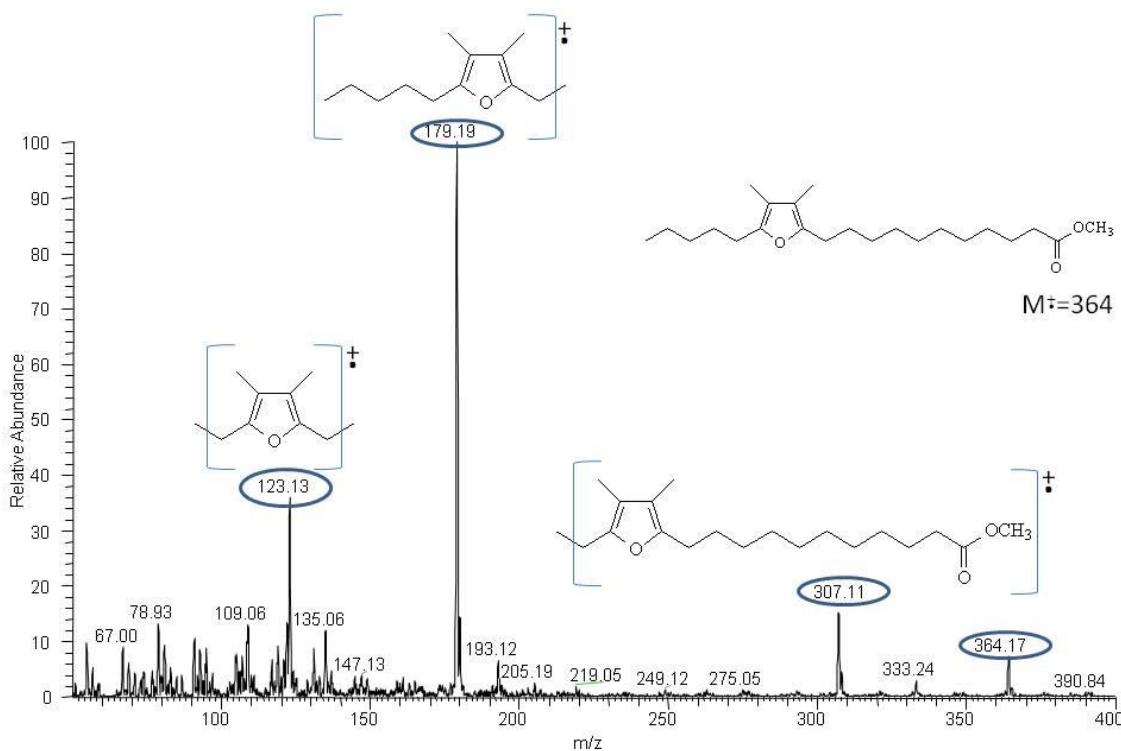


Tab. 27 – Frammentazione degli FFA presenti nei crostacei

	M ⁺	Picco Base	A ⁺	C ⁺
FFA saturi				
MeF9,5	322	165	265	109
DiMeF9,5	336	179	279	123
DiMeF11,3	336	151	307	123
DiMeF11,5	364	179	307	123

Prendendo come esempio lo spettro di massa del DiMeF (11,5), mostrato in Figura 20 si evince che la frammentazione è caratterizzata dalla presenza di un picco base generato dalla scissione del legame in posizione α (α -cleavage) della catena carbossilica satura (9, o 11 atomi di carbonio), di un picco generato dall' α -cleavage della catena alifatica (con 3 o 5 atomi di C) e da un frammento originato dall' α -cleavage di entrambe le catene.

Fig. 20– Frammentazione del DiMeF11,5



Il profilo della frazione degli FFA risulta peculiare per ogni specie. La percentuale di FFA è riportata in Tabella 25, mentre le quantità assolute di ogni FFA, espresse come media mg \pm DS/100 g di filetto, sono riportate in Tabella 28.

Tab. 28– Quantità assolute dei singoli FFA, espresse come media mg ±DS/100 g di polpa

FFA	granchio	mazzancoll	pannocchia
a			
MeF(9,5)	0.1±0.1	0.6±0.2	3.9±7.3
DiMeF(9,5)	0.1±0.2	0.5±0.5	3.0±6.4
DiMeF(11,3)	0.1±0.2	0.6±0.3	4.9±9.4
DiMeF(11,5)	0.1±0.1	0.1±0.1	3.3±6.7
Totale	0.3±0.4	1.8±0.8	15.1±26.5

In termini percentuali degli FFA sugli acidi grassi totali (% interna), il più alto contenuto è stato riscontrato nella mazzancolla (0.5±0.1%) che è risultato superiore a quello riscontrato nella pannocchia (0.4±0.3%) e nel granchio (0.2±0.1%). Le differenze non sono comunque significative ($P>0,05$).

Se però analizziamo separatamente i dati relativi ai due sessi della pannocchia possiamo notare come il dato percentuale più alto in assoluto, tra tutti i gruppi considerati, sia quello delle pannocchie femmine (0.6±0.2%) mentre quello dei maschi è significativamente ($P<0,05$) più basso (0.2±0.2 %).

Considerando, invece, le quantità assolute, ovvero i mg di FFA su 100 g di prodotto fresco, la pannocchia è risultata la specie più ricca, con un contenuto pari a 15.1 ±26.5 mg/100g di filetto, mentre il granchio si conferma anche in questo caso la specie più povera.

6.3.1 Distribuzione degli FFA nelle varie classi di lipidi

La separazione delle varie frazioni lipidiche e le loro successiva caratterizzazione ha consentito di verificare la distribuzione degli FFA nelle diverse classi di lipidi che, secondo alcuni studi effettuati sui pesci e sui crostacei (gamberi) [22] sono particolarmente concentrati nella frazione fosfolipidica, in particolare nella fosfatidilcolina.

I risultati mostrano che la composizione in FFA cambia in funzione sia della specie che della frazione lipidica.

Il DiMeF (9,5) è risultato presente nel granchio e nella pannocchia esclusivamente nei lipidi neutri, mentre nella mazzancolla tale FFA, pur essendo presente nei lipidi totali, non è stato trovato in nessuna delle frazioni separate tramite SPE con la metodica descritta.

Gli altri FFA invece sono distribuiti, sia nei lipidi neutri, che nei fosfolipidi a seconda della specie. Inoltre essi sono presenti solo nella PC e nella PE, mentre sono risultati assenti nella PS e nel PI (Tabella 29).

Tab. 29 – Distribuzione degli FFA nelle classi di lipidi delle singole specie di crostacei

	DiMeF			
	MeF 9,5	9,5	DiMeF 11,3	DiMeF 11,5
<i>Liocarcinus vernalis</i>	TL	+	+	+
	NL	+	+	+
	PC	+	-	-
	PE	-	-	+
	PS	-	-	-
	PI	-	-	-
<i>Penaeus kerathurus</i>	TL	+	+	+
	NL	-	-	-
	PC	+	-	+
	PE	-	-	+
	PS	-	-	-
	PI	-	-	-
<i>Squilla mantis</i>	TL	+	+	+
	NL	+	+	+
	PC	+	-	+
	PE	-	-	+
	PS	-	-	-
	PI	-	-	-

Legenda: TL= Lipidi totali; NL=Lipidi neutri; PC= fosfatidicolina; PE=fosfatidiletanolammina; PS=fosfatidilserina; PI=fosfatidilinositolo

6.3.2 Correlazione fra il contenuto di FFA e di PUFA ω3 nelle diverse specie

La percentuale totale di FFA mostra correlazione lineari con la percentuale totale di PUFA ω3 molto differenti nelle tre specie in esame: fortemente positiva nel granchio ($R^2= 0,8958$) e bassa o nulla nelle altre due specie ($R^2= 0,5706$ nella mazzancolla e $R^2= 0,0068$ nella pannocchia) (Figura 21).

