

## Formulazioni di diete biologiche, esperienze realizzate

### INTRODUZIONE

Negli ultimi quindici anni sono state sperimentate numerose materie prime per gli alimenti per pesci, con attenzione crescente per quelle di origine vegetale. Questi prodotti garantiscono una maggiore sostenibilità delle produzioni perché riducono la pressione sugli stock ittici base per la produzione delle farine di pesce; inoltre, limitano la concorrenza con altre produzioni zootecniche che utilizzano la farina di pesce come alimento; infine permettono di ridurre i costi di produzione. Queste considerazioni valgono sia per gli alimenti per allevamenti convenzionali sia per quelli biologici. Oggi è difficile che si individui un nuovo alimento semplice e non ci sono più, in modo pressante rispetto al passato, né una domanda né un'offerta di ricerca perché le aziende produttrici sono perfettamente in grado di sperimentare una eventuale nuova fonte disponibile in un mercato ormai globale; i ricercatori non si possono mettere a fare ciò che le aziende fanno già bene.

Esiste una serie di settori di un certo interesse per l'individuazione di nuove fonti di nutrienti; il primo è il recupero degli scarti di macelleria delle aziende che sfilettano e toelettano il pesce che può rappresentare un nuovo ambito di ricerca. Tuttavia è emerso che già oggi quegli scarti sono raccolti da aziende che producono alimenti per animali da compagnia. Un'altra fonte meritevole di attenzione è il krill dei mari artici, il cui studio deve tener conto che è un elemento chiave della catena alimentare dei mammiferi marini e quindi richiede cautela. Forse si potrebbe dedicare un parte delle ricerche alla composizione chimico nutrizionale alle meduse che ormai dominano molti mari

\* *ISPA – CNR Torino*

freddi e alcune specie delle quali sono molto apprezzate da alcune popolazioni orientali. Infine vanno considerate le piante acquatiche e le alghe, micro e macro. Per queste ultima va risolto il problema dei costi di produzione in reattori, mentre una raccolta in mare aperto, dove hanno ciclicamente dei bloom, è sconsigliata per la presenza di tossine molto pericolose.

#### FARINE DI PESCE

Storicamente le acque del Pacifico centro orientale sono le aree a maggior vocazione per la pesca di specie ittiche che entrano nella produzione di farine destinate alla produzione di alimenti per l'acquacoltura. Dal Perù degli anni passati si è passati prima al "pesce bianco" del Mare del Nord per tornare nel Pacifico lungo le coste del Cile.

In passato non tutte le partite di farina di pesce avevano la stessa composizione chimica prossimale.

Nella tabella 1 è riportata, a mo' di esempio, la composizione chimica grezza di una serie di farine di pesce di varia provenienza (Anderson et al., 1997). Come si vede le variazioni possono essere anche importanti, la proteina grezza sul secco oscilla dai 657 g kg<sup>-1</sup> ai 772 g kg<sup>-1</sup>, mentre i lipidi dai 73 ai 150 g kg<sup>-1</sup>; l'energia grezza aveva come limiti minimo 18,7 MJ kg<sup>-1</sup> e massimo 23,4 MJ kg<sup>-1</sup>.

FISH MEAL	AS-IS BASIS		DRY MATTER BASIS		
	Dry matter (g kg <sup>-1</sup> )	Crude protein (g kg <sup>-1</sup> )	Ash (g kg <sup>-1</sup> )	Lipid (g kg <sup>-1</sup> )	Gross energy (MJ kg <sup>-1</sup> )
Herring meal	940	772	136	113	22.0
HM-FF-Lt	977	728	132	134	22.4
HM-FF-Std	961	741	134	120	22.4
HM-FM-Lt	943	770	121	148	22.9
HM-FM-Std	936	733	130	153	23.4
Chilean – Good quality	911	715	155	102	20.8
Ground fish meal	937	679	232	73	18.7
Menhaden meal	959	657	192	129	20.5
Mixed meal	944	656	210	136	20.5
Norse-LT94*	930	775	136	107	21.8
Silver hake	932	720	183	99	20.2

Tab. 1 *Composizione chimica centesimale e dell'energia grezza di alcune farine di pesce (Anderson et al., 1997)*

Oggi lo standard si è alzato e stabilizzato e la composizione delle farine di pesce in commercio è molto più stabile, le proteine sono attorno al 70-72%, ma molto più digeribili rispetto al passato e i lipidi sono al 10%. Inoltre, alcune aziende hanno tecnologie per la riduzione dei contaminanti presenti nelle farine di pesce, ad esempio la microfiltrazione, o per aumentare la conservabilità delle diete estrudendo le miscele in atmosfera controllata che favorisce l'eliminazione dei residui di umidità.

