



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Dip. di Medicina Animale, Produzioni e Salute

Corso di laurea magistrale a ciclo unico in
MEDICINA VETERINARIA

Indagini sull'inquinamento da metalli pesanti
“usuali” e “inusuali” nelle chiocchie per uso
alimentare umano

Relatore
Prof. Valerio Giaccone

Laureanda
Clara Sava

Correlatore
Dott.ssa Elisa Bissacco

Matricola n.
593554

ANNO ACCADEMICO 2012 – 2103

ABSTRACT

This study has been performed to determine the presence of various heavy metals' residues: (As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Na, Ni, Pb, Sn and Zn) in four species of edible snails, *Helix aspersa*, *Helix pomatia*, *Helix lucorum* and *Eobania vermiculata*. The samples were collected in many countries of Europe and Africa, and were represented by reared snails such as captured wild snails.

Snails were analyzed using *ICP-OES* technology. All the species were found to be contaminated by cadmium, arsenic, chromium, iron, nickel, sodium, calcium, magnesium, tin, zinc and copper.

Especially *H. aspersa* contained higher values for Cd, As, Pb, Cr, Ni, Sn and Zn. Considering that *H. aspersa* is the major *Helix* reared and marketed in Italy, more studies are needed to understand whether it could be a danger for human health.

So far no legal rules exist to fix maximum levels of heavy metals residues in snails; because of their ability to accumulate pollutants, specific regulations should be created as soon as possible.

SOMMARIO

Questo studio è stato sviluppato per determinare la presenza di residui di metalli pesanti (As, Ca, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Na, Ni, Pb, Sn e Zn) in quattro specie di chioccioline edibili: *Helix aspersa*, *Helix pomatia*, *Helix lucorum* ed *Eobania vermiculata*. I campioni sono stati raccolti in molti Paesi europei e dell'Africa, sia prelevati da allevamenti, sia raccolti in natura. Le chioccioline sono state analizzate usando la tecnologia *ICP-OES*. Tutte le specie sono risultate contaminate da cadmio, arsenico, cromo, ferro, nichel, sodio, calcio, magnesio, stagno, zinco e rame. Considerando che *H. aspersa* è la specie maggiormente allevata e commercializzata in Italia risulta necessario approfondire se questa possa diventare un pericolo per la salute umana.

Ad oggi non esiste una legge che indichi dei livelli massimi ammessi di metalli pesanti nelle chioccioline; data la loro propensione nell'accumulare contaminanti, una normativa specifica dovrebbe essere creata al più presto.

Indice

ABSTRACT	3
SOMMARIO	3
Indice	5
Indice delle Figure	9
Indice delle Tabelle	11
1 INTRODUZIONE	13
2 MERCATO ELICICOLO E CONSUMI DI CHIOCCIOLE FINO AI GIORNI NOSTRI 15	
2.1 Il mercato elicicolo	15
2.2 Cenni di storia sul consumo delle chiocciole.....	16
3 IL MONDO DELLE CHIOCCIOLE	19
3.1 Classificazione	19
3.2 Anatomia della chiocciola.....	20
3.2.1 Testa	21
3.2.2 Piede	21
3.2.3 Conchiglia.....	21
3.2.4 Epifragma	22
3.2.5 Sistema digerente.....	22
3.2.6 Sistema epiteliale.....	24
3.2.7 Sistema emolinfatico	24
3.2.8 Apparato riproduttore	25
3.2.9 Sistema olfattivo	25
4 PRINCIPALI SPECIE DI CHIOCCIOLE	27
5 PROFILO NUTRIZIONALE DELLA CHIOCCIOLA	29
5.1 Proteine	31
5.2 Grassi	33
5.3 Calorie.....	33
5.4 Sali minerali.....	34
5.5 Digeribilità.....	36
5.6 Variabili che possono influenzare il valore nutritivo.....	36
5.7 Proprietà nutraceutiche	37
6 CENNI SUI SISTEMI DI ALLEVAMENTO	39

7	ABITUDINI ALIMENTARI DELLA CHIOCCIOLA	41
7.1	Piante utilizzate in allevamento.....	41
7.2	Possibili tipologie di accumulo di contaminanti nei vegetali.....	43
7.3	Altre fonti di contaminazione in allevamento	44
8	MALATTIE DELLA CHIOCCIOLA	47
9	LEGISLAZIONE.....	49
10	LE CHIOCCIOLE E I METALLI PESANTI.....	53
10.1	Arsenico.....	55
10.2	Calcio.....	55
10.3	Cadmio.....	56
10.4	Cromo	58
10.5	Ferro.....	60
10.6	Magnesio.....	60
10.7	Mercurio	60
10.8	Nichel.....	61
10.9	Piombo.....	62
10.10	Rame	64
10.11	Sodio.....	64
10.12	Stagno	65
10.13	Zinco.....	65
10.14	Possibili effetti dei metalli pesanti sulle chiocciole.....	66
11	ALTRI RISCHI DERIVANTI DAL CONSUMO DI CHIOCCIOLE	69
11.1	Rischi microbiologici.....	69
11.2	Rischi parassitari.....	71
12	MATERIALI E METODI.....	73
12.1	Materiali.....	73
12.1.1	I campioni	73
12.1.2	Apparecchiatura	76
12.2	Metodi.....	76
12.2.1	Sistema ICP-OES	79
13	RISULTATI.....	81
14	DISCUSSIONE DEI RISULTATI	113
14.1	Confronto con i limiti di legge attuali.....	113
14.2	Discussione dei risultati ottenuti dal confronto tra specie diverse di chiocciole	113