Nessuna correlazione lineare è invece esistente tra la percentuale totale di FFA e la percentuale totale di PUFA ω6.

L'analisi delle correlazioni esistenti tra i contenuti totali percentuali di FFA e ognuno dei tre principali PUFA ω3 mostra i risultati rappresentati nella figura 22.

Figura 21 Correlazione tra il totale dei PUFA $\omega 3$ (%) e il totale degli FFA (%)

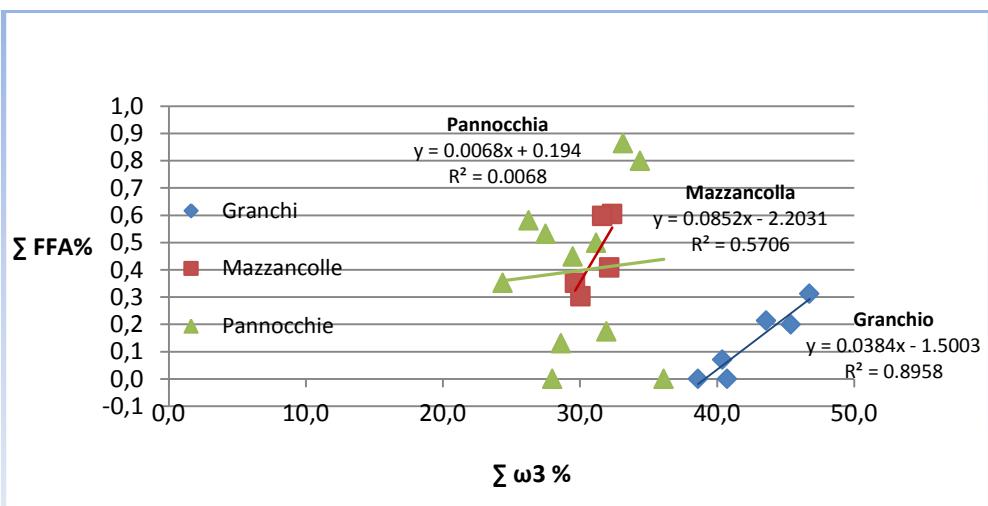
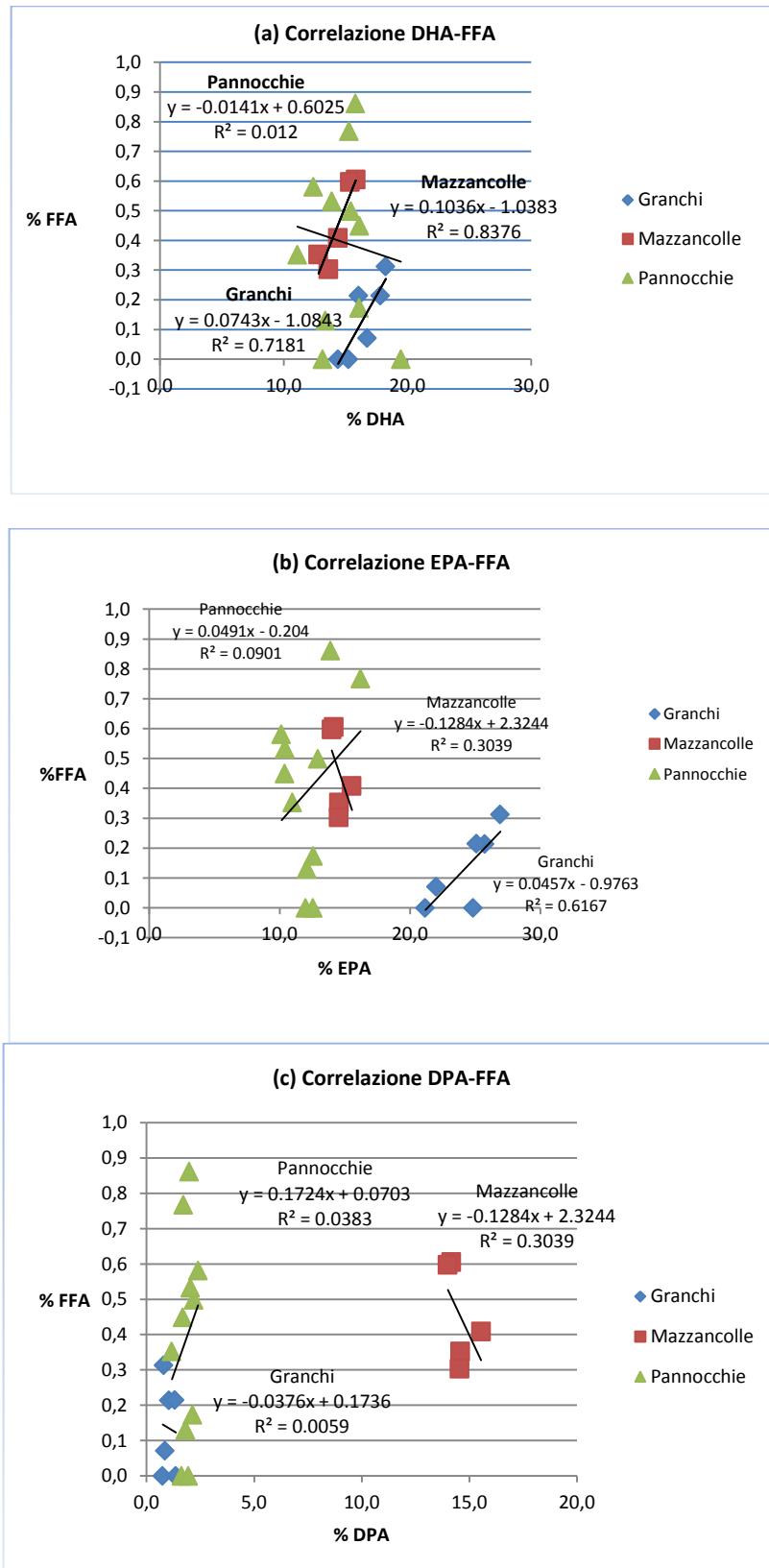


Figura 22 Correlazione tra ω 3 e il totale degli FFA (a) DHA vs-FFA; (b) EPA vs FFA; (c) DPA vs FFA



Dall'osservazione dei grafici si evidenzia che nella specie *Liocarcinus vernalis* c'è un'elevata correlazione lineare positiva nel rapporto tra i contenuti percentuali di DHA e della sommatoria dei quattro FFA saturi trovati ($R^2 = 0,7181$) ed una correlazione meno significativa nel rapporto tra i contenuti percentuali di EPA e della sommatoria dei quattro FFA saturi trovati ($R^2 = 0,6167$).

Anche nella specie *Penaeus kerathurus* c'è un'elevata correlazione lineare positiva nel rapporto tra i contenuti percentuali di DHA e della sommatoria dei quattro FFA saturi trova ($R^2 = 0,8376$);

non sono state riscontrate correlazioni lineari significative, né positive né negative, nella specie *Squilla mantis*.

In tutte e tre le specie di crostacei inoltre non sono state riscontrate correlazioni lineari nel rapporto tra i contenuti percentuali dei singoli PUFA $\omega 3$.