Attualmente la comunità europea valuta che la quota di pesci scartati perché sottotaglia o per lo scarso valore commerciale, sia di quasi il 50% con punte del 70-90% per alcuni tipi di pesca. La possibilità di recuperare nutrienti da questi prodotti della pesca, che altrimenti vengono rigettati in mare con un sia pur minimo danno ambientale, avrebbe un significato anche simbolico importante.

Un'altra risorsa di nutrienti possibile per gli allevamenti biologici può essere rappresentata dagli scarti della lavorazione per la preparazione dei filetti pronti per la Grande Distribuzione Organizzata. Nei visceri di pesci che vengono sfilettati c'è ancora molta energia utile in termini sia di proteina sia di lipidi, anche se questi sono quasi completamente rappresentati a grassi di deposito e cioè trigliceridi. Gli scarti di lavorazione e dell'eviscerazione hanno alti contenuti in proteina, oltre il 70%, e in lipidi, attorno al 20%, ma la variabilità è molto alta; inoltre, i problemi di raccolta e trasporto nei luoghi di produzione delle farine sono rilevanti. Altri problemi nell'uso di questa materia prima in maniera massiccia derivano dalle difficoltà di estrusione ottimale per effetto dell'eccesso di cartilagini.

#### USO DI SORGENTI VEGETALI DI NUTRIENTI

Molte materie prime hanno un utilizzo ad ampio spettro, il mais ad esempio. È un ottimo alimento per tutto il comparto zootecnico e non solo per i pesci, va bene come biofuel, va bene per farne dei film plastici e va bene per l'alimentazione umana. Ma tutte le materie prime sperimentate in passato soffrono/possono soffrire la concorrenza di altri settori, dalla cosmesi alla farmaceutica, alla zootecnia. Forse gli studi sullo stress potenziale di pesci carnivori alimentati con forti quantità di prodotti vegetali, affrontato con le tecniche omiche disponibili, può rappresentare un argomento scientifico interessante, ma dubito che susciti l'interesse dei produttori e non credo, laddove fossero finanziati, rappresentino soluzioni semplici.

Teniamo anche conto che all'inizio dell'avventura dell'acquacoltura marina si è giustamente puntato su specie ad alto valore commerciale: spigola,

orate, salmoni. Ma dopo un periodo di “luna di miele”, come la definì Muir nel 1998, il mercato si è saturato e la competizione ha portato anche a prezzi bassi e alla necessità di forti investimenti; oggi il prodotto greco spunta sui banchi della GDO 8-10 € per kg; recentemente orate di Malta sono state vendute a 5,80 € per kg.

Nel corso degli anni, presso la sezione di Torino dell'ISPA, sono stati sottoposti a test molti vegetali selezionati per contenuto proteico o lipidico: glutine di mais, concentrati proteici di riso e pisello, microalghe (*Isochrysis* e *Spirulina*); Oli di mais, borragine, soia, semi di lino, arachidi (Palmegiano et al., 2008; Gasco et al., 2009).

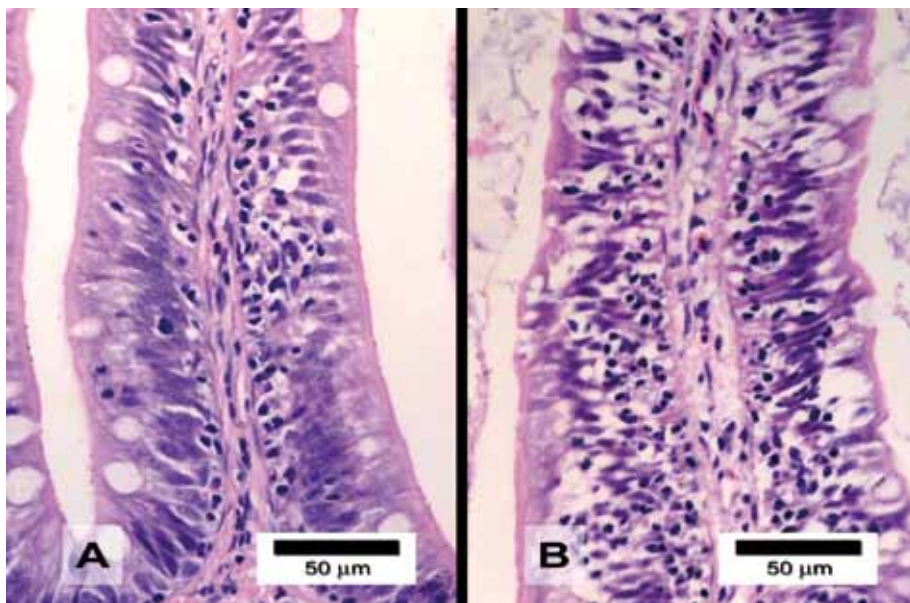
Nella tabella 3 è riportata la composizione centesimale di alcune farine vegetali utilizzate nella formulazione di diete per pesci marini e d'acqua dolce.