14.3	Discussione dei risultati ottenuti dal confronto tra chioccioline di origine diversa	114
14.4	Discussione dei risultati ottenuti dal confronto di <i>H. Aspersa</i> provenienti da varie aree geografiche.....	115
14.5	Discussione sui risultati dei test Anova, Kruskal-Wallis e Mann-Whitney.....	115
15	CONCLUSIONI.....	117
	Ringraziamenti	118
	BIBLIOGRAFIA	119
	SITIGRAFIA	123

Indice delle Figure

Figura 3.1: Anatomia della chiocciola.....	20
Figura 4.1: Esempolari di <i>Helix aspersa</i>	28
Figura 4.2: Esempolari di <i>Helix pomatia</i>	28
Figura 4.3: Esempolari di <i>Eobania vermiculata</i>	28
Figura 13.1: Cadmio: confronto tra specie (mg/kg)	86
Figura 13.2: Piombo: confronto tra specie (mg/kg)	86
Figura 13.3: Arsenico: confronto tra specie (mg/kg)	86
Figura 13.4: Cromo: confronto tra specie (mg/kg).....	87
Figura 13.5: Ferro: confronto tra specie (mg/kg)	87
Figura 13.6: Nichel: confronto tra specie (mg/kg)	87
Figura 13.7: Sodio: confronto tra specie (mg/kg).....	88
Figura 13.8: Calcio: confronto tra specie (mg/kg)	88
Figura 13.9: Magnesio: confronto tra specie (mg/kg)	88
Figura 13.10: Stagno: confronto tra specie (mg/kg).....	89
Figura 13.11: Zinco: confronto tra specie (mg/kg).....	89
Figura 13.12: Rame: confronto tra specie (mg/kg).....	89
Figura 13.13: Cadmio: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) ...	92
Figura 13.14: Piombo: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) ...	92
Figura 13.15: Arsenico: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) .	92
Figura 13.16: Cromo totale: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	93
Figura 13.17: Ferro: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	93
Figura 13.18: Nichel: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	93
Figura 13.19: Sodio: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg).....	94
Figura 13.20: Calcio: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	94
Figura 13.21: Magnesio: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	94
Figura 13.22: Stagno: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg).....	95
Figura 13.23: Zinco: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg).....	95
Figura 13.24: Rame: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg).....	95
Figura 13.25: Cadmio: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) ..	96
Figura 13.26: Piombo: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) ..	96
Figura 13.27: Arsenico: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) ..	96
Figura 13.28: Cromo totale: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	97
Figura 13.29: Ferro: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	97
Figura 13.30: Nichel: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	97
Figura 13.31: Sodio: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	98
Figura 13.32: Calcio: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	98
Figura 13.33: Magnesio: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg).....	98
Figura 13.34: Stagno: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg).....	99
Figura 13.35: Zinco: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg)	99

Figura 13.36: Rame: <i>Helix pomatia</i> , confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg).....	99
Figura 13.37 Cadmio: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg)	102
.....	102
Figura 13.38 Piombo: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg)	102
.....	102
Figura 13.39 Arsenico: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg)	102
.....	102
Figura 13.40 Cromo totale: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg).....	103
Figura 13.41 Ferro: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg)	103
Figura 13.42 Nichel: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg)	103
.....	103
Figura 13.43 Sodio: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg)	104
.....	104
Figura 13.44 Calcio: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg)	104
.....	104
Figura 13.45 Magnesio: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg).....	104
Figura 13.46 Stagno: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg)	105
.....	105
Figura 13.47 Zinco: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg)	105
.....	105
Figura 13.48 Rame: <i>Helix aspersa</i> , confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg)	105
.....	105
Figura 13.49 As: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg).....	109
Figura 13.50: Fe: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)....	109
Figura 13.51 Sodio: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)	109
Figura 13.52 Stagno: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)	110
.....	110
Figura 13.53 Rame: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)	110
Figura 13.54 Cromo: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)	110
.....	110
Figura 13.55 Nichel: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)	111
.....	111
Figura 13.56 Calcio: di interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)	111
.....	111
Figura 13.57 Cadmio: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)	111
.....	111
Figura 13.58 Magnesio: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)	112
.....	112

Indice delle Tabelle

Tabella 3.1: Classificazione.....	19
Tabella 5.1: profilo nutrizionale, confronto tra specie animali	30
Tabella 5.2: profilo nutrizionale, confronto tra specie di chioccioline.....	30
Tabella 5.3: contenuto di aminoacidi, confronto tra alimenti.....	32
Tabella 5.4: Dosi giornaliere raccomandate (RDA) per gli aa essenziali -	32
Tabella 5.5: confronto contenuto calorico tra diversi alimenti.....	33
Tabella 5.6: Composizione minerale delle chioccioline.....	35
Tabella 7.1: Principali piante coltivate in allevamento elicicolo.....	42
Tabella 8.1: Principali agenti di mortalità della chiocciolina	48
Tabella 9.1: Limiti microbiologici Reg. 2073/2005	52
Tabella 10.1: Grado di tossicità metalli pesanti	53
Tabella 10.2: Fonti di contaminazione di origine antropica.....	54
Tabella 10.3: Risultati studi precedenti sul Cd.....	57
Tabella 10.4: Risultati studi precedenti sul Cr	59
Tabella 10.5: Risultati studi precedenti sul Pb	63
Tabella 12.1: Descrizione dei campioni	74
Tabella 12.2: Limiti di rilevabilità.....	78
Tabella 13.1: Risultati analisi	81
Tabella 13.2: Risultati analisi	82
Tabella 13.3: Medie e S.D. per specie	85
Tabella 13.4: Confronto fra chioccioline di raccolta e chioccioline di cattura.....	91
Tabella 13.5: Confronto tra aree geografiche	101
Tabella 13.6: Confronto tra aree geografiche	101
Tabella 13.7: Confronto tra aree geografiche	101
Tabella 13.8: Confronto tra aree geografiche	101
Tabella 13.9: Confronto tra diverse specie di chioccioline considerate nello studio	107
Tabella 13.10: Confronto tra chioccioline di origine diversa: allevate e raccolte in natura.....	107
Tabella 13.11: Risultati test Mann-Whitney per valori non parametrici	107
Tabella 13.12: Risultati test Kruskal-Wallis per valori non parametrici (mg/kg).....	107