6.4 CONFRONTO TRA LE FRAZIONI LIPIDICHE DEI CROSTACEI E DEI PESCI

Sono stati messi a confronto i dati relativi alle principali classi di acidi grassi trovati nelle specie di organismi acquatici caratterizzati qualitativamente e quantitativamente attraverso analisi in GC-MS ed in GC-FID. In particolare il confronto ha riguardato sei specie di pesci marini, tra cui tre di pesce azzurro, notoriamente ricche in PUFA $\omega 3$, due specie di pesci d'acqua dolce e tre specie di crostacei marini.

Le specie di pesci di mare sono:

alice (*Engraulis encrasicolus*); sarda (*Sardina pilchardus*); suro (*Trachurus trachurus*); merluzzo o nasello (*Merluccius merluccius*); salpa (*arpa salpa*); sogliola (*Solea solea*).

Le specie di pesci d'acqua dolce sono il persico (*Lates niloticus*) e la trota (*Oncorhynchus mykiss*).

Le specie di crostacei marini sono il granchio di sabbia (*Liocarcinus vernalis*), la mazzancolla (*Penaeus kerathurus*) e la pannocchia (*Squilla mantis*).

Il confronto ha evidenziato i seguenti risultati espressi come percentuale sul totale degli acidi grassi (Tabella 30; Figura 23-24-25).

SFA: il granchio possiede la percentuale più bassa di acidi grassi saturi ($24.7\% \pm 2.4$) mentre i valori più elevati sono quelli della sarda ($36.0\% \pm 1.9$) e del persico ($36.0\% \pm 3.0$); tutte e tre le specie di pesce azzurro (alice, sarda e suro) hanno percentuali più elevate rispetto a quelle dei crostacei oggetto di studio;

MUFA: la pannocchia presenta la percentuale più elevata di acidi grassi monoinsaturi ($28.8\% \pm 2.1$). All'interno di questa classe si segnala che tutte e tre le specie di crostacei hanno elevati contenuti di **acido oleico**, l'acido grasso monoinsaturo quantitativamente più rappresentato in tutte le specie aquatiche studiate.

PUFA: il granchio ha contenuti di PUFA totali tra i più elevati ($52.7\% \pm 3.6$), inferiori solo all'alice, tra le specie confrontate. Tra questi i contenuti di **PUFA $\omega 3$** del granchio ($42.6\% \pm 3.2$) sono inferiori solo a quelli dell'alice e del suro, tra il pesce azzurro, e a quelli del merluzzo. I valori più bassi sono quelli dei pesci d'acqua dolce persico ($19.7\% \pm 6.7$) e trota ($20.3\% \pm 9.1$) e della salpa ($22.3\% \pm 0.2$). Quest'ultimo fatto contraddice quanto ci si aspettava, considerato il tipo di regime alimentare a base di alghe della salpa.

Altro fatto importante è che mentre in tutte le specie di pesce sia marine, che d'acqua dolce, il PUFA $\omega 3$ quantitativamente più rappresentativo è il **DHA**, nel caso dei crostacei, la mazzancolla e soprattutto il granchio hanno contenuti di **EPA** più elevati rispetto al DHA (Tabella 25; Figura 24).

Ciò costituisce, se verrà confermato dai futuri studi, un elemento significativo di caratterizzazione e di indagine.

Per quanto riguarda i PUFA $\omega 6$, i valori più elevati sono stati trovati nella trota ($24.7\% \pm 14.6$) con una variabilità estremamente elevata. Seguono la salpa, la mazzancolla, il granchio, il persico e la pannocchia. I crostacei hanno quindi valori più elevati rispetto a quasi tutte le specie marine analizzate, in particolare a quelle di pesce azzurro.

FFA: a livello quantitativo il contenuto di FFA dei crostacei è confrontabile con quello dei pesci nei quali sono stati indagati e trovati tali acidi grassi. E' caratterizzante l'assenza di FFA olefinici e la presenza di solo quattro dei FFA saturi fino ad oggi trovati nelle varie matrici biologiche (Tabella 25). Si rileva anche che il valore più elevato di acidi grassi furanici è stato trovato nella sogliola ($0.9\% \pm 0.1$) e il valore più basso nel granchio ($0.2\% \pm 0.1$) (Figura 25).

Tab. 30 - Distribuzione percentuale delle principali classi di acidi grassi: (a) pesci di mare e pesci d'acqua dolce; (b) crostacei

(a)								
Acidi Grassi %	alice	sarda	suro	merluzzo	salpa	sogliola	persico	trota
Totale SFA	33.8 ± 0.6	36.0 ± 1.9	33.5 ± 1.4	29.4 ± 0.9	35.1 ± 4.7	26.5 ± 2.5	36.0 ± 3.0	24.7 ± 6.5
Totale MUFA	10.2 ± 1.0	18.6 ± 2.6	16.1 ± 2.7	17.1 ± 1.4	15.9 ± 2.2	25.0 ± 4.7	24.7 ± 6.7	26.9 ± 4.7
Totale PUFA	56.0 ± 1.7	43.5 ± 5.4	50.2 ± 2.4	51.0 ± 1.2	36.8 ± 1.1	43.9 ± 2.7	28.8 ± 9.7	45.3 ± 7.1
PUFA $\omega 6$	3.3 ± 0.0	3.2 ± 0.3	4.6 ± 0.1	4.2 ± 0.8	14.6 ± 0.9	5.0 ± 1.3	9.1 ± 3.0	24.7 ± 14.6
PUFA $\omega 3$	51.3 ± 2.2	39.1 ± 4.2	43.2 ± 3.4	46.1 ± 0.8	22.3 ± 0.2	38.5 ± 1.6	19.7 ± 6.7	20.3 ± 9.1
Totale FFA	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	tr	0.6 ± 0.1	n.d.	0.9 ± 0.1	n.d.	n.d.

(b)			
Acidi Grassi %	granchio	mazzancolla	pannocchia
Totale SFA	24.7 ± 2.4	29.3 ± 1.5	29.8 ± 2.1
Totale MUFA	21.4 ± 2.0	25.4 ± 1.1	28.2 ± 2.3
Totale PUFA	52.7 ± 3.6	41.9 ± 1.5	38.8 ± 3.9
PUFA $\omega 6$	10.2 ± 0.7	10.7 ± 0.3	8.7 ± 1.2
PUFA $\omega 3$	42.6 ± 3.2	31.2 ± 1.2	30.1 ± 3.6
Totale FFA	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.3

SFA, Acidi Grassi Saturi; MUFA, Acidi Grassi Monoinsaturi; PUFA, Acidi Grassi Polinsaturi; FFA, Acidi Grassi Furanici. I risultati sono rappresentati come la media \pm DS; n.d.= non determinato; n= 3 (pesci marini); n = 2 (pesci d'acqua dolce); n = 5/11 (crostacei); tr = tracce

Figura 23 - Distribuzione percentuale delle principale classi di acidi grassi nei pesci di mare (specie 1-6), pesci d'acqua dolce (specie 7-8) e nei crostacei (specie 9/11)