Il problema dell'uso, sempre più consistente, di ingredienti vegetali è che essi possono essere poco digeribili, per la presenza di fattori antinutrizionali, o presentare composizione in amino acidi poco equilibrata rispetto alle esigenze dei pesci. Inoltre, in pesci carnivori i vegetali potrebbe indurre uno stress cronico, che non appare immediatamente, dovuto a un corredo enzimatico non adatto alla digestione di nutrienti vegetali. Le tecniche istologiche e istochimiche standard in pesci allevati con diete commerciali non hanno evidenziato alterazioni, ma nel lungo periodo in specie a lungo periodo di ingrasso potrebbero manifestarsi disturbi.

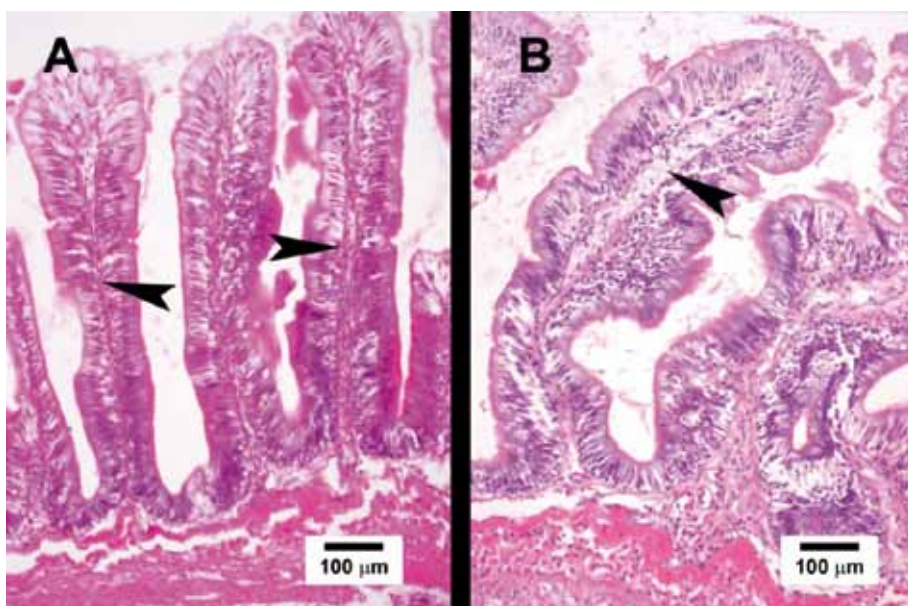
Nelle figure 1 e 2 sono riportati a diverso ingrandimento villi dell'intestino medio di trote alimentate con diete standard (A) e con diete addizionate con lectine di pisello (B). L'immagine A rappresenta una sezione di una trota alimentata con una dieta a base di farina di pesce; l'immagine B è riferita a una trota alimentata con una dieta addizionata con lectine. Sulla sinistra un villo normale

FARINE GREZZA	PROTEINA Grezza (%)	LIPIDI (EE%)	CENERI	ENERGIA (MJkg <sup>-1</sup> )
Glutine di mais	60,8	2,1	1,7	19,6
Glutine di frumento	80,0	2,0	2,0	22,4
Concentrato proteico di riso	75,5	11,2	4,3	23,8
di erba medica	46,8	9,4	12,6	18,0
Pisello proteico	46,5	8,1	2,4	23,0
Soia	49,0	1,7	5,9	18,0
Isochrysis	42,9	18,7	10,1	19,5
Spirulina	61,8	17,0	9,8	20,1

