

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE**

**CORSO DI LAUREA IN CHIMICA INDUSTRIALE**

**ANALISI PTR-ToF-MS DEI COMPOSTI VOLATILI EFFETTUATA SU  
CAMPIONI COTTI E CRUDI DI ORATA (*Sparus aurata*) PROVENIENTI  
DA DIVERSE ORIGINI GEOGRAFICHE**

**Relatore:** Prof. Luca Cappelin

**Laureanda:** Eleonora Moro

2008949

**Anno Accademico 2022/2023**



## INDICE

1. Introduzione.....	1
1.1 Contesto e importanza dello studio dei composti organici volatili.....	1
1.2 Scopo della tesi.....	1
2. Fondamenti teorici.....	2
2.1 Composti organici volatili (VOC).....	2
2.2 Tecnica di analisi dei VOC.....	2
2.2.1 Proton Transfer Reaction-Time of Flight-Mass Spectrometry(PTR-ToF-MS)	4
2.3 Analisi organolettica.....	5
2.4 Orata ( <i>Sparus aurata</i> ).....	6
3. Materiali e metodi.....	7
3.1 Preparazione dei campioni cotti e crudi.....	7
3.2 Analisi PTR-ToF-MS.....	8
3.3 Elaborazione dei dati e analisi statistica.....	9
4. Risultati.....	10
4.1 Campioni crudi di orata provenienti da diverse origini geografiche.....	10
4.2 Campioni cotti di orata provenienti da diverse origini geografiche.....	11
4.3 Analisi dei dati e interpretazione dei risultati.....	13
5. Discussione.....	17
5.1 Implicazione dei risultati.....	17
5.2 Confronto fra campioni cotti e crudi.....	18
5.3 Fattori che influenzano i profili VOC negli alimenti.....	19
5.4 Confronto con studi precedenti.....	20
6. Conclusioni.....	21
7. Bibliografia.....	23



# **1. Introduzione**

## **1.1. Contesto e importanza dello studio dei composti organici volatili (VOC)**

L'aroma è uno dei fattori più importanti per la determinazione della qualità e della freschezza del pesce, due parametri fondamentali per l'accettabilità da parte dei consumatori. I VOC sono spesso responsabili degli aromi caratteristici presenti nei prodotti alimentari e svolgono un ruolo cruciale nell'esperienza sensoriale complessiva; infatti, durante il consumo di cibi e bevande i composti volatili si diffondono nell'aria sopra l'alimento e raggiungono i recettori olfattivi nel naso. Questa interazione induce la percezione dell'aroma specifico degli alimenti. Vengono inoltre analizzati per consentire l'individuazione di alterazioni, frodi o possibili degradazioni, per consentire la sicurezza e per determinare l'origine geografica o il tipo di alimenti. Studiare i composti organici volatili presenti nell'orata cruda e cotta permetterà di identificare e comprendere gli aromi specifici associati a questa specie ittica. Questa analisi contribuisce a determinare la qualità organolettica del pesce e può essere utile nel processo di valutazione della freschezza e della qualità del prodotto, consentendoci di migliorare le tecniche associate alla produzione di questo alimento.

## **1.2. Scopo della tesi**

Nel seguente elaborato si cerca di indagare i profili aromatici di campioni di orata cotti e crudi, i quali provengono da diverse zone geografiche e vengono trattati con diversi metodi di allevamento, per mettere in luce le principali differenze tra orata selvatica e orata di allevamento, proveniente dal mare Adriatico e dal mar Tirreno. Verrà posta l'attenzione su campioni di pesce prelevati in tre diversi momenti dell'anno in modo tale da verificare come può cambiare il profilo aromatico in base alla stagionalità. Verranno confrontati i profili dei campioni di orata crudi con quelli dei campioni cotti: l'analisi delle variazioni dei composti volatili tra le due condizioni permetterà di comprendere come le differenti tecniche di cottura influenzino l'aroma e il profilo sensoriale del pesce. Dai dati raccolti si cercherà di fornire informazioni utili al settore della produzione e commercializzazione: i risultati potrebbero essere utilizzati per migliorare le pratiche di lavorazione e conservazione del pesce, contribuendo a mantenere la qualità e l'autenticità del prodotto offerto sul mercato. Si cercherà inoltre di valorizzare l'utilizzo della tecnica PTR-ToF-MS per l'analisi dei composti volatili, la quale si è rilevata una

tecnica rapida, precisa e non invasiva, ottima per l'analisi simultanea di dataset estesi di composti organici volatili a bassa concentrazione.

## **2. Fondamenti teorici**

### **2.1. Composti organici volatili**

I VOC sono molecole chimiche a base di carbonio che presentano una elevata pressione di vapore a temperatura ambiente, il che significa che evaporano facilmente trasformandosi in gas o vapori. Questi composti sono presenti in una vasta gamma di sostanze naturali e sintetiche e hanno un'importante influenza su molti aspetti della nostra vita quotidiana. Sono costituiti principalmente da atomi di carbonio, idrogeno e possono includere anche altri elementi come ossigeno, azoto o zolfo. Hanno generalmente una bassa massa molecolare, il che facilita la loro evaporazione e diffusione nell'aria. I composti organici volatili sono generati da diverse reazioni chimiche e processi biochimici che avvengono durante la preparazione, la produzione, la conservazione e la cottura degli alimenti. Alcune delle principali reazioni che producono i VOC sono la glicolisi, la fermentazione, la lipolisi, la reazione di Maillard, le reazioni enzimatiche sugli acidi grassi polinsaturi, l'autossidazione lipidica, l'azione microbica e la degradazione termica. Questi tipi di reazioni producono diverse classi di composti organici volatili come carbonili, aldeidi e chetoni, alcoli, aromatici, alcani, terpeni, esteri, pirazine, furani e acidi che sono responsabili della freschezza, della qualità legate agli odori o ai sapori degli alimenti. Il contributo dei composti organici volatili dipende dalla loro concentrazione e dai loro valori soglia di riconoscimento che sono tipicamente tabulati e riportati in letteratura.

### **2.2. Tecniche di analisi dei VOC**

In letteratura esistono diversi metodi per analizzare i composti organici volatili, consentendo la loro identificazione e quantificazione all'interno del campione.

- a) Cromatografia a gas (GC): La cromatografia a gas è uno dei metodi più ampiamente utilizzati per analizzare i VOC. Il campione viene vaporizzato e iniettato all'interno di una colonna capillare, dove i componenti si separano in base alle loro proprietà fisiche e di affinità con la fase stazionaria. Questa tecnica viene solitamente accoppiata con rilevatori come il rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) o il rivelatore di massa (MS)

- b) Cromatografia liquida (LC): La cromatografia liquida può essere utilizzata per analizzare i composti volatili, ma in questo caso è necessario trasformare il campione in una forma liquida prima dell'analisi. Questo metodo può essere utilizzato quando la volatilità dei composti è limitata oppure quando si utilizza un derivatizzante.
- c) Spettrometria di massa (MS): La spettrometria di massa è una tecnica molto potente per identificare i composti volatili. I composti vengono ionizzati e la massa delle particelle cariche viene misurata per determinare la loro identità.
- d) Spettroscopia infrarossa (FTIR): La spettroscopia infrarossa può essere utilizzata per identificare i composti organici volatili sulla base delle interazioni tra i legami molecolari e le radiazioni infrarosse.
- e) Spettroscopia UV-Vis: La spettroscopia ultravioletta-visibile può essere utilizzata per analizzare alcuni composti organici volatili che assorbono la luce in questa regione dello spettro elettromagnetico.