1 INTRODUZIONE

Le chioccioline sono considerate solitamente un alimento minore, che non viene consumato sistematicamente dall'uomo, tuttavia in alcuni Paesi sono comunemente inserite nella dieta, sia che siano di allevamento, come ad esempio in Italia o in Francia, dove hanno trovato facile diffusione, sia che siano di cattura, come accade in Paesi in via di sviluppo quale l'Africa.

La chiocciolina come fonte di nutrizione ha subito, perlomeno nel mercato europeo, nel corso degli anni, delle trasformazioni che l'hanno portata da essere un alimento definito 'povero', fino a diventare un vero e proprio bene di lusso, riservandosi quella nicchia di mercato dedicata a prodotti di un certo pregio e di costo non indifferente; questo progresso ha permesso lo sviluppo di un'importante rete di allevamenti all'interno dell'Europa occidentale. Alla luce dei dati economici dell'anno 2012 risulta che la produzione si sia consolidata, portandosi a un + 5% in Italia e + 6% all'estero, con un aumento dei consumi del mercato interno dello 0,5% , pari a 389.000 quintali; inoltre il numero di nuovi elicicoltori iscritti nell'anno 2012 è salito del 30% rispetto al precedente, un dato indice del nuovo e continuo interesse che questo ambito sembra rappresentare per il mercato nazionale ed europeo (Giornale di elicicoltura, I numero febbraio 2013).

Le ultime tendenze del mercato italiano portano alla vendita di prodotto fresco: la commercializzazione del prodotto vivo, infatti, occupa ormai l'80% delle compravendite, esponendo quindi il produttore ad un contatto diretto con il consumatore, senza l'interposizione della grande industria conserviera. Risulta quindi necessario disporre di un prodotto più genuino e controllato possibile, con la formazione di personale specializzato, vista la particolarità del tipo di filiera.

Nonostante l'importanza sempre maggiore di questo mollusco come fonte di impiego e di guadagno, non esistono, ad oggi, normative specifiche per i gasteropodi terrestri, finalizzate a fissare dei limiti rispetto ai contaminanti ambientali, come possono essere, ad esempio, quelli chimici da metalli pesanti.

Questa lacuna è aggravata dal fatto che i molluschi marini, sono invece inclusi nel Regolamento 1831/06, il quale definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti, tra i quali anche i metalli pesanti, all'interno delle derrate alimentari; inserimento giudicato necessario, data la nota capacità di questi organismi di accumularne al loro interno.

Le chioccioline, vivendo a stretto contatto con il terreno e l'ambiente, hanno la possibilità di veicolare flora microbica, anche patogena, quale ad esempio *Salmonella enterica* e *Escherichia coli*, non solo, data la loro alimentazione e le loro strategie evolutive, le lumache potrebbero accumulare al loro interno sostanze di origine antropica o metalli pesanti, fatto dimostrato da *Coeurdassier et al* (2002).

Numerosi studi sono stati portati avanti usando varie specie di gasteropodi terrestri come bioindicatore dello stato di inquinamento dell'ambiente, ma pochi di questi hanno considerato specie edibili quali *Helix Pomatia* o *Helix aspersa* (*De Vauflery e Pinah, 2000; De Vauflery et al., 2006*). I dati che abbiamo a disposizione inoltre sono stati analizzati come indice ecologico, non sono stati discussi da un punto di vista igienico-sanitario degli alimenti, se non in rare eccezioni (*Menta e Parisi, 2001*).

Le prospettive future nell'uso delle chioccioline, per quanto riguarda il campo umano, non si limitano al mercato alimentare, con l'immissione di articoli alternativi quali la gelatina di chiocciolina (Zarai, 2012), ma si ampliano all'ambito farmaceutico, cosmetico e medico.

Sono state di recente scoperte proprietà antimicrobiche dell'epifragma dei gasteropodi terrestri, che potrebbe rappresentare una valida alternativa agli antibiotici comunemente usati (Abiona et al, 2013).

Da anni esiste la cosiddetta ' bava di *Helix* ', impiegata nella cosmetica per la preparazione di vari prodotti di bellezza grazie alle sue proprietà rigenerative e antiossidanti. Queste stesse qualità sono state applicate in campo sperimentale come *scavenger* contro i radicali ossidanti e come promotori di proliferazione fibroblastica, in grado di portare al risanamento di ferite (Brieva et al, 2008).