Tab. 2 Composizione grezza di materie prima vegetali utilizzate



*A sinistra villi sani e a destra villi alterati*



*A sinistra villi sani e a destra villi alterati*

Fig. 1 e 2 Sezioni di intestino medio colorata con ematossilina-eosina a maggior e minor ingrandimento

di un pesce alimentato con la dieta A, sulla destra si nota un quadro istologico con gravi cambiamenti della mucosa del villo di un pesce alimentato con la dieta B. La lamina propria della foto B è molto ispessita, con vacuolizzazioni citoplasmatiche e congestione dei vasi sanguigni. Rispetto al quadro A, nello strato della mucosa vi è un forte infiltrato linfocitario, il citoplasma delle cellule della mucosa è più denso e i nuclei delle cellule sono spostati verso il centro del cariosoma. Le lectine inducono in trote forti alterazioni dei quadri istologici.

#### GLI ANTIOSSIDANTI NATURALI

Un capitolo nuovo è quello riguardante le sostanze ad attività antiossidante; finora i prodotti di sintesi usati, quali BHT, BHA Etossichina, sono stati tollerati, ma essi rappresentano il limite maggiore alla produzione di alimenti biologici. La ricerca offre alcune alternative di prodotti naturali sul cui utilizzo si stanno svolgendo molti studi. Molti oli essenziali e alcuni sottoprodotti dell'agricoltura, hanno attività antiossidante e se i risultati saranno quelli attesi tra non molto nei protocolli biologici.

Le farine e gli oli di pesce sono risultano molto instabili in fase di conservazione in particolare gli oli, per il rischio di perossidazione e irrancidimento; pertanto vengono additivati con antiossidanti di sintesi, in particolare Etossichina ma anche BHA e BHT.

Con l'entrata in vigore del REG CE 834/2007 e successivi regolamenti attuativi è nata la necessità di ottenere sostanze ad azione antiossidante in modo da sostituire i classici additivi di sintesi usati in industria mangimistica. Un buon materiale di partenza è fornito dai metaboliti secondari, ad azione protettiva, (spesso composti polifenolici) presenti nei vegetali.

Ai fini della ricerca sono stati valutati sottoprodotti agricoli dell'industria conserviera (scarti della lavorazione del pomodoro), della produzione vinicola (vinacce e vinaccioli) e dolciaria (foglie di noccioline). Su tali sostanze e sulla loro efficacia antiossidante esiste una ben documentata letteratura.

Una tecnica usata frequentemente prevede di generare un catione radicale cromoforo stabile, come il DPPH (difenilpicrilidrazile), e di valutare poi la capacità dell'antiossidante in base alla diminuzione di assorbanza che si osserva in seguito alla cattura del radicale; la reazione che avviene è la donazione di un idrogeno dall'antiossidante (RH) al DPPH. Nella tabella 3 sono riportati i risultati di un test del DPPH sulla capacità antiossidante di alcune materie prime vegetali mediante estrazione acquosa che sottostima il potere antiossidante dei residui di pomodoro (bucce e semi).

DPPH	%
Bucce e semi di pomodoro	3,2
Acqua di vegetazione	6,0
Foglie di nocciolo	43,5
Vinacce e vinaccioli	88,4
Rosmarino	55,3

Tab. 3 *Valori del DPPH di alcuni potenziali antiossidanti*

La misurazione dei TBARS è un saggio d'elezione per il monitoraggio della perossidazione lipidica. I campioni in fase di conservazione hanno a causa della ossidazione lipidica aumenti di idroperossidi e aldeidi, rilevabili con questa metodica. Di seguito si riportano i risultati sullo stato di ossidazione dei tre prodotti di maggior interesse.

Un incremento di pH indica una forte alterazione del prodotto. Un residuo di colorazione può essere determinato dai crotenoidi contenuto in prodotti come il pomodoro e i vinaccioli. Una semplice sperimentazione che prevedeva la messa a contatto dei filetti di trota con alcuni antiossidanti naturali all'inizio della sperimentazione e dopo sei giorni ha dato i risultati riportati nelle tabelle 4, 5 e 6. Nella tabella 4 sono riportati i TBARS, il pH e il colore di filetti di pesce a contatto con estratto acquosi di vinacce e vinaccioli. Come si vede i TBARS del bianco raddoppiano, mentre quelle dei trattati sono pressoché uguali. Il colore invece nella componente rossa ( $a^*$ ) si alza molto denotando un residuo colorato dovuto alle vinacce.