Ogni metodo ha i suoi vantaggi e limitazioni, e la scelta dipenderà dalla specifica applicazione e dai composti organici volatili che devono essere analizzati. In molti casi possono essere usate più tecniche in combinazione per ottenere una maggiore comprensione dei VOC presenti in un campione. Il *gold standard* utilizzato come tecnica di analisi dei VOC è l'accoppiamento GC-MS; dove la gascromatografia separa i composti volatili in base al loro tempo di ritenzione nella colonna cromatografica e la spettrometria di massa fornisce degli spettri caratteristici per ogni composto. I vantaggi associati sono la facilità di preparazione, la dimensione ridotta del campione e la presenza di bassi livelli di interferenza. I composti volatili possono essere identificati confrontando i loro spettri di massa con quelli di un database di spettri commerciale o con librerie interne al laboratorio. Inoltre, dal tempo di ritenzione si possono derivare degli indici, quale, ad esempio, il Linear Retention Index, che possono essere confrontati con valori presenti in letteratura per lo stesso composto e rafforzarne così l'identificazione. Alcune delle identificazioni sono confermate con l'iniezione di standard chimici specifici nel sistema GC-MS (Alasalvar, 2005). La gascromatografia-spettrometria di massa ha guadagnato popolarità come tecnica efficace, sensibile e rapida per l'isolamento dei composti organici volatili, diventando una delle tecniche più utilizzate in letteratura per questo tipo di analisi. Tuttavia, uno dei limiti della tecnica GC-MS è il tempo di analisi, tipicamente 40-60 minuti a campione. Ciò limita il numero di campioni che si riesca ad analizzare.

### 2.2.1. Proton Transfer Reaction-Time of Flight-Mass Spectrometry (PTR-ToF-MS)

Proton Transfer Reaction – Mass Spectrometry (PTR-MS) è uno dei metodi più utilizzati per il monitoraggio in tempo reale di composti organici volatili a basse concentrazioni. I principali vantaggi che presenta questa tecnica sono:

- a. Rilevazione in tempo reale e simultanea di centinaia di composti organici volatili
- b. Limiti di rilevabilità più bassi (LOD), nell'ordine di parti per milione di volume (ppbv).
- c. Tempo di risoluzione da circa 0,1 secondi a pochi minuti, a seconda del detector di massa utilizzato
- d. Tecnica non invasiva e senza nessuna preparazione del campione: il campione gassoso viene analizzato direttamente senza pretrattamenti
- e. Quantificazione delle concentrazioni di VOC, anche senza calibrazione con l'aggiunta di uno standard
- f. Ionizzazione chimica leggera, per ridurre la frammentazione e la complessità spettrale
- g. Rilevazione di composti organici volatili in campioni liquidi o solidi tramite analisi dello spazio di testa o altre interfacce

Il campione gassoso contenente i VOC viene campionato direttamente nello strumento PTR-MS. Questo è composto da una sorgente basata su una scarica a bagliore che produce gli ioni primari. Nella configurazione standard, vapore acqueo è utilizzato della sorgente per produrre ioni  $\text{H}_3\text{O}^+$  con un alto grado di purezza. Gli ioni primari sono immessi nella camera di reazione tramite dei campi elettrici. Nella stessa camera viene immesso continuamente anche un flusso del campione gassoso contenente i VOC da analizzare. I VOC in fase gassosa vengono ionizzati mediante il trasferimento di un protone da  $\text{H}_3\text{O}^+$  alle molecole VOC. Gli ioni  $\text{VOC}\cdot\text{H}^+$  prodotti in questa reazione vengono immessi tramite dei campi elettrici in un analizzatore di massa. Affinché avvenga la reazione di trasferimento protonico, la molecola deve avere un'affinità protonica maggiore rispetto all'acqua. Questo è vero per molti dei VOC di interesse, mentre non lo è per i componenti principali dell'aria che quindi non vengono rivelati e non saturano il detector. Questa caratteristica permette di analizzare i VOC in aria in tempo reale senza bisogno di una separazione cromatografica. Nelle ultime evoluzioni, è anche possibile utilizzare altri ioni primari con lo strumento PTR-MS, invece di  $\text{H}_3\text{O}^+$ .



Esempi comuni sono  $O_2^+$  o  $NO^+$ , ma sono possibili anche altri ioni. Questa capacità estende la gamma di composti che possono essere rilevati per includere VOC che hanno un'affinità protonica inferiore a quella dell'acqua. Il passaggio rapido tra ioni reagenti può essere utilizzato anche per separare alcuni composti isomerici (molecole contenenti gli stessi atomi, ma con conformazione diversa), che hanno reattività diversa con i vari ioni reagenti. Gli ioni prodotti vengono frammentati in maniera molto limitata e vengono rilevati da un analizzatore di massa che consente l'identificazione dei VOC in base al loro rapporto massa/carica ( $m/z$ ) e la determinazione delle loro concentrazioni in base all'intensità del segnale registrato. I primi strumenti PTR-MS utilizzavano analizzatori di massa a quadrupolo. Gli analizzatori di massa a quadrupolo hanno in genere una risoluzione di massa unitaria, il che significa che non possono risolvere ioni che hanno lo stesso rapporto massa/carica nominale. Di conseguenza è diventato comune negli ultimi anni l'uso di analizzatori di massa a tempo di volo (ToF). Gli analizzatori di massa ToF separano gli ioni in base alle differenze nelle loro velocità dopo l'accelerazione di un potenziale fisso. Misurano intrinsecamente tutti i rapporti massa-carica simultaneamente e quindi sono degli analizzatori ottimi per qualsiasi analisi PTR-MS che intenda misurare molte specie VOC diverse. Inoltre, gli analizzatori di massa ToF possono avere un potere di risoluzione di massa molto più elevato rispetto agli analizzatori di massa a quadrupolo, fornendo così la possibilità di separare molti VOC isobarici e di derivare la formula molecolare dei composti registrati. I sistemi PTR-MS basati su ToF forniscono anche una migliore risoluzione temporale (fino a 0,1 secondi) e un esteso intervallo di massa ( $>1000$  Th).

### **2.3. Analisi organolettica**

È noto che i composti organici volatili sono responsabili degli odori e degli aromi distintivi di molti prodotti e di molti alimenti. La loro determinazione può avvenire anche usando dei metodi alternativi ai metodi strumentali, che consistono nello studio dell'aroma e del gusto. Questo tipo di analisi viene chiamata analisi organolettica che è un tipo di valutazione sensoriale che coinvolge l'uso dei sensi umani, come la vista, l'olfatto, il gusto e il tatto, per valutare le caratteristiche organolettiche di un prodotto o di una sostanza. Questa analisi viene spesso utilizzata nell'industria alimentare. Le caratteristiche organolettiche di un prodotto possono includere l'aspetto visivo come l'osservazione di fattori come il colore, la trasparenza, la brillantezza, la forma e la consistenza del prodotto, l'odore per la rilevazione di note aromatiche o eventuali odori

sgradevoli, la valutazione del gusto che coinvolge il rilevamento delle sensazioni gustative come dolce, salato, amaro, acido e umami, e consiste anche nella valutazione dell'intensità di queste sensazioni, e infine la valutazione del tatto che riguarda la percezione della consistenza, della morbidezza, della ruvidità, della viscosità e di altre sensazioni tattili associate al prodotto. L'analisi organolettica viene spesso eseguita da un gruppo di assaggiatori addestrati, noti come "pannello organolettico", che valutano i campioni in modo oggettivo e sistematico, registra le percezioni sensoriali rilevate durante l'analisi e le compila in un profilo aromatico che descrive le diverse note aromatiche e gustative presenti nel campione. In seguito queste valutazioni vengono analizzate per ottenere informazioni sulla composizione dei VOC nel campione e per comprendere come contribuiscono agli odori e agli aromi complessivi dell'alimento. I risultati dell'analisi organolettica possono fornire informazioni preziose sulle caratteristiche qualitative del prodotto e possono essere utilizzati per scopi di controllo qualità, miglioramento del prodotto e per garantire la conformità agli standard di produzione. Tuttavia, l'analisi organolettica ha alcune limitazioni, poiché le percezioni sensoriali possono variare tra individui e possono essere influenzate da fattori come il contesto, la cultura e le esperienze personali. Pertanto, è importante adottare procedure standardizzate e criteri di valutazione ben definiti, per ottenere risultati affidabili e riproducibili.