Molti studi si stanno dedicando all'approfondimento della materia e data la tipologia di persone con le quali i prodotti potrebbero venire in contatto, soggetti a rischio, o con sistema immunitario incompleto come i bambini, sarebbe opportuno svolgere delle ricerche riguardo ai possibili residui contenuti nella bava.

La finalità di questa esperienza sarà non solo verso la tutela del consumatore, ma anche di salvaguardia verso i produttori, ai quali viene richiesto un livello altissimo di professionalità, e verso i quali vanno quindi garantiti i mezzi e gli strumenti più adatti di monitoraggio del proprio prodotto. Conoscere le conseguenze di un possibile inquinamento da metalli diventa importante per gli allevatori stessi, in quanto è stato dimostrato come i metalli possano avere influenze negative sulla crescita e sulla capacità di riproduzione dei gasteropodi (Gomot e Kerhoas,2000; Gimbert et al, 2008).

Ai fini economici e di management, oltre che sanitari, queste informazioni risultano fondamentali al fine di massimizzare i risultati, un obiettivo ricercato in qualsiasi tipo di allevamento animale, non solo in quello elicicolo.

Alla luce di questi presupposti, e data la scarsità di ricerche in campo igienico-sanitario per quanto riguarda l'aspetto microbiologico e dei residui, con questo studio si è posto l'obiettivo di colmare un vuoto di dati e di fotografare le reali condizioni di contaminazione delle chioccioline presenti sul mercato europeo.

2 MERCATO ELICICOLO E CONSUMI DI CHIOCCIOLE FINO AI GIORNI NOSTRI

2.1 Il mercato elicicolo

Il mercato internazionale negli ultimi anni ha subito molte variazioni, la diffusione in molti Paesi di normative per la tutela della fauna minore ha creato una tendenza crescente nella diffusione del prodotto allevato rispetto a quello raccolto. C'è una grossa differenza dal punto di vista qualitativo tra chioccioline allevate e raccolte in natura: tenerezza e colore delle carni, pezzatura ed età omogenea, garanzia di un prodotto spurgato; sono queste caratteristiche che fanno della prima tipologia di lumaca un prodotto ricercato. Le possibilità offerte da questo nuovo mercato, in concomitanza con le nuove restrizioni legislative, hanno portato alla comparsa sullo scenario mondiale di nuovi Paesi, quali la Bulgaria, la Grecia e l'America Latina. Altri produttori che fino a pochi anni fa basavano i loro scambi sul prodotto raccolto in natura, quale il Nord Africa, hanno dovuto modificare le loro usanze e adottare nuovi sistemi produttivi.

L'Italia è prima in classifica al mondo per il numero e l'estensione degli allevamenti, per un fatturato annuo pari a 90 milioni di euro. Il giro d'affari complessivo a livello mondiale per il settore della lumaca, compresi prodotti non alimentari, nel 2010 ha toccato i 950 milioni di euro (*Avagnina, 2011*).

Fino a pochi anni fa negli allevamenti italiani si producevano principalmente soggetti riproduttori, soprattutto perché c'erano consumi molto bassi di chioccioline sul territorio nazionale, ma da pochi anni a questa parte l'aumento delle richieste ha portato l'Italia al secondo posto, dietro alla Francia, nella classifica dei Paesi consumatori (*Avagnina, 2011*).

Grazie a questa spinta, nonostante la crisi economica, il settore dell'elicicoltura ha chiuso parzialmente in positivo il bilancio del 2012: gli allevamenti sul territorio italiano sono aumentati del 5% rispetto all'anno precedente, all'estero del 6%.

I consumi nazionali per lo stesso anno sono stati pari a 389.000 quintali, con una crescita dello 0,5 % rispetto al 2011. In particolare le richieste del consumatore indicano preferenza di prodotto fresco vivo, il quale però necessita di attenzioni sanitarie maggiori, rispetto a quello surgelato (-20%) e inscatolato (-5%) (*Giornale di elicicoltura, I numero febbraio 2013*).

Anche le quantità di prodotto importato sono calate (-2%), a favore di quello nazionale.

I mercati all'ingrosso per il periodo settembre-dicembre del 2012 si sono chiusi con i seguenti prezzi:

Helix pomatia opercolata da 10 a 14 euro/kg

Helix aspersa muller da 3,80 a 7 euro/kg

Helix aspersa maxima da 2,50 a 5 euro/kg

Eobania vermiculata da 3,50 a 7 euro/kg

Il costo della *Helix pomatia* è rimasto invariato sul mercato, quest'ultima specie però è andata incontro ad una fase di declino negli allevamenti italiani, a favore dell'*Helix aspersa*, che al giorno d'oggi rappresenta la specie più commercializzata in Italia. Fino ad una decina d'anni fa la *H. pomatia* aveva quotazioni di circa 18-20 euro/kg, a causa però del suo lungo ciclo

biologico e della scarsa durabilità del prodotto finito è stata abbandonata, nonostante possieda una carne di altissima qualità.

Il mercato italiano è rappresentato per l'80 % da prodotto fresco e la richiesta di lumache vive si riflette anche sulla ristorazione, che preferisce la scelta di allevamenti nostrani in grado di fornire un alimento salubre e disponibile in ogni periodo dell'anno. Nel 2010 il 62,5% delle chioccioline consumate provenivano da importazione.