Nella tabella 5 sono riportati i TBARS, il pH e il colore di filetti di pesce a contatto con estratto acquosi foglie di nocciolo; i dati confermano il buono effetto di questi antiossidanti senza residui colorati. Nella tabella 6 è riportato l'effetto dell'olio di rosmarino su TBARS, pH e colore di filetti di trota.

Questa serie di analisi sulle vinacce ci dicono che queste sono molto efficaci come antiossidanti, tuttavia la persistenza del colore, sia pure ridotto, non ci permette ancora di proporre questo sottoprodotto per la produzione.

Oltre alle vinacce e i vinaccioli sono stati studiati altri sottoprodotti dell'agricoltura: l'acqua di vegetazione, l'olio di rosmarino.

La disponibilità sul mercato di olio di rosmarino non adatto al consumo umano (cosmesi, erboristeria) e a prezzi concorrenziali ha consentito di condurre una prova di lungo periodo sull'accrescimento di spigole in cui erano inseriti 200 ppm di olio di rosmarino. Questo olio è considerato un potenziale sostituto degli antiossidanti di sintesi nella produzione di pesci biologici.

Nel corso di questo studio sono state sottoposte a test due diete biologiche (1650 e 2640) integrate con 200 ppm di olio di rosmarini confrontate con una

TBARS	MG MDA/G	PH	L	A*	B*
Bianco T0	1,07±1.87	6,78±0.05	65,49	5,13	14,13
Bianco T6	2,87±0.41	6,64±0.03	61,04	0,07	11,83
Vinacce 1% T6	0,70±0.23	6,61±0.04	51,32	2,56	5,23
Vinacce 3% T6	0,71±0.34	6,56±0.01	47,05	4,69	3,74
Trolox T6	0,99±0.25	6,64±0.14	65,28	3,53	13,13

Tab. 4 *Effetto di estratti di vinacce e vinaccioli sui filetti di trote*

TBARS	MG MDA/G	PH	L	A*	B*
T0	1,08±0.37	6,38±0.10	74,8	3,41	14,7
Bianco T6	2,82±0.10	6,40±0.03	73,4	3,2	15,1
Nocciole 1%T6	1,73±0.27	6,35±0.06	71,6	3,5	13,6
Nocciole 3%T6	1,71±0.24	6,29±0.06	70,9	3,5	17,0
Nocciole 5%T6	1,52±0.42	6,24±0.03	71,4	3,8	16,3
Trolox T6	0,55±0.24	6,50±0.03	72,0	4,0	14,4

Tab. 5 *Effetto di estratti di foglie di nocciolo sui filetti di trote*

TBARS	MG MDA/G	PH	L	A*	B*
T0	0,77±0.23	6,81±0.02	74,46	3,29	14,62
Bianco T6	0,12±0.02	6,84±0.03	71,66	3,37	10,73
olio Rosmarino 1%T6	0,19±0.08	6,89±0.07	76,05	2,35	12,27
olio rosmarino 3%T6	0,04±0.02	6,77±0.02	82,72	0,30	13,07
olio Rosmarino 200 ppm T6	0,18±0.01	6,88±0.03	71,85	3,61	10,89
Trolox T6	0,10±0.02	6,78±0.04	73,63	3,09	11,01

Tab. 6 *Effetto di olio di rosmarino sui filetti di trote*

dieta convenzionale (1754). Le due diete biologiche differivano tra di loro per un diverso rapporto PD/ED, mentre la dieta convenzionale era molto simile alla dieta biologica a minor contenuto di grasso. Queste diete, ben bilanciate sia in aminoacidi sia in acidi grassi, furono somministrate a spigole (European seabass) di circa 300 g. Le curve di crescita presentate nella figura 3 mostrano una migliore risposta di crescita da parte delle diete con antiossidanti naturali rispetto a quella con antiossidanti di sintesi. In particolare la dieta 1650 ha un livello PD/ED molto adatto; è stato dimostrato che il rapporto proteina energia è importante per ottenere buone prestazioni produttive (Cho and Bureau, 2001). L'olio di rosmarino si è dimostrato un buon antiossidante, anche in diete con alto contenuto di sorgenti vegetali, come indicato dai valori di MDA registrati per le diete 1650 e 2640 e è paragonato con la dieta 1754.