#### **2.4. Orata (*Sparus aurata*)**



L'orata è un pesce d'acqua salata che appartiene alla famiglia degli Sparidi, ha un corpo allungato e compresso lateralmente, con una testa relativamente grande e una bocca ampia. La sua pelle è di colore argenteo con sfumature dorate o verdastre sul dorso. Spesso presenta anche delle striature verticali scure lungo i fianchi. È una delle principali specie ittiche marine allevate lungo la costa mediterranea e sulla costa atlantica orientale, ma può essere trovato anche in altre parti del mondo grazie all'allevamento in acquacoltura. È un pesce che vive generalmente in acque basse e

vicino alla costa, preferendo fondali sabbiosi o rocciosi. L'orata di allevamento è caratterizzata da un sapore più delicato e da una carne bianca, mentre l'orata selvatica possiede un aroma più deciso dovuto alla carne più scura per una maggiore quantità di muscoli scuri necessari per il movimento. L'Italia e la Spagna sono i maggiori consumatori, rappresentando insieme circa l'81% del consumo totale dell'UE di questa specie. La popolarità dell'orata è dovuta alla sua elevata qualità nutrizionale, all'aroma e al gusto caratteristici. La composizione dell'orata può variare leggermente in base all'età, all'alimentazione e alla stagione. È costituita principalmente da proteine di alta qualità, che forniscono gli amminoacidi essenziali necessari per il corretto funzionamento del corpo umano, grassi, anche se è un pesce relativamente magro contiene tra il 2% e il 5% di grassi polinsaturi (inclusi gli acidi grassi omega-3), una quantità ridotta di carboidrati, vitamine (vitamine del gruppo B le quali svolgono un ruolo importante nel metabolismo energetico, nella salute del sistema nervoso e nella formazione dei globuli rossi) e minerali (potassio, fosforo, selenio e magnesio). Il suo consumo è aumentato e anche l'allevamento è aumentato negli ultimi anni, ma la cattura selvatica è rimasta pressoché costante perché si ritiene generalmente che i pesci selvatici possiedano un aroma e un gusto più desiderabili, rispetto agli esemplari di allevamento.

### **3. Materiali e metodi**

#### **3.1. Preparazione dei campioni cotti e crudi**

Per svolgere la seguente ricerca i campioni di orata selvatica (zona di pesca: Mediterraneo, vicino alle coste della Turchia) sono stati raccolti tre volte in mesi diversi (09/08/18; 13/09/18; 18/10/18). I campioni di orate d'acquacoltura sono stati raccolti nelle medesime date da due siti di allevamento:

- a. Allevate nel mar Tirreno italiano (allevamento in mare)
- b. Coltivate nel mare Adriatico (allevamento in mare)

Le orate dei due allevamenti sono state alimentate secondo lo stesso protocollo, ovvero con la stessa quantità di cibo e la stessa dieta, quest'ultima poteva però variare a seconda dell'ambiente in cui viene allevata l'orata a causa dell'inquinamento del mare o dalla presenza di alghe e altri organismi.

In ogni raccolta sono stati campionati e immediatamente congelati cinque diversi pesci. L'analisi è stata effettuata sui filetti di orata prelevati dalla parte dorsale del pesce. Sono stati prelevati 3 g per tutti i cinque pesci di ogni categoria e sono stati poi campionati in triplicato e messi in fiale da 22 mL a 10°C e conservati a -80°C prima dell'analisi. Il giorno dell'analisi tutti i campioni sono stati scongelati a 4°C e successivamente ciascuna fiala è stata incubata a 25°C per 25 min e poi misurata per 1 min. Per i campioni cotti la cottura è stata simulata incubando ciascuna fiala a 70°C per 25 min e raffreddando a 25°C per 25 min. I 70°C sono stati selezionati come temperatura di cottura perché la temperatura ideale per la cottura dell'orata si trova tra i 60-70°C. Complessivamente i campioni di orata ricavati e misurati sono stati 162.

### **3.2 Analisi PTR-ToF-MS**

L'analisi dei VOC è stata eseguita utilizzando uno strumento commerciale PTR-TOF 8000 acquistato da Ionicon Analytik GmbH (Innsbruck, Austria), dotato di uno spettrometro di massa a tempo di volo (ToF) di ToFwerk AG (Thun, Svizzera). Il PTR-ToF-MS è stato accoppiato con un campionatore automatico GC adattato (MPS Multipurpose Sampler, Gerstel) al fine di ottenere l'automatizzazione e la standardizzazione delle misurazioni. L'autocampionatore includeva un vassoio termostato che manteneva le fiale a temperatura controllata. Il campionamento dei volatili nello spazio di testa è stato eseguito automaticamente iniettando nello spazio di testa del campione aria priva di VOC (40 sccm) per 60 secondi attraverso un ago riscaldato a 40 °C e fornendo il deflusso attraverso un secondo ago riscaldato (40 °C) all'ingresso del PTR-ToF-MS. Le fiale sono state campionate in ordine casuale e ciascuna misurazione è durata 1 minuto con un tempo di attesa di 5 minuti tra i campioni per evitare effetti di memoria. Il PTR-ToF-MS è stato utilizzato in modalità ione primario  $H_3O^+$ . Nella camera di ionizzazione dello strumento sono state impostate le seguenti condizioni: pressione di 2,8 mbar, tensione di 628 V, temperatura di 110°C, portando a un valore  $E/N$ , dove  $E$  corrisponde all'intensità del campo elettrico e  $N$  alla densità del numero di gas, di circa 130 Townsend ( $Td$ ;  $1 Td=10^{-17} Vcm^2$ ). Gli ioni primari e prodotti che escono dalla regione del tubo di deriva sono stati rilevati utilizzando uno spettrometro di massa ToF, utilizzato nella sua configurazione standard (modalità  $V$ ). Ogni acquisizione consisteva in 350.000 canali con un tempo di campionamento per canale di acquisizione ToF di 0,1 ns, lo spettro di massa risultante possedeva fino a  $m/z = 400$ . Ogni singolo spettro era la somma di circa 28.600

acquisizioni della durata di 35  $\mu$ s, risultando in una risoluzione temporale di 1 s. Poiché il tempo di analisi per ciascun campione è stato impostato su 1 min, sono stati acquisiti 60 spettri per ciascun campione durante ciascuna misurazione.

### **3.3 Elaborazione dei dati e analisi statistica**

Gli spettri PTR-ToF-MS sono stati elaborati secondo la metodologia riportata da Cappellin et al. (2011a) , con lievi modifiche. Come prima fase dell'elaborazione dei dati, le distorsioni del segnale relative al tempo morto del rivelatore sono state ridotte utilizzando un approccio di correzione basato sulla statistica di Poisson, secondo Cappellin et al. (2011b). Poiché la calibrazione esterna fornita dal software di acquisizione non ha raggiunto una precisione di massa sufficiente, la calibrazione della massa interna è stata eseguita secondo Cappellin et al. (2010) ed è stata ottenuta una precisione di massa superiore a 0,001 Th. La successiva elaborazione dei dati inclusi riduzione del rumore, rimozione della linea di base ed estrazione dell'intensità di picco è stata effettuata secondo Cappellin et al. (2011a) utilizzando gaussiane modificate per adattarsi ai picchi spettrali. Le concentrazioni di VOC nello spazio di testa, espresse in ppbv (parti per miliardo in volume), sono state stimate dal segnale integrato nel minuto di acquisizione degli spettri utilizzando la formula descritta da Lindinger et al. (1998), considerando nei calcoli l'idronio  $\text{H}_3\text{O}^+$  come ione primario e un coefficiente di velocità di reazione costante di  $2 \times 10^{-9} \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$ . Questo approccio introduce un'incertezza sistematica fino al 30% che può essere eliminata, se il coefficiente di reazione effettivo è noto.

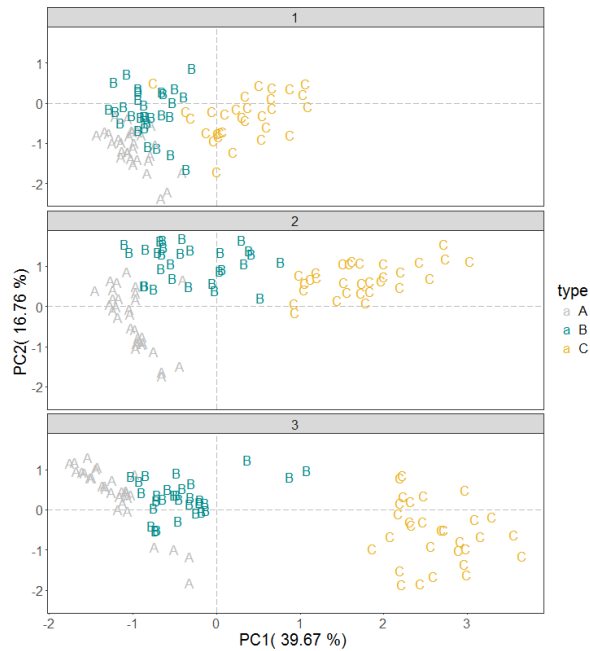
L'analisi delle componenti principali (PCA) è stata applicata ai dati dei composti volatili dopo che le variabili sono state ridimensionate alla varianza unitaria utilizzando un software interno scritto in R. I dati sono stati sottoposti all'analisi della varianza unidirezionale (ANOVA) e il livello per la significatività delle differenze è stato fissato a  $P < 0,05$ .