Nel mercato internazionale vengono commercializzate sia specie della famiglia *Achatinidae*, distribuite solo sul mercato cinese e africano, sia chioccioline della famiglia *Helicidae*, presenti nel resto d'Europa. La Spagna e il Portogallo sono i più grandi consumatori europei di *H. aspersa*; la Francia è il primo Paese al mondo sia per i consumi sia per le produzioni gastronomiche; la Grecia ha una grande tradizione di chioccioline di raccolta e possiede il consumo *pro-capite* più elevato con un uso di 400 grammi di lumache all'anno. Nuovi Paesi che non erano consumatori di chioccioline si sono affacciati sul mercato, quali la Germania, il Giappone, i Paesi Arabi, interessati sia ai piatti della cucina tradizionale, sia a prodotti innovativi come il caviale di chiocciola.

2.2 Cenni di storia sul consumo delle chioccioline

Il consumo delle chioccioline come alimento risale addirittura all'epoca della pietra: in Danimarca, Sicilia, Marocco e Tunisia sono stati ritrovati siti con accumuli di ossa di animali, in cui erano presenti anche conchiglie di gasteropodi, tra le quali è stata scoperta *Helix aspersa*. Sui gusci è stato riconosciuto un foro, praticato dagli esseri umani, al fine di prelevare l'ospite con più facilità.

Ci sono ipotesi secondo le quali le lumache potrebbero essere state tra le prime fonti di carne per l'uomo a quel tempo, data la loro lentezza nel movimento e l'incapacità di queste di opporre forme di resistenza, se non quella di ritirarsi nel proprio guscio.

Ai tempi dei Greci il consumo di chioccioline era molto elevato, esistono descrizioni dettagliate riportate da Aristotele riguardo allo strumento utilizzato per mangiarle: uno speciale cucchiaio con un manico appuntito all'estremità in grado di estrarre facilmente il mollusco.

Con i Romani iniziò la pratica dell'allevamento della lumaca, con lo sviluppo di metodologie ancor oggi utilizzate. All'epoca si credeva che le chioccioline contenessero nei loro gusci messaggi mistici utili a svelare il destino nell'aldilà, e per questo venivano consumate nei banchetti funebri.

Agli stessi tempi risalgono molti dei primi ricettari riguardanti questo mollusco, nei quali è riportato l'uso di latte, vino spezie ed erbe aromatiche al fine di insaporire le carni.

Furono proprio i Romani ad esportare la tradizione in Francia, insegnando le pratiche culinarie alle popolazioni galliche, le quali hanno apprezzato e mantenuto le tradizioni fino ai giorni nostri, tanto che al giorno d'oggi in Francia le 'escargots' sono considerate un piatto nazionale.

Con il Medioevo scomparvero gli allevamenti: le chioccioline venivano raccolte nella campagna, e consumate in periodo di Quaresima, perché considerate 'carne di magro'.

Nei secoli successivi la chiocciola vide periodi di fama, in cui era presente sulle tavole dei nobili e periodi in cui veniva considerata un 'piatto da bifolchi', mangiato solo dai poveri, e consumatissimo però durante le carestie che colpirono l'Europa intera. Nella crisi del 1816 i molluschi erano considerati così fondamentali alla sopravvivenza della popolazione che la loro distribuzione fu regolamentata dagli annonari francesi.

A partire dal XIX secolo le lumache tornarono alla ribalta e si imposero nella ristorazione come prelibatezza gastronomica, a seguito di questo fenomeno le esportazioni verso la

Francia aumentarono nel giro di un secolo, fino a raggiungere quantità pari a migliaia di quintali.

Quando a partire dagli '70, in Italia, vennero emanate leggi per tutelare il patrimonio faunistico e limitare la raccolta di chioccioline allo stato selvatico, furono riscoperte le pratiche dell'allevamento elicicolo, dando inizio alla rete di produzione italiana su scala commerciale.

Lo sviluppo di un nuovo metodo di produzione, definito 'italiano', ha portato alla comparsa sul mercato della lumaca, con le caratteristiche per le quali ancor oggi è conosciuta.

3 IL MONDO DELLE CHIOCCIOLE

Le chioccioline sono presenti sul nostro pianeta da innumerevole tempo, si sono evolute per essere in grado di resistere a malattie, variazioni climatiche e condizioni ambientali estreme, mancanza di cibo e attacchi dei predatori e alcune specie sono state in grado di adattarsi, o di sfruttare, gli ambienti artificiali creati dall'uomo.

La loro strategia evolutiva le ha portate a sviluppare uno stratagemma, la conchiglia, in grado di garantire il mantenimento del loro ambiente ideale. L'adattamento di un rivestimento rigido ad una parte limitata del corpo ha esposto il resto dell'organismo a pericoli in grado di alterarne l'omeostasi corporea. Il rischio più grande per la chiocciola è rappresentato dalla disidratazione: per evitare questo pericolo mortale il gasteropode sfrutta il muco cutaneo e una via di escrezione principale che non utilizza il sistema urinario. Quest'ultimo processo è alla base dell'accumulo dei metalli pesanti nelle lumache: l'organismo non può permettersi di perdere liquidi per eliminare sostanze tossiche o dannose, ma le deposita in appositi organi, in grado di inattivare e bloccare l'azione dell'agente (Barker, 2001).

Il 'sistema chiocciola' verrà analizzato nei prossimi capitoli, con lo scopo di capire in che modo e dove questi animali siano in grado di accumulare gli elementi oggetti di questo studio.

3.1 Classificazione

Tabella 3.1: Classificazione

Phylum	<i>Molluschi</i>
Classe	<i>Gasteropodi</i>
Sottoclasse	<i>Polmonati</i>
Ordine	<i>Stilommatofori</i>
Genere	<i>Helix</i>

Esistono circa 35 000 specie di gasteropodi terrestri al mondo, di questi circa 4000 appartengono genere *Helix* (Tabella 3.1), delle quali solo una ventina sono considerate commestibili.