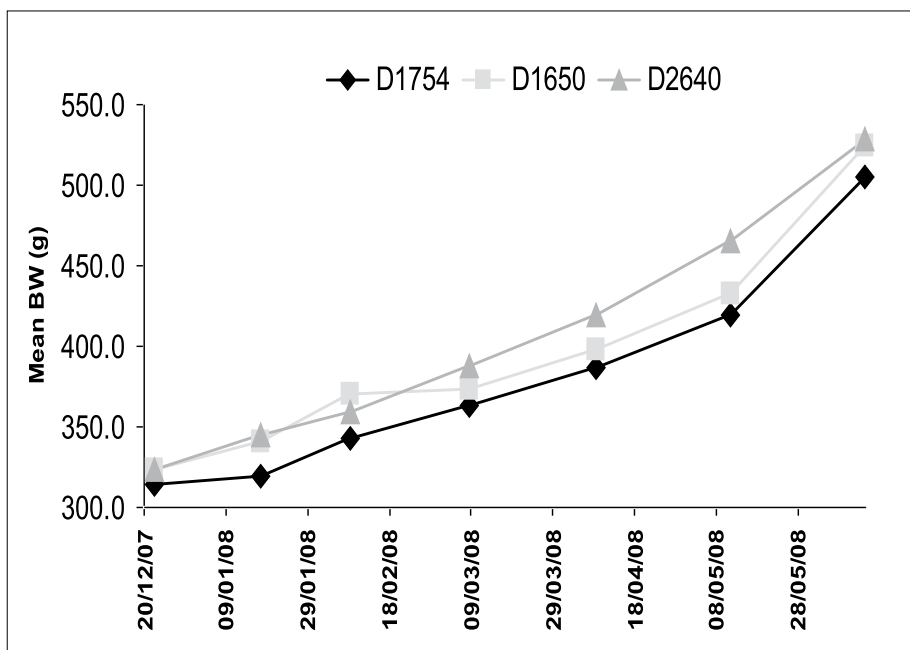


Fig. 3 Curve di crescita delle tre diete nel corso del periodo sperimentale

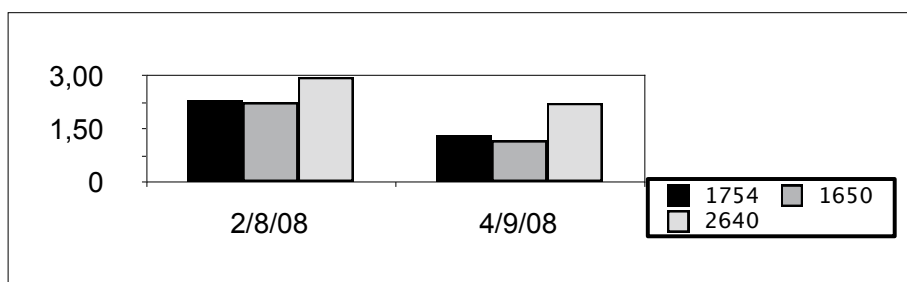


Fig. 4 Andamento degli indici epatosomatici nel corso della sperimentazione

La dieta a più alto contenuto di grasso dovrebbe essere più adatta all'alimentazione in allevamenti in gabbie galleggianti proprio per la maggiore spesa energetica dei pesci dovuta al nuoto. Questa dieta, inoltre, ha il minor contenuto di farina di pesce (49%).

Gli indici epatosomatici (HSI) registrati (fig. 4) per le tre diete nel corso dell'esperimento indicano una riduzione dell'HSI nel corso della sperimentazione, indice di buon stato di salute delle spigole; l'indice dei pesci alimentati con la dieta biologica a maggior contenuto lipidico hanno mostrato sempre valori di HSI più alti, in linea con la quantità di grasso e la dieta biologica

1650 ha avuto la riduzione più evidente che potrebbe essere il sintomo di una migliore condizione di salute.

## CONCLUSIONI

Da quanto sopra riportato emerge l'esigenza di allargare gli orizzonti e ragionare in modo diverso; dobbiamo inquadrare tutte le materie prime vegetali per i pesci dell'intero comparto agricolo e valutarne complessivamente la sostenibilità ad esempio in termini di rotazioni delle colture e di maggese; inoltre, disboscare per avere terreni da coltivare a mais per produrre olio da trazione non è un'attività definibile come sostenibile; dobbiamo anche valutare le singole materie prime vegetali nel complesso del loro utilizzo per evitare la concorrenza di altri settori zootecnici o produttivi. E per le materie prime animali dobbiamo valutarle nell'intero comparto pesca e acquacoltura, dagli scarti di pesca che finiscono in mare prima del rientro in porto ai residui di lavorazione di prodotti ittici in senso lato (teste di gamberi, residui di cefalopodi).