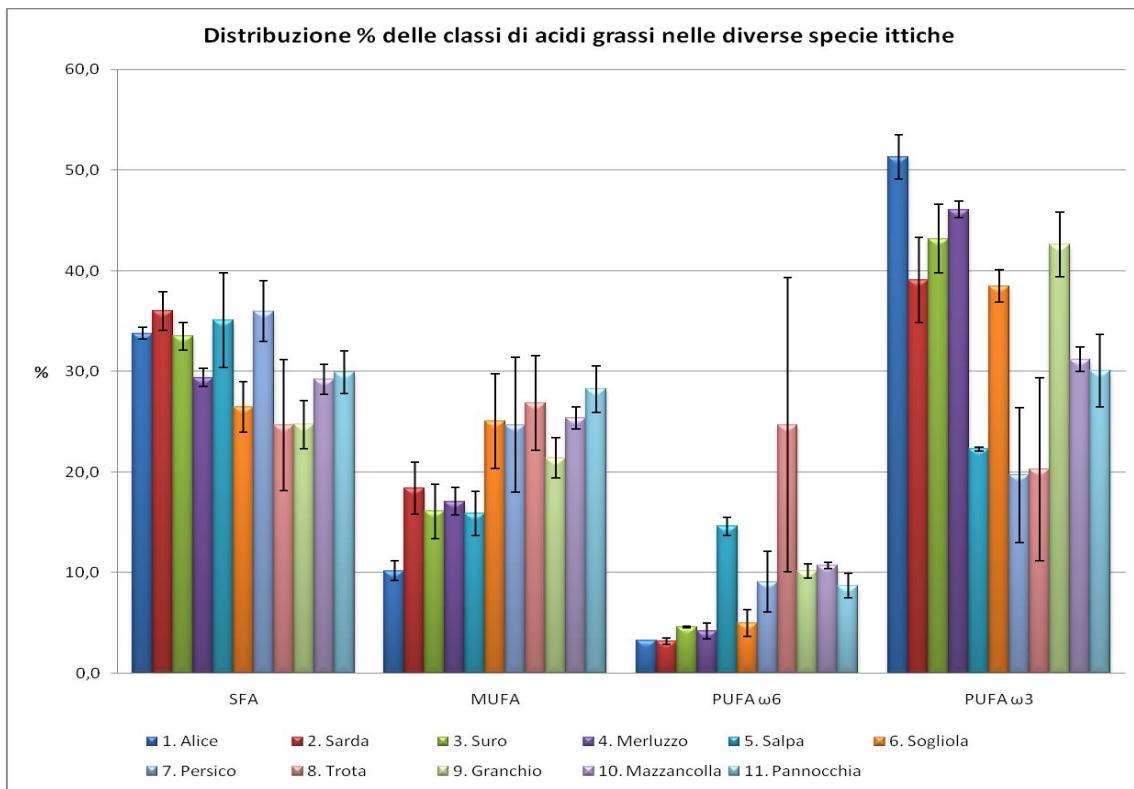


Figura 24 - Distribuzione percentuale del totale dei PUFA ω3 e dei principali ω3 (EPA; DPA; DHA) nei pesci di mare (specie 1-6), pesci d'acqua dolce (specie 7-8) e nei crostacei (specie 9/11)

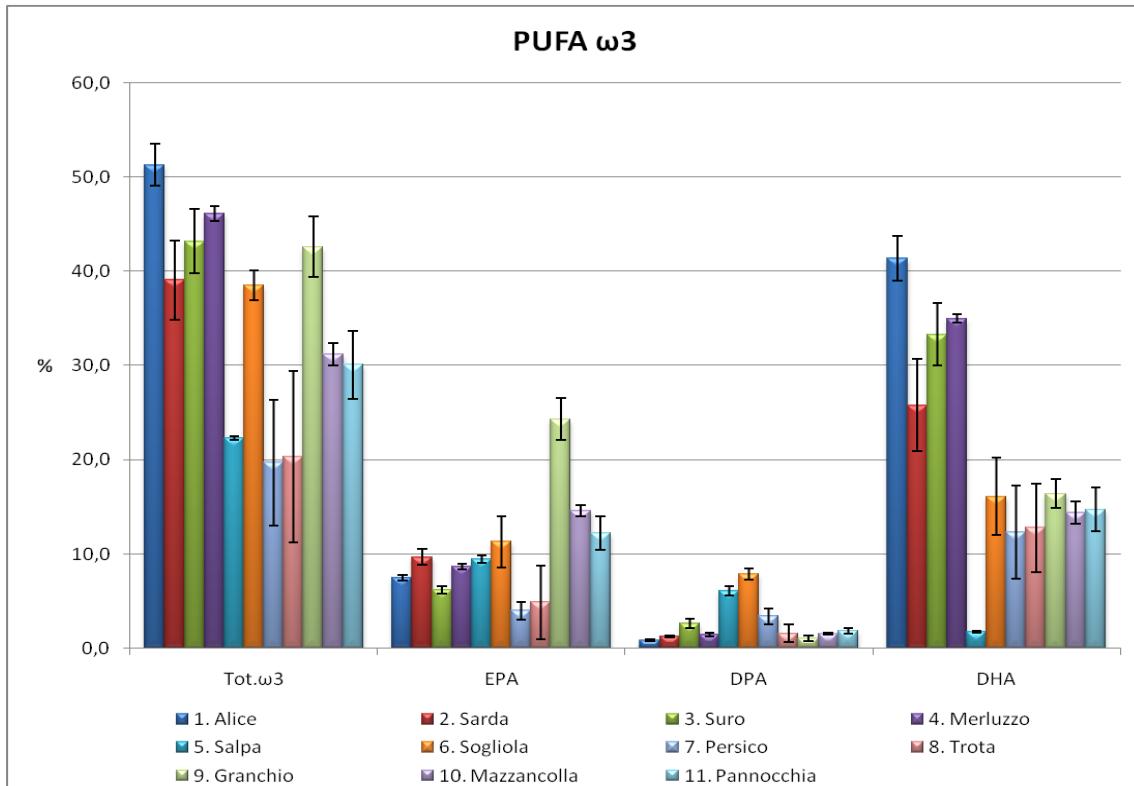
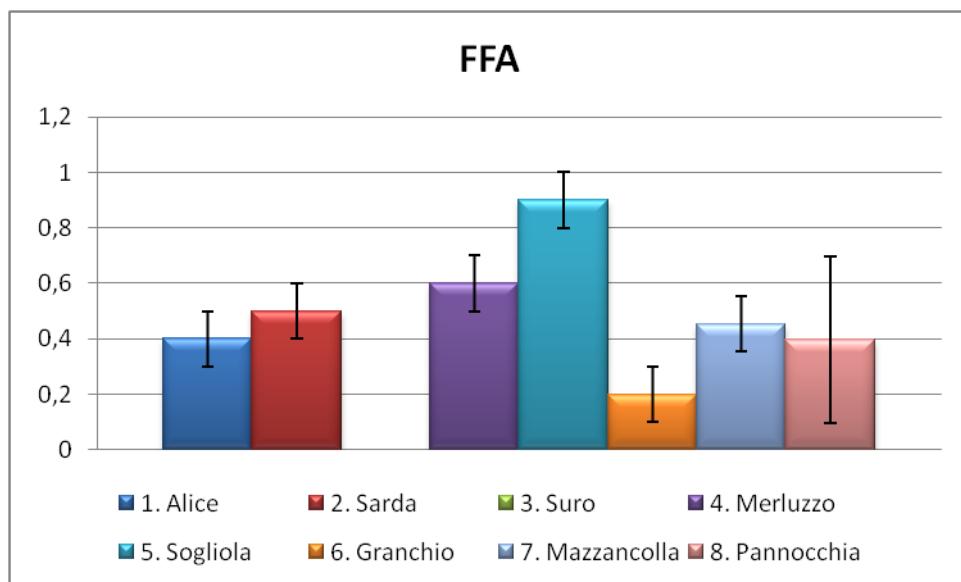
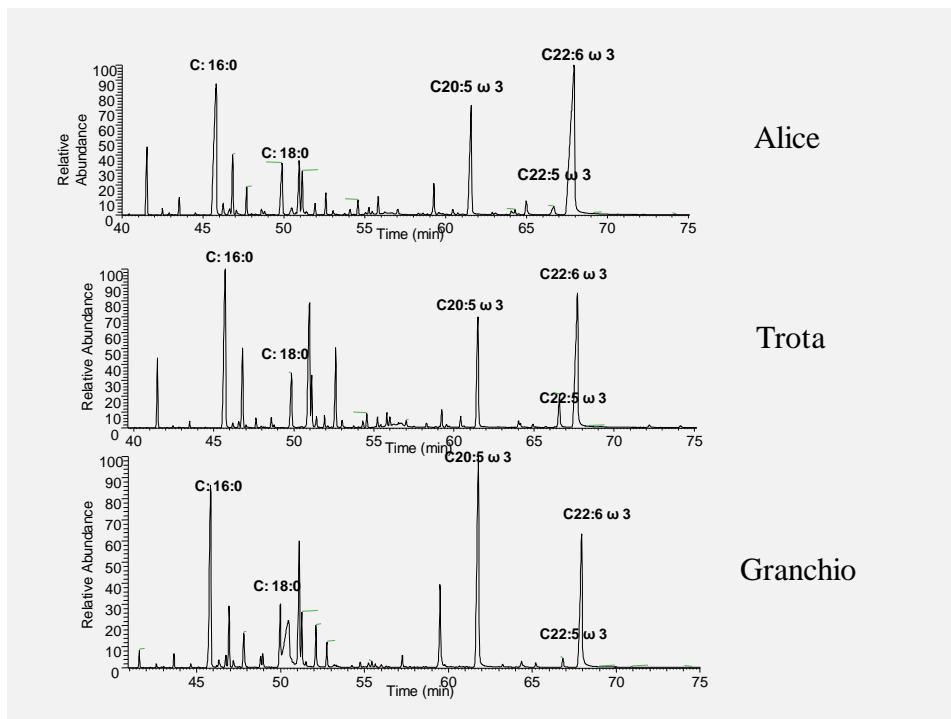