Il suo nome esatto è chiocciola, nonostante in gastronomia sia d'uso chiamarla lumaca.

La caratteristica morfologica più eclatante, che ne consente il riconoscimento, è data dalla conchiglia, molto diversa tra le specie per quanto riguarda forma, dimensioni e colore.

In questo studio sono state prese in considerazione le specie più diffuse e che hanno maggiore possibilità di consumo nel nostro mercato: *Helix Pomatia*, *Helix aspersa*, *Helix lucorum* ed *Eobania vermiculata*. I campioni sono stati prelevati sia da chioccioline di cattura, sia di allevamento, di provenienza da vari Paesi Europei.

3.2 Anatomia della chiocciola

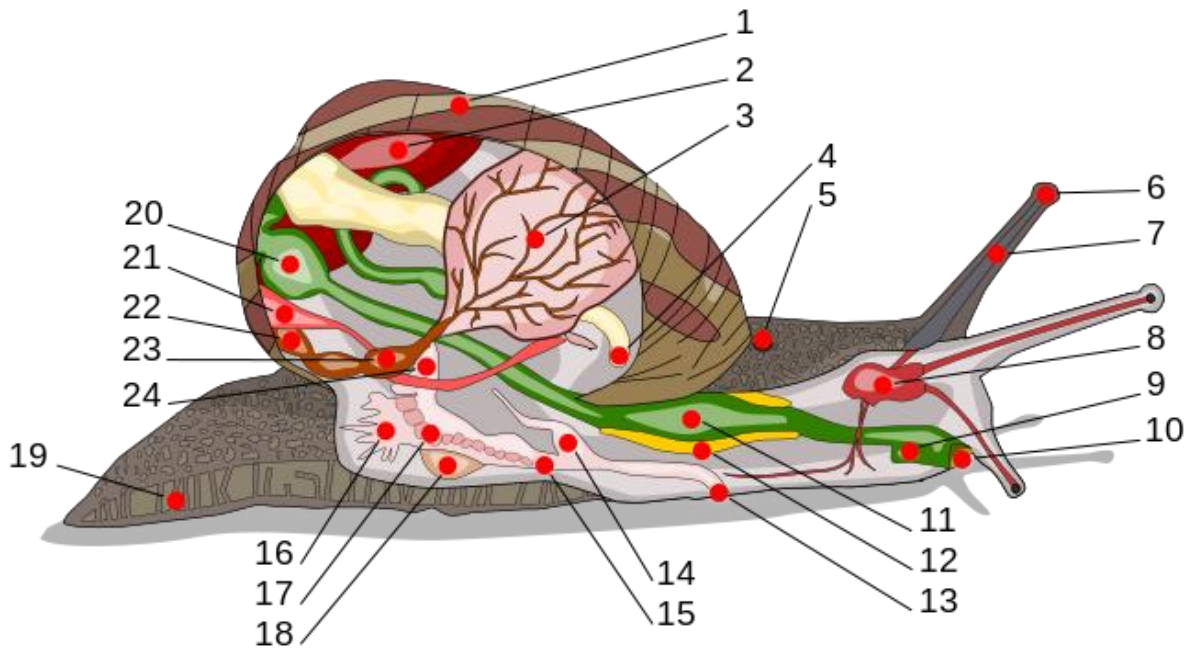


Figura 3.1: Anatomia della chiocciola

- 1) conchiglia
- 2) fegato
- 3) polmone
- 4) ano
- 5) pneumostoma
- 6) occhio
- 7) tentacolo
- 8) ganglio cerebrale
- 9) dotto salivare
- 10) bocca
- 11) gozzo
- 12) ghiandola salivare
- 13) poro genitale
- 14) pene
- 15) vagina
- 16) ghiandola mucosa
- 17) ovidutto
- 18) stilofofo
- 19) piede
- 20) stomaco
- 21) rene
- 22) mantello
- 23) cuore
- 24) vaso deferente

La chiocciola è un mollusco, quindi è sprovvisto di uno scheletro; appartiene alla classe dei Gasteropodi, esseri dotati di un apparato locomotore appiattito e adeso al ventre, sottoclasse dei Polmonati, i quali possiedono una cavità palleale in grado di consentire passaggio di aria. La conchiglia elicoidale è il carattere che la contraddistingue, da essa deriva il nome del genere, *Helix*. Il corpo della chiocciola è molle, alloggiato nella conchiglia, all'interno della quale può ritrarsi, ed è costituito dal piede e dalla testa.

3.2.1 Testa

La testa si trova nella parte anteriore del corpo, è costituita da un'apertura buccale, in cui è posta la radula, e da quattro tentacoli: i superiori, più lunghi, sembrano essere un analogo dell'organo della vista, i due inferiori, più corti, sono in grado di percepire delle variazioni di calore e fungerebbero quindi da organo del tatto.

3.2.2 Piede

Il piede (Figura 3.1) presenta una parte inferiore appiattita, che fuoriesce dalla conchiglia e permette lo spostamento dell'animale tramite contrazioni ritmiche della muscolatura, e una parte superiore, che accoglie il sacco viscerale, contenuta all'interno della conchiglia, della quale segue l'andamento a spirale.