Non esiste una materia prima perfetta né per la sostituzione della farina né per l'olio di pesce. Si può, però trovare un giusto equilibrio tra le varie componenti. Sono in parte oggi disponibili degli antiossidanti naturali e in futuro a breve lo saranno di più.

## RIASSUNTO

Si sono affrontati i problemi presentati dall'uso delle farine di pesce nelle produzioni ittiche biologiche. Sono stati studiati gli effetti di alcuni antiossidanti naturali come potenziali sostituti di quelli di sintesi. Gli estratti acquosi delle foglie di nocciolo e di vinacce e vinaccioli insieme all'olio di rosmarino sono quelli con maggiore potere antiossidante. L'olio di rosmarino è stato anche sperimentato con risultati positivi nell'alimentazione di spigole.

## ABSTRACT

The results of the research highlighted two bottleneck of the organic food chain of the production of organic feed for fish farming: the supplying of fish meal and fish oil, and the natural antioxidants. A possible solution of the reduction of the use of fish meal and oil could be represented by the by product of fillet production and by trash or undersized fish from fisheries. This kind of material is a good source of nutrients, both of protein and of lipids, but with some constraints: chemical composition variability, collection and

transportation to the processing companies in order to obtain meals suitable to animal feeding.

The effects of some natural anti-oxidants in the substitution of chemical origin ones were considered with a study of a selection of plant extracts. Aqueous extracts of the leaves of hazelnuts, grape seeds, tomato peels and seeds and the oils of rosemary, of olive vegetation water showed antioxidant activity determined by means of DPPH% and TBARs. The oil of rosemary has been also tested with positive results in feeding sea bass in a long farming trial.

## BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON J.S., HIGGS D.A., BEAMES R.M., ROWSHANDELI M. (1997): *Fish meal quality assessment for Atlantic salmon (Salmo salar L.) reared in sea water*, «Aquaculture Nutrition», 3, pp. 25-38.
- CHO C.Y., BUREAU D.P. (2001): *A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture*, «Aquaculture Research», 32, pp. 349-360.
- GASCO L., GAI F., LUSSIANA C., PALMEGIANO G.B., ZOCCARATO I. (2009): *Effect of different dietary lipid sources on rainbow trout fillet fatty acids*, «Anim. Sci.», 8 (suppl. 2), p. 890.
- DAPRÀ F., GAI F., PALMEGIANO G.B., PREARO M., SICURO B. (2005): *Histological and physiological changes induced by Red Kidney Bean lectins in the digestive system of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum)*, «Ittiopatologia», 2, pp. 241-258.
- MUIR J.F., YOUNG J.A. (1999): *Strategic issues in new species development for aquaculture*, in Enne e Greppi eds, *New Species for Mediterranean Aquaculture*, «Biofutur Elsevier», pp. 85-96.
- PALMEGIANO G.B., DAPRÀ F., GAI F., SCOLAMACCHIA M. (2008): *Organic feeds vs commercial diet in European seabass Dicentrarchus labrax L.*, 16th IFOAM Organic World Congress, Conference on Organic Aquaculture, Cattolica, Italy, 18-20 June 2008, pp. 51-53.
- PALMEGIANO G.B., GAI F., DAPRÀ F., GASCO L., PAZZAGLIA M. AND PEIRETTI P.G. (2008): *Effects of Spirulina and plant oil on the growth and lipid traits of white sturgeon (Acipenser transmontanus) fingerlings*, «Aquaculture Research», 39, pp. 587-595.
- PALMEGIANO G.B., GAI F., GASCO L., LEMBO G., SPEDICATO M.T., TROTTA P., ZOCCARATO I. (2009): *Partial replacement of fish meal T-Iso in gilthead sea bream (Sparus aurata) juveniles diets*, «Italian J. Anim. Sci.», 8 (suppl. 2), pp. 869-871.
- SICURO B., BARBERA S., DAPRÀ F., GAI F., GASCO L., PAGLIALONGA G., PALMEGIANO G.B., VILELLA S. (2010): *The olive oil by-product in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum) farming: productive results and quality of product*, «Aquaculture Research», doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02514.x