Figura 25 - Distribuzione percentuale degli acidi grassi furanici nei pesci di mare (specie 1-5) e nei crostacei (specie 6-8)



Nella figura 26 vengono mostrati i tracciati GC-MS di tre campioni appartenenti a tre specie acquatiche diverse: una specie di mare, l'alice (*Engraulis encrasicolus*) appartenente al gruppo dei pesci azzurri; una d'acqua dolce, la trota (*Oncorhynchus mykiss*); ed un crostaceo di mare, il granchio (*Liocarcinus vernalis*).

Figura 26 Confronto dei tracciati gascromatografici di tre diverse specie acquatiche:
alice; trota; granchio



I tracciati mostrano che le tre specie, lontane dal punto di vista filogenetico e/o con diversi habitat e rapporti trofici con le altre specie della flora e fauna aquattiche, ma che hanno in comune il fatto di vivere in un ambiente aquattico, hanno una caratterizzazione qualitativa della frazione degli acidi grassi del grasso corporeo (parte edibile) molto simile: non ci sono differenze che possono essere imputate o al gruppo tassonomico, e quindi alle caratteristiche genetiche, o alla posizione nella scala evolutiva, o al particolare habitat ed alla posizione nella catena alimentare.

Esistono però differenze anche notevoli dal punto di vista quantitativo che vengono illustrate dal grafico della figura 24 che rappresenta i risultati, per classi di acidi grassi e per gruppi omogenei di organismi aquattici (pesci marini, pesci d'acqua dolce, crostacei), delle analisi quantitative tramite GC-FID.

E' però evidente come non ci siano particolari classi di acidi grassi che possiamo considerare come markers per uno dei tre gruppi di organismi.

7. CONCLUSIONI

Le specie ittiche derivate dalle attività della pesca e di acquacoltura, e che fanno parte della nostra dieta, contribuiscono a mettere a disposizione elementi nutrizionali con importanti e benefici effetti nei riguardi del miglioramento della salute e del benessere individuale e collettivo.

A partire da questa considerazione è stata sviluppata l'attività riportata nel presente lavoro con un duplice scopo:

il primo, di carattere sociale, si è proposto di mettere a disposizione di persone svantaggiate, in forma gratuita, quantità di pesce altrimenti destinato alla distruzione, contribuendo per questo aspetto al miglioramento della qualità della loro alimentazione, con effetti positivi per tutti gli attori della filiera, per l'ambiente e per la società nel suo complesso.

Il secondo, di carattere sperimentale, ha perseguito l'obiettivo di caratterizzare la frazione lipidica di diversi prodotti ittici, per rilevarne il profilo acidico quali-quantitativo con particolare attenzione a tre specie di crostacei del Mar Adriatico ed alle classi di composti più importanti dal punto di vista nutraceutico.

Il primo obiettivo è stato raggiunto con l'attivazione del progetto Last Minute Fish, che ha consentito, attraverso alcune organizzazioni no-profit, di far giungere a persone socialmente deboli circa 1,3 tonnellate di pesce, rimasto invenduto nei mercati all'ingrosso locali e destinato ad essere smaltito come rifiuto.

Il secondo obiettivo ha comportato lo svolgimento di attività sperimentali di laboratorio che hanno consentito di conoscere il profilo acidico di diverse specie ittiche ed in particolare delle seguenti specie di crostacei : *Liocarcinus vernalis* (granchio di sabbia); *Penaeus kerathurus* (mazzancolla); *Mantis shrimp* (pannocchia).

L'analisi qualitativa degli esteri metilici degli acidi grassi preparati a partire dal grasso estratto dalla matrice alimentare fresca, è stata eseguita mediante tecnica gascromatografica accoppiata alla spettrometria di massa, mentre la quantificazione è stata svolta mediante analisi gascromatografica utilizzando un rivelatore a ionizzazione di fiamma.

Nei crostacei sono stati identificati trenta acidi grassi tra i quali quattro acidi grassi furanici saturi.

Le quantità di FA, espresse come percentuale sul totale degli acidi grassi, mostrano che i PUFA $\omega 3$ sono la classe quantitativamente più presente in tutte e tre le specie, e che il granchio si differenzia dalle altre due specie che risultano più simili tra loro.

Il quantitativo di PUFA $\omega 3$ nei granchi è più elevato ed è confrontabile con quello del pesce azzurro. Tra questi, l'acido grasso più presente è l'EPA, contrariamente a quello che accade nella maggior parte dei pesci sia di mare che d'acqua dolce, in cui è il DHA ad essere percentualmente più rilevante.

Inoltre ha il contenuto di **acidi grassi saturi** più basso in assoluto tra tutte le specie analizzate.

Il contenuto di **acidi grassi monoinsaturi** in tutte e tre le specie è tra i più elevati, anche se il granchio ha contenuti più bassi: nonostante questo, il contenuto di acido oleico del granchio è tra i più elevati, non solo se confrontato con quello delle altre specie di crostacei, ma anche con quello delle altre specie ittiche analizzate.