La secrezione delle ghiandole epidermiche, detta bava, coadiuva l'animale nello spostamento, facilitando il movimento del piede su superfici non umide; sono le contrazioni stesse della muscolatura a provocare la spremitura e lo stimolo delle ghiandole secretrici.

La parte dorsale del piede è a sua volta ricoperta da un doppio strato tegumentale detto *mantello*, il quale si espande verso l'esterno, formando una cavità definita palleale, in cui si effettuano gli scambi respiratori. La respirazione vera e propria avviene attraverso il *pneumostoma*, situato nella parte anteriore della cavità palleale. Nei pressi si trova anche l'apertura anale.

3.2.3 Conchiglia

La conchiglia (Figura 3.1) si è sviluppata nella chiocciola a scopo di difesa e prende origine dalla ripiegatura del mantello, il tegumento che ricopre la parte dorsale del mollusco. Il guscio si sviluppa lungo un asse detto columella, il quale può essere pieno, come nel caso di *H. aspersa*, o vuoto, come avviene per *H. pomatia*. Il numero delle spire, divise tra di loro da una linea detta sutura e il senso della torsione sono diversi da specie a specie. Una volta adulta la chiocciola va incontro al fenomeno della bordatura, a seguito del quale la conchiglia non aumenta più di dimensioni.

Il guscio è una struttura composta da più strati: la cuticola, il più esterno e sottile; l'ostraco, centrale e calcareo; l'ipostraco, il più interno, formato da carbonato di calcio e da conchiolina, una matrice organica.

Non va sottovalutata l'importanza della conchiglia dal punto di vista igienico-sanitario, in quanto anche questa rientra nel mercato alimentare come supporto decorativo nei piatti di 'escargots'. Il processo di pulizia e trasformazione vanno tenuti sotto controllo, per evitare possibili contaminazioni microbiologiche di un prodotto che non subirà successivi trattamenti prima dell'uso.

3.2.4 Epifragma

La costruzione dell'epifragma rappresenta una fase importantissima sia per la chiocciola, in quanto si prepara al letargo, sia per l'allevatore, in quanto dal punto di vista economico e gastronomico un prodotto opercolato viene maggiormente valutato sul mercato, sia dal punto di vista igienico-sanitario, poichè c'è la garanzia della salubrità del mollusco.

La lumaca si basa sul fotoperiodo e sulle temperature ambientali per individuare il momento adatto all'inizio del digiuno e della fase di opercolatura, e l'uomo non può intervenire in alcun modo in questo processo.

La costruzione di una struttura spessa e resistente permetterà un facile trasporto, e una più facile spedizione del prodotto (questo vale soprattutto per la *H. pomatia*, in quanto *H. aspersa* possiede un opercolo poco compatto). L'operatore farà quindi in modo che gli animali si trovino nelle condizioni più idonee possibili, sia dal punto di vista della salute e dello stato di nutrizione, sia per quanto riguarda la costruzione di un habitat adatto.

Al momento opportuno la chiocciola cerca un riparo e si pone con l'apertura conchigliare verso l'alto in modo da favorire gli scambi gassosi. La prima fase del processo consiste nel digiuno, accompagnato dallo svuotamento dei visceri da feci, residui alimentari e impurità accumulate; la spurgatura avviene in un punto preciso della conchiglia, a seguito della deposizione di un sottile velo calcareo.

Al termine di questo passaggio inizia la costruzione dell'epifragma vero e proprio, con la secrezione, a partire dal bordo palleale, di muco biancastro e calcareo in grado di indurirsi a contatto con l'aria.

Purtroppo questa evacuazione non comporta anche l'eliminazione dei contaminanti presenti, in quanto questi non si depositano nell'intestino del gasteropode, ma in granuli intracellulari a livello della ghiandola digestiva e di altri organi.

Verranno qui di seguito brevemente trattati gli apparati possibilmente coinvolti nei processi di accumulo e metabolizzazione dei metalli pesanti.

3.2.5 Sistema digerente

Questo apparato è molto importante ai fini di questo studio, in quanto è risultato essere il luogo di elezione per l'accumulo dei metalli pesanti nelle chioccioline (*Boshoff, 2013*), con particolare interesse a carico della ghiandola digestiva.

Il canale digerente si apre all'estremità anteriore tramite la cavità buccale, che presenta superiormente mascella e labbro e inferiormente labbro e radula (Figura 3.1). Quest'ultima è coinvolta nell'atto di triturazione dell'alimento ed è composta da decine di migliaia di minuscole lamelle, in grado di intaccare il cibo nel momento in cui la chiocciola comincia ad alimentarsi. Lo sfregamento prodotto tra la radula e la mascella è accompagnato dall'emissione di abbondante saliva da parte delle ghiandole salivari.

Alla bocca fanno seguito ghiandole salivari, esofago, stomaco, ghiandola digestiva, intestino e ano, quest'ultimo situato in prossimità del margine conchigliare. Nello stomaco, tramite due doti principali, sbocca la ghiandola digestiva, impropriamente chiamata epato-pancreas, composta da due lobi: il primo limitato alla prima spira, il secondo riempie tutta la conchiglia e alloggia al suo interno la gonade.

L'epato-pancreas è costituito da tre tipologie di cellule: cellule digestive, cellule escrettrici e cellule calcaree, queste ultime intervengono nella formazione dell'opercolo, della conchiglia e del muco cutaneo, tramite la secrezione di fosfato tricalcico. Le cellule digestive sono coinvolte nella processazione delle sostanze esogene, tramite l'intervento dei fago-lisosomi.