## 4. Risultati

### 4.1. Campioni crudi di orata provenienti da diverse origini geografiche

La figura 1 mostra il risultato di un'analisi PCA effettuata sui dati relativi ai campioni di orata cruda proveniente dal mar Adriatico (A), dal mar Tirreno (B) e l'orata selvatica (C). Il grafico mette in luce fin dall'inizio la presenza di una marcata differenza nella concentrazione dei composti organici volatili tra le orate crude di allevamento e l'orata cruda selvatica. Si può notare che questa differenza è presente a tutti i tempi di campionamento (agosto, settembre, ottobre) e diventa ancora più marcata con l'aumentare della stagionalità: nell'ultima parte del grafico, la quale rappresenta il campionamento di ottobre, si nota infatti, come le concentrazioni dei composti organici volatili dell'orata selvatica cruda (C) differiscano notevolmente da quelli delle orate di allevamento. Questo è in accordo con le differenze sensoriali riscontrate dalla comunicazione personale da parte dell'azienda, la quale afferma che l'orata selvatica possiede un gusto diverso e più deciso rispetto a quello delle orate da allevamento. Per quanto riguarda le orate allevate, all'inizio del campionamento non sono presenti grandi differenze nella concentrazione dei composti organici volatili, e questo è dovuto al fatto che le orate vengono alimentate con una dieta e con metodi di allevamento simili, ma con l'aumentare della stagionalità si iniziano a notare alcune differenze probabilmente dovute al fatto che con l'aumentare del tempo nella vita del pesce possono variare importanti fattori come la dieta che può essere influenzata dalla diversa disponibilità di risorse alimentari presenti nei diversi mari, come alghe o la presenza di diversi organismi marini, o come la composizione dell'acqua, i due mari possono infatti avere composizioni chimiche diverse. Gli elementi presenti nell'acqua e le caratteristiche del sedimento possono influenzare la composizione chimica e il profilo aromatico delle piante marine e degli organismi presenti nell'habitat dell'orata. Possono cambiare, nel corso del tempo, anche le condizioni climatiche tra le due regioni, le interazioni con altre specie marine e l'inquinamento dei mari. Tutti questi fattori contribuiscono alla variazione dei composti organici volatili presenti nei due campioni di orate di allevamento.

Figura 1: Campioni di orata cruda proveniente dal mar Adriatico (A), dal mar Tirreno (B), o selvatica (C). Score plot con le prime due componenti principali costruite con tutti i campioni crudi. Per chiarezza espositiva i campioni appartenenti ai diversi tempi di campionamento (denotati con 1=agosto, 2=settembre, 3=ottobre) sono riportati in grafici separati.



## 4.2. Campioni cotti di orata provenienti da diverse origini geografiche

La figura 2 mostra uno score plot delle prime due componenti dell'analisi PCA, relativi alle concentrazioni dei composti organici volatili dei campioni di orata cotta prelevati nei diversi mesi di campionamento. Esso mette in luce che dopo la fase di cottura del pesce, in cui avvengono diverse reazioni chimiche e trasformazioni per l'aumento di temperatura, diminuiscono le differenze tra i composti organici volatili presenti nelle orate di allevamento e nelle orate selvatiche. Nel campionamento di agosto vengono mantenute le differenze tra orata allevata e orata selvatica e si nota anche una parziale differenza tra i due allevamenti che non sono più sovrapposti come nei campioni crudi, ma con l'aumento della stagionalità si inizia a vedere una più netta separazione tra le due specie allevate e un progressivo avvicinamento soprattutto tra le orate allevate nel mar Tirreno e quelle selvatiche; nell'ultima parte del grafico, che rappresenta il campionamento di ottobre si riscontra infatti una sovrapposizione tra i campioni B e i campioni C e una parziale sovrapposizione anche dei campioni A. Questo risultato mette in luce che le variazioni che avvengono durante la cottura portano a una parziale somiglianza tra le due orate nel loro profilo aromatico. Questo dato risulta molto importante per gli allevatori poiché la diminuzione delle differenze tra i composti organici

volatili delle orate allevate e quelle selvatiche porta a caratteristiche sensoriali simili tra le due specie. In figura 3 vengono riportati alcuni esempi di VOC che cambiano nel corso della cottura. I boxplot ci mostrano come durante la fase di cottura le concentrazioni dei VOC possono cambiare e contribuire alla modifica del profilo aromatico di questo esemplare.

Figura 2: Campioni cotti di orata proveniente dal mar Adriatico (A), dal mar Tirreno (B), o selvatica (C). Score plot con le prime due componenti principali costruite con tutti i campioni cotti. Per chiarezza espositiva i campioni appartenenti ai diversi tempi di campionamento (denotati con 1=agosto, 2=settembre, 3=ottobre) sono riportati in grafici separati.

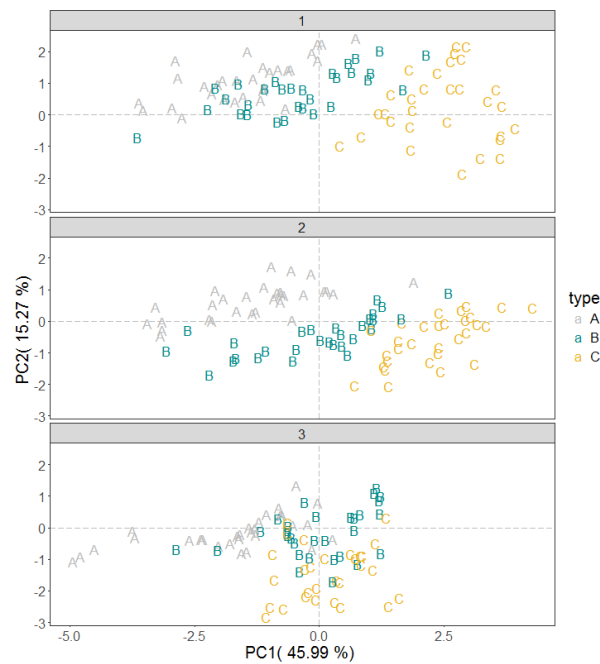
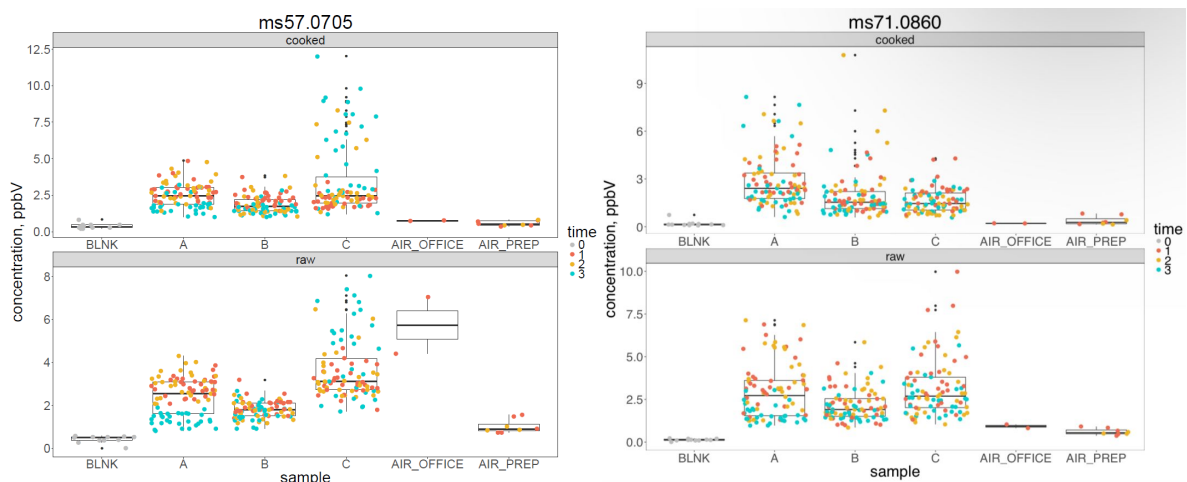