Gli acidi grassi quantitativamente più presenti nelle tre specie sono quindi, in ordine:
nel granchio l'EPA, il DHA, il palmitico, l'oleico, l'arachidonico, lo stearico;
nella mazzancolla l'EPA, il DHA, il palmitico, l'oleico, lo stearico e l'arachidonico;
nella pannocchia il palmitico, il DHA, l'EPA, l'oleico, il palmitoleico, lo stearico e l'arachidonico.

In tutte le tre specie sono presenti, gli stessi quattro congeneri furanici saturi e precisamente:

l'acido 10,13-epossi-11-metiloctadeca-10,12-dienoico [MeF9,5], l'acido 10,13-epossi-11,12-dimetil-octadeca-10,12-dienoico, [DiMeF9,5] l'acido 12,15-epossi-13,14-dimetiloctadeca-12,14-dienoico [DiMeF11,3], l'acido 12,15-epossi-13,14-dimetileicosa-12,14-dienoico [DiMeF11,5].

Le differenze a livello quantitativo tra le tre specie non sono significative, mentre esiste una differenza quantitativa significativa tra i due sessi della pannocchia, forse legata al periodo riproduttivo della specie.

Non sono stati trovati congeneri furanici olefinici.

L'analisi della distribuzione degli FFA nelle varie classi di lipidi, separate mediante SPE e caratterizzate qualitativamente e quantitativamente ha messo in evidenza un'altra differenza importante tra le specie di crostacei: nei lipidi neutri del granchio e della pannocchia sono presenti tutti gli FFA, mentre nella mazzancolla essi sono assenti.

Inoltre tra le frazioni fosfolipidiche troviamo FFA solo nella fosfatidicolina e nella fosfatidiletanolammmina, mentre risultano assenti nelle altre due frazioni (fosfatidilserrina e fosfatidilinositol).

L'analisi delle correlazioni esistenti tra gli FFA e i PUFA $\omega 3$ mostra una correlazione lineare positiva significativa solamente nel granchio che anche per questo aspetto si differenzia rispetto alle altre due specie.

Tale correlazione nel granchio riguarda anche il rapporto tra DHA e FFA, e tra EPA e FFA, cioè tra i due principali PUFA $\omega 3$ e gli FFA.

Una correlazione fortemente positiva esiste anche nella pannocchia femmina in periodo riproduttivo tra $\omega 3$ totali e FFA totali, e tra EPA e FFA totali: ciò sembra confermare il legame tra periodo riproduttivo e presenza sia di PUFA $\omega 3$ che di FFA, in particolare nelle femmine della specie.

I tracciati gascromatografici di specie acquatiche differenti come pesci di mare, pesci d'acqua dolce e crostacei evidenzia un profilo molto simile dal punto di vista qualitativo, con differenze che si esprimono solo all'analisi quantitativa.

In definitiva non sembrano esserci classi di acidi grassi o singoli acidi grassi che possiamo considerare markers di una delle tre specie di crostacei oggetto di indagine, anche se sicuramente la specie *Liocarcinus vernalis* si differenzia dalle altre due per molti aspetti e parametri.

APPENDICE STATISTICA -

Crostacei:

Granchio - Vernal crab

Mazzancolla - Karamote shrimp

Pannocchia - Mantis shrimp

Report 1Analisi della varianza della classe degli **acidi grassi saturi****Acidi Grassi Saturi (SFA)**

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is 0.0003, considered extremely significant.
Variation among column means is significantly greater than expected
by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test
If the value of q is greater than 3.593 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Difference	Mean	q	P value
<hr/>				
Vernal crab vs Karamote shrimp	-4.487	5.014	**	P<0.01
Vernal crab vs Mantis shrimp	-5.176	6.902	***	P<0.001
Karamote shrimp vs Mantis shrimp	-0.6891	0.8646	ns	P>0.05
<hr/>				
Difference	Difference	Mean	95% Confidence Interval	
<hr/>				
Vernal crab vs Karamote shrimp	-4.487	-7.702	-1.272	
Vernal crab vs Mantis shrimp	-5.176	-7.870	-2.481	
Karamote shrimp vs Mantis shrimp	-0.6891	-3.553	2.174	

* * *

Report 2

Analisi della varianza della classe degli **acidi grassi monoinsaturi**

Acidi Grassi Monoinsaturi (MUFA)

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is < 0.0001, considered extremely significant.
Variation among column means is significantly greater than expected
by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test

If the value of q is greater than 3.593 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Difference	Mean	q	P value
Vernal crab vs Karamote shrimp	-3.983	4.520	*	P<0.05
Vernal crab vs mantis shrimp	-6.820	9.234	***	P<0.001
Karamote shrimp vs mantis shrimp	-2.836	3.614	*	P<0.05

Difference	Mean	95% Confidence Interval	
Difference	Difference	From	To
Vernal crab - Karamote shrimp	-3.983	-7.149	-0.8172
Vernal crab - mantis shrimp	-6.820	-9.473	-4.166
Karamote shrimp - mantis shrimp	-2.836	-5.657	-0.01622

Report 3Analisi della varianza della classe degli **acidi grassi PUFA ω6****Omega6**

Kruskal-Wallis Test (Nonparametric ANOVA)

The P value is 0.0032, considered very significant.

Variation among column medians is significantly greater than expected by chance.

The P value is approximate (from chi-square distribution) because at least one column has two or more identical values.

Calculation detail

Group	Number of Points	Sum of Ranks	Mean of Ranks
Vernal crab	6	83.000	13.833
Karamote shrimp	5	92.000	18.400
Mantis shrimp	11	78.000	7.091

Kruskal-Wallis Statistic KW = 11.511 (corrected for ties)

Dunn's Multiple Comparisons Test

Comparison	Mean Rank Difference	P value
Vernal crab vs. Karamote shrimp	-4.567	ns P>0.05
Vernal crab vs. Mantis shrimp	6.742	ns P>0.05
Karamote shrimp vs. Mantis shrimp	11.309	** P<0.01

Summary of Data

Group	Number of Points	Median	Minimum	Maximum
Vernal crab	6	9.900	9.600	11.400
Karamote shrimp	5	10.800	10.200	11.100
Mantis shrimp	11	8.700	6.700	10.400

* * *

Report 4Analisi della varianza della classe degli **acidi grassi PUFA ω3****Omega3**

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is < 0.0001, considered extremely significant.
Variation among column means is significantly greater than expected
by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test
If the value of q is greater than 3.593 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Mean Difference	q	P value
Vernal crab vs Karamote shrimp	11.443	8.529 ***	P<0.001
Vernal crab vs Mantis shrimp	12.483	11.100 ***	P<0.001
Karamote shrimp vs Mantis shrimp	1.040	0.8702 ns	P>0.05

Difference	Mean Difference	95% Confidence Interval
		From To
Vernal crab - Karamote shrimp	11.443	6.622 16.264
Vernal crab - Mantis shrimp	12.483	8.443 16.524
Karamote shrimp - Mantis shrimp	1.040	-3.254 5.334

Report 5

Analisi della varianza dell' EPA

EPA

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is < 0.0001, considered extremely significant.
Variation among column means is significantly greater than expected by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test

If the value of q is greater than 3.593 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Difference	Mean Difference	q	P value
Vernal crab vs Karamote shrimp	9.720	12.953	***	P<0.001
Vernal crab vs Mantis shrimp	12.091	19.224	***	P<0.001
Karamote shrimp vs Mantis shrimp	2.371	3.547	ns	P>0.05

Difference	Mean Difference	95% Confidence Interval	
Difference	Difference	From	To
Vernal crab - Karamote shrimp	9.720	7.024	12.416
Vernal crab - Mantis shrimp	12.091	9.831	14.351
Karamote shrimp - Mantis shrimp	2.371	-0.03064	4.772

Report 6

Analisi della varianza del DPA

DPA

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is < 0.0001, considered extremely significant.
Variation among column means is significantly greater than expected by chance.

Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test

If the value of q is greater than 3.593 then the P value is less than 0.05.

Comparison	Difference	Mean	q	P value
Vernal crab vs Karamote shrimp	-0.5033	4.132	*	P<0.05
Vernal crab vs Mantis shrimp	-0.8561	8.384	***	P<0.001
Karamote shrimp vs Mantis shrimp	-0.3527	3.251	ns	P>0.05

Difference	Difference	Mean	95% Confidence Interval
			From To
Vernal crab - Karamote shrimp	-0.5033	-0.9411	-0.06561
Vernal crab - Mantis shrimp	-0.8561	-1.223	-0.4892
Karamote shrimp - Mantis shrimp	-0.3527	-0.7426	0.03716

Report 7

Analisi della varianza del DHA

DHA

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is 0.1726, considered not significant.
Variation among column means is not significantly greater than
expected
by chance.

Post tests

Post tests were not calculated because the P value was greater
than 0.05.

Report 8

Analisi della varianza degli acidi grassi furanici (FFA)

FFA

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is 0.0597, considered not quite significant.
Variation among column means is not significantly greater than
expected
by chance.

Post tests

Post tests were not calculated because the P value was greater
than 0.05.

Report 9

Analisi della varianza dell'acido arachidonico

Acido Arachidonico

Kruskal-Wallis Test (Nonparametric ANOVA)

The P value is 0.0053, considered very significant.
 Variation among column medians is significantly greater than expected by chance.

The P value is approximate (from chi-square distribution) because at least one column has two or more identical values.

Calculation detail

Group	Number of Points	Sum of Ranks	Mean of Ranks
Vernal crab	6	94.000	15.667
Karamote shrimp	5	81.500	16.300
Mantis shrimp	11	77.500	7.045

Kruskal-Wallis Statistic KW = 10.467 (corrected for ties)

Dunn's Multiple Comparisons Test

Comparison	Mean Rank Difference	P value
Vernal crab vs. Karamote shrimp	-0.6333	ns P>0.05
Vernal crab vs. Mantis shrimp	8.621	* P<0.05
Karamote shrimp vs. Mantis shrimp	9.255	* P<0.05

Summary of Data

Group	Number of Points	Median	Minimum	Maximum
Vernal crab	6	6.900	6.600	8.300
Karamote shrimp	5	6.800	6.800	7.400
Mantis shrimp	11	5.400	2.600	7.100

* * *

Report 10

Analisi della varianza dell'acido oleico

Acido Oleico

One-way Analysis of Variance (ANOVA)

The P value is 0.2035, considered not significant.
Variation among column means is not significantly greater than
expected
by chance.

Post tests

Post tests were not calculated because the P value was greater
than 0.05.

Report 11
Stearic-DHA

Linear Correlation between stearic acid and DHA

Number of points = 22

Correlation coefficient (r) = -0.5852
95% confidence interval: -0.8076 to -0.2171

Coefficient of determination (r squared) = 0.3425

Report 12
Palmitoleico-Arachidonico

Linear Correlation between palmitoleic and arachidonic acids

Number of points = 22

Correlation coefficient (r) = -0.6433
95% confidence interval: -0.8377 to -0.3041

Coefficient of determination (r squared) = 0.4139

Test: Is r significantly different than zero?
The two-tailed P value is 0.0012, considered very significant.

Test: Is r significantly different than zero?
The two-tailed P value is 0.0042, considered very significant.

* * *

ANALISI DELLA VARIANZA TRA I SESSI DELLA *SQUILLA MANTIS*

Report 13

Omega3

Unpaired t test

Do the means of Mantis s. male and Mantis s. femal differ significantly?

P value

The two-tailed P value is 0.2402, considered not significant.

t = 1.303 with 6 degrees of freedom.

95% confidence interval

Mean difference = -2.825 (Mean of Mantis s. female minus mean of Mantis s. male)

The 95% confidence interval of the difference: -8.129 to 2.479

Report 14

Omega6

Unpaired t test

Do the means of Mantis s. male and Mantis s. female differ significantly?

P value

The two-tailed P value is 0.0367, considered significant.

t = 2.677 with 6 degrees of freedom.

95% confidence interval

Mean difference = -1.700 (Mean of Mantis s. femal minus mean of Mantis s. male)

The 95% confidence interval of the difference: -3.254 to -0.1459

Report 15
FFA

Unpaired t test

Do the means of Mantis s. male and Mantis s. female differ significantly?

P value

The two-tailed P value is 0.0397, considered significant.

t = 2.619 with 6 degrees of freedom.

95% confidence interval

Mean difference = 0.4000 (Mean of Mantis s. female minus mean of Mantis s. male)

The 95% confidence interval of the difference: 0.02621 to 0.7738

Report 16
SFA

Unpaired t test

Do the means of Column D and Column E differ significantly?

P value

The two-tailed P value is 0.5701, considered not significant.

t = 0.6005 with 6 degrees of freedom.

95% confidence interval

Mean difference = 0.8000 (Mean of Column E minus mean of Column D)

The 95% confidence interval of the difference: -2.460 to 4.060

Report 17
MUFA

Unpaired t test

Do the means of m.s. male and m.s. female differ significantly?

P value

The two-tailed P value is 0.0606, considered not quite significant.

t = 2.305 with 6 degrees of freedom.

95% confidence interval

Mean difference = 3.400 (Mean of m.s. female minus mean of m.s. male)

The 95% confidence interval of the difference: -0.2088 to 7.009

BIBLIOGRAFIA

1. Cappelli P, Vannucchi V. Chimica degli alimenti. Zanichelli, Bologna 2005
2. Ismea Compendio statistico del settore ittico. Dicembre 2009
3. Ismea Il settore ittico in Italia – Check-up 2009
4. Segrè A. Last Minute Market la banalità del bene e altre storie contro lo spreco. Pendragon, Bologna 2010
5. Costanzo M. Il Progetto Last Minute Market: come trasformare gli sprechi in risorse 2008
6. Bernardi C, Bertoja G, Cartoni C, Cattaneo P, Colombo F, Rasetti M, Trezzi I. (2004) Metodi di riconoscimento di specie nei crostacei. Archivio Veterinario Italiano vol. 55 n.5
7. Falciai L, Minervini R. Guida dei crostacei decapodi d'Europa. F. Muzzio 1992, pp.206-210
8. McCarthy A.M,McGrath D, Allen B.M. (2005) The grey swimming crab *Liocarcinus vernalis* (Risso, 1827) in western Irish coastal waters (Decapoda: Brachyura, Portunidae). Ir. Nat. J. Vol. 28 n.5
9. d'Udekem d'Acoz, C. (1991) Considérations générales sur *Liocarcinus vernalis* (Rizzo, 1827) et remarques sur sa présence en Mer du Nord De Strandvlo 11(4): 84-100
10. Trainito E, Atlante di flora e fauna del Mediterraneo, Il Castello, Milano 2005.
11. Holthuis L.B., FAO species catalogue. Vol.1. 1980 Shrimps and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interest to fisheries. FAO Fish.Synop., (125)Vol.1:271 p.
12. Maynou F, Abellò P, Sartor P. (2005) A review of the fisheries biology of the Mantis shrimp, *Squilla mantis* (L., 1758) (Stomatopoda, Squillidae) in the Mediterranean. Crustaceana 77(9): 1081-1099
13. Fennema O.R. Food chemistry. Marcel Dekker, Inc., New York 1996
14. Cabras P, Martelli A. Chimica degli alimenti. Piccin, Padova 2004
15. Suzumura M. (2005) Phospholipids in marine environments: a review. Talanta 66: 422–434
16. Glass R. L., Krick T. P., Enckhardt A. E. (1974) New Series of Fatty Acids in Northen Pike (*Esox lucius*). Lipids 9:1004-1008.
17. Glass, R.L., Krick, T.P., Olson, D.L., and Thorson, R.L. (1977) The Occurrence and Distribution of Furan Fatty Acids in Spawning Male Freshwater Fish, Lipids 12: 828–836.
18. Gunstone, F.D., Wijesundera, R.C., and Scrimgeour, C.M.(1978) The Component Acids of Lipids from Marine and Freshwater Species with Special Reference to Furan-Containing Acids, J. Sci. Food Agric. 29: 539–550.
19. Dembitsky V.M, Rezanka T. (1996) Furan fatty acids of some brackish invertebrates from the Caspian Sea. Comp. Biochem Physiol. Vol. 114B (3): 317-320
20. Okajima, H.; Ishii, K.; Watanabe, H. (1984). Studies on lipids of crayfish, *Procambarus clarkii*. I. Furanoid fatty acids. Chem. Pharm. Bull. 32:3281-3286;
21. Ishii, K., Okajima, H., Koyamatsu, T., Okada, Y., and Watanabe H. (1988) The Composition of Furan Fatty Acids in the Crayfish, Lipids 23: 694–700.
22. Ishii, K., Okajima, H., Okada, Y., Konishi, H., and Watanabe, H. (1989) Fatty Chain Composition of Phospholipids from Muscle of Crayfish, *Procambarus clarkii*, Chem. Pharm. Bull. 37: 1564–1567.

23. Ciminiello, P., Fattorusso, E., Magno, S., Mangoni, A., Ialenti, A., and Di Rosa, M. (1991) Furan Fatty Acid Steryl Esters from the Marine Sponge *Dictyonella incisa* Which Show Inflammatory Activity, *Experientia* 47, 739–743.
24. Graweiss A., Kashman Y. (1978) A new furanoid fatty acid from soft corals *Sarcophyton glaucum* and *gemmatum*. *Experientia*: 34:299.
25. Hannemann K., Puchta V., Simon E., Ziegler G., Spitteler G. (1989) The common occurrence of furan fatty acids in plants. *Lipids*, 24:296-298.
26. Shirasaka, N., Nishi, K., and Shimizu, S. (1995) Occurrence of Furan Fatty Acids in Marine Bacteria, *Biochim. Biophys. Acta* 1258, 225–227.
27. Shirasaka, N., Nishi, K., and Shimizu, S. (1997) Biosynthesis of Furan Fatty Acids (F-acids) by a Marine Bacterium, *Shewanella putrefaciens*, *Biochim. Biophys. Acta* 1346, 253–260.
28. Carballeira, N.M., Guzmán, A., Nechev, J.T., Lahtchev, K., Ivanova, A., and Stefanov, K. (2000) Unusual Lipid Composition of a *Bacillus* sp. Isolated from Lake Pomorie in Bulgaria, *Lipids* 35, 1371–1375.
29. Guth H., Grosch W. (1992) Furan fatty acids in butter and butter oil. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 194, 360-362.
30. Boselli E., Grob K., Lercker G. (2000) Determination of furan fatty acids in extra virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.*, 48:2868-2873.
31. Schödel, R., and Spitteler, G. (1987) Über das Vorkommen von F-Säuren in Rinderleber und deren enzymatischen Abbau bei Gewebeverletzung, *Liebigs Ann. Chem.*, 459–462.
32. Puchta, V., Spitteler, G., and Weidinger, H. (1988) F-Säuren: Eine bisher unbekannte Komponente der Phospholipide des Humanblutes, *Liebigs Ann. Chem.*, 25–28.
33. Puchta, V., and Spitteler, G. (1988) Struktur der F-Säuren enthaltenden Plasmalipide, *Liebigs Ann. Chem.*, 1145–1147.
34. Wahl, H.G., Chrzanowski, A., Müller, C., Liebich, H.M., and Hoffmann, A. (1995) Identification of Furan Fatty Acids in Human Blood Cells and Plasma by Multi-dimensional Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *J. Chromatogr. A* 697: 453–459.
35. Spitteler G. (2005) Furan fatty Acids: occurrence, synthesis, and reactions. Are furan fatty acids responsible for the cardioprotective effects of a fish diet? *Lipids* 40 (8): 755-771
36. Glass R. L., Krick T. P., Sand D. M., Rahn C. H., Schlenk H. (1975) Furanoid fatty acid from fish lipids. *Lipids* 10:695-702.
37. Rahn C. H., Sand D. M., Krick T. P., Glass R. L., Schlenk H. (1981) Synthesis of radioactive furan fatty acids. *Lipid*, 16:360-364.
38. Okada Y., Okajima H., Konishi H., Terauchi M., Ishii K., Liu I., Watanabe H. (1990) Antioxidant Effect of Naturally Occurring Furan Fatty Acids on Oxidation of Linoleic Acid in Aqueous Dispersion. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 858-862.
39. Batna A., Spitteler G. (1994) Oxidation of Furan Fatty Acids by Soybean Lipoxygenase-1 in the Presence of Linoleic Acid. *Chem. Phys. Lipids* 70: 179-185.
40. Graff G., Gellerman J. L., Sand D. M., Schlenk H. (1984) Inhibition of Blood Platelet Aggregation by Dioxo-ene Compound. *Biochim. Biophys. Acta*, 799:143-150.
41. Rosenblat G., Tabak M., Lie Ken Jie M.S.F., Neeman I. (1993) Inhibition of bacterial urease by autoxidation of furan C 18 fatty acids methyl ester products. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70(5): 501-505
42. Isoda Y., Nishizawa Y., Yamaguchi S., Hirano J., Yamamoto A., Numata M., (1993) Antitumor Activity of Lipids. Antitumor Activity of Free Fatty Acids in Mice with Transplanted Tumors. *Yukagaku* 42: 923-928.

43. Fischer, S., Weber, P.C., and Dyerberg, J. (1986) The Prostacyclin/Thromboxane Balance Is Favourably Shifted in Greenland Eskimos, *Prostaglandins* 32, 235–241.
44. Sanders, T.A.B., and Hinds, A. (1992) The Influence of a Fish Oil High in Docosahexaenoic Acid on Plasma Lipoprotein and Vitamin E Concentrations and Haemostatic Function in Healthy Male Volunteers, *Br. J. Nutr.* 68: 163–173.
45. Wahl, H.G., Tetschner, B., and Liebich, H.M. (1992) The Effect of Dietary Fish Oil Supplementation on the Concentration of 3-Carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionic Acid in Human Blood and Urine, *J. High Resolut. Chromatogr.* 15: 815–818.
46. Nara, E., Miyashita, K., and Ota, T. (1997) Oxidative Stability of Liposomes Prepared from Soybean PC, Chicken Egg PC, and Salmon Egg PC, *Biosci. Biotech. Biochem.* 61: 1736–1738.
47. Leardi R. (2002) Chemometrics: from classical to genetic algorithms. *Grasas y Aceites* 53(1): 115-127