Figura 3: Boxplot di confronto tra le concentrazioni di butanolo (a sinistra) e di pentanolo (a destra) trovati negli esemplari di orata cotta e cruda





### 4.3. Analisi statistica dei dati e interpretazione dei risultati

I dati ricavati dall'analisi statistica effettuata sui tre campioni di orate in tre diversi periodi di campionamento mostrano, sia nei campioni crudi che in quelli cotti, un andamento che dipende dal tipo di allevamento, dalla stagionalità e dalla loro interazione con l'ambiente in cui vivono. In base al livello di trimetilammina ( $m/z=60.081$ , ione  $C_3H_{10}N^+$ ) e composti contenenti zolfo riportati in figura 4, si è dimostrato che i campioni di pesce erano ugualmente freschi.

Figura 4: Boxplot dei livelli di trimetilammina e alcuni composti solforati presenti nelle orate in base all'origine. Campioni appartenenti a esemplari di pesce diversi sono riportati con colori differenti.

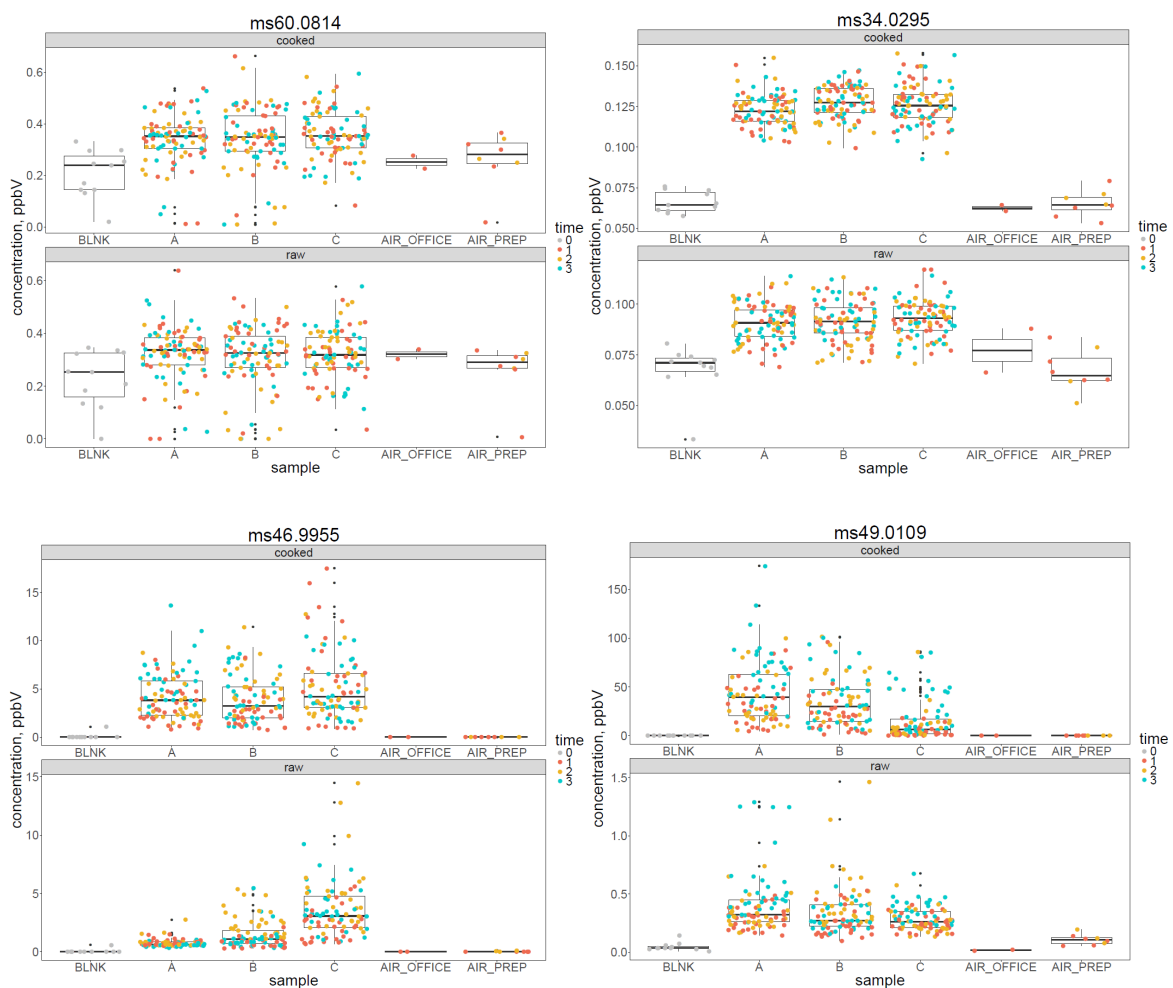


Tabella 1: Picchi spettrometrici con intensità più alte rilevate nell'orata cruda e cotta selvatica

m/z	ione	identificazione tentativa	P vario	A	B	C	A media	B media	C media
91,0743	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> H <sup>+</sup>	Butandiolo o cluster di butanale	9,30E-23	b	b	a	0,367255	0,37726	0,966853
73,0655	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> OH <sup>+</sup>	butanale, isobutilaldeide	3,79E-21	b	b	a	6,245595	7,034387	19,711080
33,0340	CH <sub>4</sub> OH <sup>+</sup>	metanolo	1,77E-18	c	b	a	24,34515	28,47038	35,11017
57,0704	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> <sup>+</sup>	butanolo, frammenti di alcol pesanti	3,45E-07	b	b	a	1,615027	1,336873	2,6891
59,0489	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> OH <sup>+</sup>	Acetone o propanale	1,07E-06	b	b	a	70,4307	67,6609	195,6873
139,1477	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> <sup>+</sup>	decanale o altri	1,70E-09	b	b	a	0,012691	0,013167	0,01872
64,0299	C[ <sup>13</sup> ]CH <sub>6</sub> SH <sup>+</sup>	isotopi del dimetil solfuro	2,14E-10	b	b	a	0,602545	0,747853	2,544787
129,1292	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> OH <sup>+</sup>	2-ottanone	8,59E-13	b	b	a	0,098567	0,067845	0,141569
140,2234	C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> O <sup>+</sup>	E-2-nonenale	2,54E-19	b	b	a	0,049564	0,062512	0,160742
46,9754			9,37E-08	b	b	a	0,029668	0,036727	0,06386
42,0212	CH <sub>2</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup>		6,21E-13	c	b	a	0,260173	0,304433	0,35466
61,0102	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> SH <sup>+</sup>		9,04E-13	b	b	a	0,530532	0,619953	2,181087

In riferimento alla tabella 1, nei campioni di pesce selvatico sono stati identificati i picchi spettrometrici con intensità più alte assegnandoli a composti organici come butanale, butanolo, butandiolo isobutirraldeide, acetone o propanale, metanolo e alcuni altri composti, prevalentemente VOC contenenti zolfo o azoto, la cui identificazione non è ancora del tutto chiara. In particolare, è stata riscontrata nel pesce selvatico una maggiore concentrazione di E-2-nonenale e 2-ottanone e anche una maggiore concentrazione di m/z 59.0489 che può essere identificato come acetone o propanale. La concentrazione di questi composti aumenta in modo significativo con la cottura, come si può vedere in figura 5 e 6, che mette a confronto le concentrazioni dei composti aventi come formula C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>H<sup>+</sup> (butandiolo), in figura 5 e C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>O<sup>+</sup> (butanale), in figura 6, dopo la fase di cottura.

Figura 5: Boxplot di confronto delle concentrazioni di butandiolo (C4H10O2H+) rilevate nelle orate cotte e crude in base all'origine. Si evidenzia una maggior presenza del composto nelle orate selvatiche (C). Si nota un aumento della concentrazione di questo composto con la cottura.

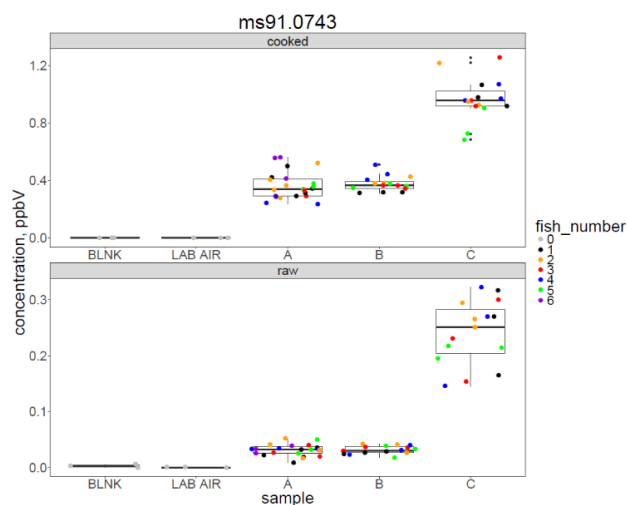


Figura 6: Boxplot di confronto delle concentrazioni di butanale (C4H9O+) rilevate nelle orate cotte e crude in base all'origine. Si evidenzia una maggior presenza del composto nelle orate selvatiche (C). Si nota un aumento della concentrazione di questo composto con la cottura.

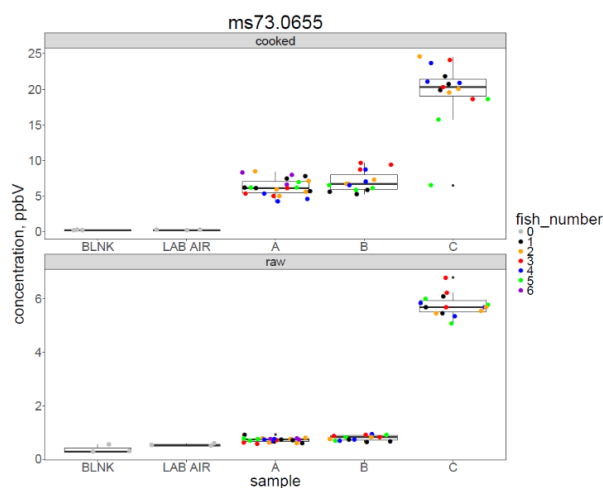


Tabella 2: Picchi spettrometrici con intensità più alte rilevate nell'orata cruda e cotta allevata nel mare Adriatico.

m/z	ione	identificazione tentativa	P vario	A	B	C	A media	B media	C media
121,1025	C9H13+	1,3,5-Trimetilbenzene	4,57E-25	a	b	b	1,578227	0,25002	0,250067
135,1178	C10H15+	HO-Trienolo*	4,05E-23	a	b	b	0,367564	0,097813	0,10622
107,0865	C8H10H+	Etil Benzene*, p-Xilene*, m-Xilene*	1,84E-19	a	b	b	5,030905	2,549973	2,00566
133,1021	C10H13+	Timolo	3,26E-18	a	b	b	0,081755	0,038893	0,036587
109,1024	C8H13+	octanale	1,60E-16	a	b	b	1,590295	0,892573	0,622173
95,0486	C6H6OH+	fenolo	1,35E-14	a	b	b	0,689964	0,577613	0,562533
79,0562	C6H7+	Benzene	2,63E-14	a	b	b	1,465118	0,898147	0,727107
147,1182	C11H15+	timolo metil estere o altri	1,73E-13	a	b	b	0,03	0,018613	0,017487
93,0706	C7H9+	toluene/ trans-2-trans-4-eptanale	2,35E-08	a	b	b	2,023914	1,007933	0,825
91,0551	C7H7+	alcool benzilico	9,12E-08	a	b	b	0,686859	0,430367	0,375487

Tabella 3: Picchi spettrometrici con intensità più alte rilevate nell'orata cruda e cotta allevata nel mar Tirreno.

m/z	ione	identificazione tentativa	P vario	A	B	C	A media	B media	C media
82,0715	C5[13]CH9+	isotopo della massa 81.07	3,20E-08	b	a	b	0,106764	0,14344	0,1033
139,1132	C9H14OH+	Pentafurano o altri	3,72E-08	b	a	b	0,081818	0,106673	0,059053
81,0699	C6H9+	Frammenti di aldeidi (Esanale); frammenti di terpeni (Linalolo)	2,08E-07	a	a	b	1,289605	1,491127	0,90632
137,1339	C10H17+	1,8-cineolo*, Linalolo*, 4- Terpineolo*, alpha Terpineolo*, Nerolo*, Geraniolo*	2,84E-07	ab	a	b	0,389423	0,497287	0,263013
89,0602	C4H8O2H+	acetato di etile*	5,10E-07	b	a	b	0,3313	0,461373	0,25834
46,0377	C[13]CH4OH+	isotopo dell'acetaldeide	6,01E-07	a	a	b	6,276168	7,466307	4,058573
151,1492	C11H19+	2-Undecenale o altri	5,70E-06	b	a	b	0,020423	0,03256	0,020253

Dai dati riportati in tabella 2 si può notare che l'orata allevata nell'Adriatico risulta più ricca di composti monoterpenici degli oli essenziali come il timolo e di composti aromatici, come il benzene, il fenolo, il trimetilbenzene, il toluene e lo xilene che sono solitamente associati al metabolismo dei carotenoidi, derivanti dalle alghe che crescono all'interno delle vasche di allevamento marino, o alla degradazione termica di zuccheri e amminoacidi, o direttamente presenti nell'ambiente in cui vivono. I composti che si contraddistinguono perché presentano picchi spettrometrici con intensità più alta nell'orata del mar Tirreno sono riportati in tabella 3 e sono alcuni isotopi dell'acetaldeide, dell'acetato di etile, e numerosi terpeni come l'1,8-cineolo, il linalolo o il geraniolo, anch'essi probabilmente derivanti dal metabolismo dei carotenoidi presenti nelle alghe. Dall'analisi si nota che le due specie di orata provenienti dai due allevamenti differiscono soprattutto per i diversi tipi di terpeni presenti nel loro profilo aromatico. I terpeni svolgono una vasta gamma di funzioni biologiche come la difesa, l'attrazione sessuale o la comunicazione con altre specie marine e sono responsabili degli aromi e dei profumi caratteristici di molti alimenti. I principali motivi che determinano le differenze in questa classe di composti organici sono le diverse località in cui cresce l'orata, le quali possono variare nella disponibilità di nutrienti, nella temperatura, nella salinità e in altri fattori ambientali. Questi fattori a sua volta possono influenzare la crescita delle piante marine e degli organismi che costituiscono la dieta dell'orata, e di conseguenza la composizione dei terpeni presenti nel profilo aromatico di questa specie. La diversità in questa classe di composti è uno dei principali motivi che va a differenziare il profilo aromatico delle due orate provenienti da località diverse. Nell'orata del mar Tirreno e negli esemplari selvatici non è stata trovata una

concentrazione significativa di benzene; questo probabilmente dimostra un diverso inquinamento di questi mari rispetto al mar Adriatico.

## **5. Discussione**

### **5.1. Implicazione dei risultati**

I risultati ottenuti dimostrano che il pesce selvatico è più ricco di butanale, butanone, butandiolo, acetone, metanolo e alcuni altri composti (prevalentemente contenenti zolfo o azoto), e il motivo risiede nel fatto che il pesce selvatico cresce in un ambiente marino che può contenere vari composti organici volatili e sostanze chimiche derivanti da processi naturali o da inquinanti prodotti dall'uomo, e subisce un'alimentazione diversa e non controllata, nutrendosi di organismi marini e microorganismi presenti nel loro habitat naturale (Grigolakis, 2009). Alcuni di questi organismi possono produrre o accumulare composti volatili o sostanze chimiche nel loro tessuto. La concentrazione di alcuni di questi composti aumenta con la cottura, come si può vedere in figura 5 e 6 per il butandiolo e il butanolo. Questo avviene grazie alle reazioni chimiche e trasformazioni che avvengono a causa dell'aumento della temperatura.

Il pesce del mar Adriatico è ricco di composti aromatici, come il benzene, che possono arrivare al pesce direttamente dall'ambiente, dal metabolismo dei carotenoidi o dalla degradazione termica degli zuccheri e degli amminoacidi. Il benzene rappresenta anche una fonte di inquinamento delle acque, può essere presente negli alimenti a causa di contaminazione naturale, migrazione dal materiale metallico dell'imballaggio o contaminazione dall'ambiente. È stato trovato in vari alimenti, come uova, carne, pesce, formaggio e frutta. Tuttavia, i livelli di esposizione attraverso l'acqua sono più bassi rispetto al cibo e all'aria. Questi parametri dipendono molto dalla località e dai metodi di allevamento dei pesci. Ecco perché negli allevamenti è meglio sfruttare le condizioni idriche, di temperatura, microbiche e usare specie di alghe dell'allevamento per tenere controllata l'alimentazione e l'ambiente di coltivazione. Il pesce del mar Tirreno e del mar Adriatico differiscono per i terpeni rilevati nel loro profilo aromatico, quest'ultimi possono provenire da oli essenziali. I terpeni sono composti che sono sempre rilevati nei pesci ma la loro origine non è ancora ben studiata. Nel pesce del mar Tirreno sono stati riscontrati livelli più bassi di benzene rispetto ai pesci provenienti dal mar Adriatico, questo dato indica che i due mari sono sottoposti a un tipo di inquinamento diverso, sempre dovuto alle attività industriali e urbane che si affacciano sul mare o alle acque di

scarico provenienti da navi e imbarcazioni. Inoltre, l'Adriatico può essere influenzato anche da flussi di inquinanti provenienti dai fiumi che si gettano in esso (informazioni ricavate da European Environment Agency). Le differenze trovate tra i profili aromatici dei pesci selvatici e coltivati si riscontrano anche nelle differenze organolettiche dei due esemplari. In letteratura sono presenti molti studi che mettono in luce le differenze sensoriali presenti tra i due pesci, mostrando una preferenza per il pesce selvatico e descrivendolo con appellativi come “gusto più gradevole” o “consistenza più soda”, mentre per i pesci d'allevamento sono spesso stati usati aggettivi come “gusto più scadente”. La spiegazione di queste differenze sensoriali risiede nel fatto che i due esemplari differiscono nella composizione muscolare, la quale dipende dai lipidi, dalle proteine e dal contenuto di acqua (Grigolakis, 2003). I muscoli degli esemplari selvatici presentano un basso contenuto di lipidi, dovuto al loro continuo movimento, e un maggior contenuto di acqua, la quale, trattenuta dai capillari, influenza le proprietà sensoriali. Queste caratteristiche contribuiscono a far apparire la carne degli esemplari selvatici più scusa e allo stesso tempo più succosa dopo la cottura. I muscoli dei pesci d'allevamento presentano invece un alto contenuto di lipidi, per il movimento limitato nelle vasche in cui vengono allevati e un basso contenuto di acqua, che comporta un gusto più solido e asciutto in seguito alla cottura (Grigolakis, 2003). Questo lavoro rappresenta una delle prime volte in cui la tecnica PTR-ToF-MS accoppiata a un campionatore automatico multiuso per spazio di testa viene applicata a uno screening rapido e non invasivo del profilo aromatico di orata cruda e cotta. La tecnica ha avuto successo nella caratterizzazione dei pesci selvatici e di allevamento, mettendone in luce le principali differenze e garantendo agli allevatori risultati corretti e affidabili.

## **5.2. Confronto tra campioni cotti e crudi**

Mettendo a confronto la figura 1 e 2 sopra riportate, che rappresentano rispettivamente i campioni crudi e i campioni cotti, si può notare una notevole differenza tra la distribuzione dei composti volatili in seguito alla fase di cottura. Questo è il risultato di diverse reazioni chimiche e trasformazioni che avvengono a causa dell'aumento della temperatura. Le reazioni coinvolte sono: la vaporizzazione, nella quale vengono vaporizzati, per l'aumento di temperatura, molti composti organici presenti nell'orata. La degradazione termica, dove alcuni composti possono rompersi o trasformarsi in composti diversi quando vengono sottoposti a temperature elevate. Questo può portare a cambiamenti nel profilo aromatico e gustativo. Le reazioni di Maillard consistono

nell'interazione tra amminoacidi, come la lisina e la cisteina, e zuccheri riducenti. Le reazioni di ossidazione, dove l'ossigeno presente nell'aria può reagire durante la cottura con i composti presenti nell'orata, portando alla formazione di nuovi composti volatili. L'evaporazione dell'acqua, dove durante la cottura l'acqua presente nell'orata evapora, concentrando così i componenti presenti e influenzandone le caratteristiche organolettiche. Queste reazioni producono o concentrano una vasta gamma di composti volatili, i quali sono generalmente sostanze organiche che presentano un peso molecolare basso come alcoli, aldeidi, acidi, esteri e terpeni (Alexi, 2017). Questi composti contribuiscono agli odori e ai gusti caratteristici dei cibi cotti, in particolare gli alcoli presentano delle soglie olfattive elevate e contribuiscono all'odore dell'alimento, mentre i composti carbonilici (aldeidi e chetoni), avendo soglie olfattive basse, hanno un effetto prevalente sul sapore di molti alimenti, anche quando sono presenti in tracce (Alexi, 2022). Il processo di cottura, perciò, può aumentare la percezione di certi composti volatili e renderli più rilevanti nel profilo aromatico della specie. Le variazioni, quindi, sono una parte normale del processo culinario e possono contribuire in modo significativo alla complessità e al cambiamento di aromi e sapori che sperimentiamo quando consumiamo cibi cotti. Alcuni esempi sono riportati in figura 3 (Grigolakis, 2003). Questo dimostra ciò che era stato affermato in precedenza confrontando le figure 1 e 2, cioè l'avvicinamento tra le concentrazioni dei composti organici volatili delle orate allevate e quelle selvatiche, garantendo anche agli allevatori la possibilità di avvicinarsi al gusto intenso dell'orata selvatica.

### **5.3. Fattori che influenzano i profili VOC negli alimenti**

I composti organici volatili presenti negli alimenti possono essere influenzati da diversi fattori, sia durante la produzione che durante lo stoccaggio e il consumo. La fonte di origine del cibo e la zona geografica sono dei fattori chiave che determinano i profili dei composti organici volatili. Alcuni alimenti hanno naturalmente più composti volatili rispetto ad altri proprio per la zona geografica diversa in cui vengono prodotti, testimonianza del fatto che i profili dell'orata del mare Adriatico differiscono dai profili dell'orata del mar Tirreno. Il metodo di produzione e le pratiche agricole possono influenzare la presenza di VOC negli alimenti. L'uso di particolari prodotti, alimentazioni diverse o altre sostanze chimiche durante la produzione e la coltivazione può influenzare la composizione chimica del cibo. La conservazione degli alimenti e le condizioni di trasporto possono influenzare la formazione di VOC. Ad esempio,

l'esposizione a temperature elevate o al calore può aumentare la produzione di alcuni composti volatili. La cottura, il congelamento, la fermentazione e altri processi di trasformazione degli alimenti possono alterare i profili. Come si è potuto dimostrare durante la cottura il profilo dei VOC dei campioni di orata cotta varia sensibilmente rispetto ai campioni crudi. Con il tempo e la stagionalità, gli alimenti possono subire cambiamenti chimici che portano alla formazione di nuovi composti volatili; questo è dovuto dalle variazioni che può subire il clima, la dieta, l'ambiente, le interazioni e le abitudini degli esemplari. Anche l'inquinamento gioca un ruolo importante nella determinazione del profilo dei VOC perché gli alimenti possono essere esposti all'attività dell'uomo e ai contaminanti ambientali che possono influenzare i profili aromatici degli alimenti. In conclusione, sono molti i fattori che influenzano i composti organici volatili di un alimento, motivo per cui è importante il continuo monitoraggio di quest'ultimi per garantire la sicurezza e la qualità dell'alimento.

#### **5.4. Confronto tra studi precedenti**

Nel corso degli anni sono stati condotti numerosi studi sui composti volatili presenti nell'orata, molti di questi sono stati fatti sui composti organici volatili di origine microbiologica e batterica che determinano la degradazione del pesce, provocando sapori/odori sgradevoli e infine il rigetto organolettico del prodotto (Serkan e Gonca, 2009). Tuttavia, negli ultimi anni si è cercato di indirizzare lo studio dei composti organici volatili verso la ricerca delle differenze che si possono riscontrare in pesci di allevamento e selvatici, per fornire informazioni utili agli allevatori e all'industria alimentare. Ciò che è emerso da questi studi, e che viene anche confermato in questo elaborato, è che l'orata selvatica presenta un profilo aromatico più ricco e complesso rispetto alle orate allevate, presentando sempre un numero più elevato di composti rispetto a quelli trovati negli esemplari di allevamento, motivo per cui il suo gusto e il suo aroma sono molto più intensi e ricercati dai consumatori. Molte aldeidi che troviamo in tabella 1, come nonenale, decanale e benzenacetaldide, sono già state rilevate nelle specie selvatiche come la trota o il salmone (Alasalvar, 2002) e vengono rilevate anche in questo studio tra le aldeidi dell'orata selvatica, anche molti chetoni identificati in precedenza vengono rilevati in questo elaborato come 2-propanone o 2-decanone. Le tracce di benzene riscontrate negli esemplari di allevamento trovano un riscontro negli studi precedenti (Alasalvar, 2002). La principale innovazione portata da questo elaborato consiste nel dimostrare che anche le orate di allevamento, nonostante siano



state allevate con metodi molto simili e con la stessa dieta, possono avere profili dei VOC diversi a causa delle diverse interazioni e del diverso ambiente di cui vengono allevate (figura 1), e viene messo in luce che dopo il processo di cottura le originarie differenze che si trovavano tra i pesci allevati e quelli selvatici vengono meno (figura 2), consentendo agli allevatori di avvicinarsi al sapore intenso proprio dell'orata selvatica. La maggior parte degli studi condotti su questo argomento utilizza come metodo di analisi la tecnica GC-MS che garantisce ottime prestazioni in questo tipo di analisi. Una ulteriore innovazione di questo studio consiste nell'utilizzare come nuova tecnica di analisi lo strumento PTR-ToF-MS dotato di un campionatore automatizzato head-space multiuso, il quale si è dimostrato un metodo innovativo per il monitoraggio in tempo reale dei composti organici volatili a basse concentrazioni in modo rapido e non invasivo. Questa tecnica in continua evoluzione ha le qualità per diventare una delle tecniche chiave per questo tipo di analisi.

## **6. Conclusioni**

La ricerca condotta utilizzando l'analisi PTR-ToF-MS sui composti organici volatili di campioni cotti e crudi di orata provenienti da diverse origini geografiche ha fornito importanti risultati e informazioni sul profilo dei VOC di questo pesce. Dalle analisi effettuate, è emerso che i composti volatili presenti nei campioni di orata possono variare significativamente a seconda dell'origine geografica e del metodo di preparazione. Sono stati identificati e caratterizzati diversi composti volatili, molti dei quali contribuiscono all'aroma e al sapore caratteristico del pesce. Inoltre, i campioni di orata crudi e cotti hanno mostrato profili VOC distinti, suggerendo che la cottura può influenzare la composizione chimica degli aromi e dei sapori presenti nel pesce. Questi risultati indicano che la cottura può avere un impatto significativo sulle proprietà sensoriali dell'orata, e questo aspetto dovrebbe essere considerato nelle pratiche culinarie e nell'industria alimentare. Le differenze osservate nei profili dei VOC tra campioni provenienti da diverse regioni geografiche suggeriscono anche un possibile legame tra l'ambiente e l'alimentazione del pesce con la composizione dei composti volatili. Questo potrebbe avere implicazioni interessanti per la tracciabilità, fornendo informazioni sull'origine geografica del pesce in base alle caratteristiche chimiche dei composti volatili e può dare informazioni importanti agli allevatori per garantire la

massima qualità del loro prodotto e per avvicinarsi il più possibile all'aroma dell'orata di origine selvatica. Questa ricerca potrebbe aprire la strada a ulteriori indagini sulla qualità e l'autenticità degli alimenti ittici, oltre a fornire informazioni importanti per il settore alimentare.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Alasalvar, C.; Taylor, K. A.; Shahidi, F. Comparative Quality Assessment of Cultured and Wild Sea Bream (*Sparus aurata*) Stored in Ice. *Agricultural and food chemistry*, 2002, 50, 2039-2045.
- Alasarvar, C.; Taylor, K. A.; Shahidi, F. Comparison of Volatiles of Cultured and Wild Sea Bream (*Sparus aurata*) during Storage in Ice by Dynamic Headspace Analysis/Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Agricultural and food chemistry*, 2005, 53, 2616-2622.
- Alexi, N.; Fountoulaki, E.; Grigorakis, K. Quality of reared gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during ice storage, as affected by dietary fish oil substitution; an instrumental and sensory designation approach. *aquaculture research*, 2017, 48, 3817-3828.
- Alexi, N.; Sfyra, K.; Basdeki, E.; Athanasopoulou, E.; Spanou, A.; Chryssolouris, M.; Tsironi, T. Raw and Cooked Quality of Gilthead Seabream Fillets (*Sparus aurata*, L.) after Mild Processing via Osmotic dehydration for Shelf Life Extension. *foods*, 2022, 11, 2017.
- Cappelin, L.; Biasioli, F.; Fabris, A.; Schuhfried, E.; Soukoulis, C.; Mark, T. D.; Gasperi, F. Improved Mass accuracy in PTR-ToF-MS: another step towards better compound identification in PTR-MS. *International journal of mass spectrometry*, 2010, 290 (1), 60-63.
- Cappelin, L.; Biasioli, F.; Graniotto, P. M.; Schuhfried, E.; Soukoulis, C.; Costa, F.; . . . Gasperi, F. On Data Analysis in PTR-ToF-MS: from raw spectra to data mining. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011, 115 (1), 183-190.
- Cappellin, L.; Biasioli, F.; Schuhfried, E.; Soukoulis, C.; Mark, T. D.; Gaspari, F. Extending the Dynamic range of proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometers by a novel dead time correction. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: RCM*, 2011, 25, 179-183.
- Grigolakis, K.; Fountoulaki, E.; Giorgios, I.; Alexis, M. N. Volatile compounds and organoleptic qualities of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed commercial diets containing different lipid sources. *Aquaculture*, 2009, 290, 116–121.
- Grigorakis, K.; Taylor, K.; Alexis, M. Organoleptic and volatile aroma compounds comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): sensory differences and possible chemical basis. *Aquaculture*, 2003, 225, 109– 119.
- Harrington, P.; Vieira, N.; Espinoza, J.; Nien, J.; Romero, R.; Yergey, A. Analysis of variance–principal component analysis: A soft tool for proteomic discovery. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 544, 118–127.
- <https://www.leaderfarma.it/Orata-ar-12081>. (s.d.).
- <https://www.tofwerk.com/proton-transfer-reaction-mass-spectrometry/>. (s.d.).
- Lindinger, W.; Hansel, A.; Jordan, A. On-line monitoring of volatile organic compounds at Pptv levels by means of Proton-Transfer-Reaction mass spectrometry (PTR-MS) Medical applications, Food control and environmental research. *International Journal of mass spectrometry*, 1998, 173 (3), 191-241.
- Serkan, S., & Gonca, G. C. Analysis of volatile compounds of wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) by simultaneous distillation–extraction (SDE) and GC–MS. *Microchemical Journal*, 2009, 93, 232-235.
- Soukoulis, C.; Cappellin, L.; Aprea, E.; Costa, F.; Viola, R.; Märk, T. D.; . . . Biasioli, F. PTR-ToF-MS, A Novel, Rapid, High Sensitivity and Non-Invasive Tool to Monitor Volatile Compound Release During Fruit Post-Harvest Storage: The Case Study of Apple Ripening. *Food Bioprocess Technol*, 2013, 6, 2831–2843.