In studi precedenti (*Gomot, 2002*) è stato dimostrato come le chioccioline assumano residui chimici attraverso la via digerente, che rappresenta oltretutto la modalità principale di reclutamento degli inquinanti.

Le lumache possono raggiungere al loro interno concentrazioni di contaminanti superiori rispetto a quelle presenti nell'ambiente, anche se si trovano in terreni che non risultano inquinati; questa loro affinità verso gli elementi in traccia le porta a stoccare nei loro tessuti molli e nella conchiglia sostanze quali cadmio, rame, piombo e zinco.

Sembra esserci una relazione molto stretta tra la via di assorbimento del calcio, sia *per os*, sia per via trans-cutanea e l'assorbimento dei metalli pesanti (*Barker, 2001*). Il calcio, così come accade ai contaminanti ingeriti, passa attraverso l'epitelio intestinale, giunge alla ghiandola digestiva e qui viene stoccato, tramite biomineralizzazione, in depositi all'interno di cellule specifiche. Questo procedimento sembra essersi evoluto a causa della tossicità degli ioni liberi di calcio, in grado di danneggiare le cellule: racchiudendoli in granuli è stato possibile disattivare la loro azione, formando precipitati e portando alla creazione di una riserva di minerale sempre disponibile; il complesso di trasformazione si è dimostrato efficace anche per i corpi esogeni, tra cui anche i metalli. Un'azione simile di compartimentalizzazione sembra essere svolta dalle cellule digestive nei confronti del piombo.

Non esiste inoltre un sistema all'interno dell'apparato digerente che funzioni da filtro contro particelle fisiologiche e non, perciò i contaminanti seguono la via del calcio senza essere in alcun modo selezionati, sono i meccanismi di compensazione in seguito ad avere il compito di arginarli all'interno dell'organismo.

I molluschi possiedono inoltre particolari proteine coinvolte nei processi di detossificazione, dette metallotioneine, in grado di legarsi agli elementi estranei, quale ad esempio il cadmio. Per quest'ultimo in particolare, la chiocciolina sembra avere un'enorme capacità di accumulo all'interno dell'epato-pancreas, data dalla capacità del cadmio stesso di indurre la sintesi di proteine di legame.

Un'altra isoforma di metallotioneina appare essere specifica per il rame, al fine di garantirne un livello adeguato per l'emocianina; forse in futuro uno studio più approfondito di queste isoforme porterà a comprendere completamente gli effetti e i meccanismi a carico del fenomeno di bioaccumulo in questi invertebrati.

L'esistenza di diversi processi metabolici e detossificanti all'interno della chiocciolina non rende disponibili ai predatori, tra cui l'uomo, tutte le sostanze allo stesso modo: metalli come lo zinco e il piombo, depositati in granuli nell'epato-pancreas, saranno meno accessibili rispetto al cadmio, legato a proteine e con possibilità maggiore di dissociazione.

Un altro nesso esiste tra i batteri presenti nel canale alimentare e la loro capacità di intervenire nel ciclo di trasformazione dei metalli pesanti e di favorirne l'ingresso attraverso l'epitelio intestinale, come avviene ad esempio nel caso del rame e zinco.

Sono riportati studi controversi riguardo all'origine dei microrganismi (*Barker, 2001*) secondo alcuni la flora è perennemente presente nello tratto gastro-intestinale, secondo altri è esogena e viene assunta temporaneamente con gli alimenti.

Le chioccioline non si nutrono solo di vegetali, ma anche di detriti e particelle contenute nel terreno, per questo motivo sono state scelte in vari studi come bioindicatori: sono in grado di fornire una visione più precisa dello stato di contaminazione ambientale, in quanto riflettono non solo lo stato delle piante, ma anche del suolo.

Inoltre gli stessi costituenti presenti nell'ambiente, quali piante in disfacimento, funghi e piccoli animali, di cui le lumache si nutrono, hanno a loro volta la capacità di assimilare sulla loro superficie o nelle loro strutture sia elementi in traccia sia inquinanti organici.

Per diminuire il rischio di contaminazione nella lumaca non è sufficiente predisporre solamente un controllo nella scelta dell'alimento, ma risulta necessario un monitoraggio delle caratteristiche fisico-chimiche del terreno, in quanto la chiocciola potrebbe accumulare tossici nutrendosi in parte di sostanze ivi contenute. In particolare l'acidificazione del terreno sembra in qualche modo rendere più mobili, e quindi più disponibili, gli elementi in traccia presenti, con un maggiore rischio di esposizione (*Scheifler et al, 2003*).

3.2.6 Sistema epiteliale

Il corpo della chiocciola è ricoperto da epitelio e salvaguardato da una conchiglia secreta da cellule specializzate.

La parete corporea non ha la sola funzione di protezione, ma attraverso di essa avvengono anche gli scambi con l'ambiente; è grazie a questi passaggi di particelle che i metalli pesanti possono penetrare all'interno dell'organismo (*Gomot, 2002*). L'epitelio può venire in contatto con varie fonti di inquinamento presenti nell'ambiente, tra cui il suolo, i vegetali, l'acqua e organismi di cui la lumaca si ciba, come ad esempio i funghi, sulla cui superficie di accumulano molte sostanze.

Il tegumento è costituito da vari strati: epitelio, muscolo subepiteliale e tessuto connettivo.

Quest'ultimo in particolare sembra avere capacità detossificante nei confronti dei contaminanti, grazie alla presenza di particolari cellule dette 'rogociti'. Queste ultime sono coinvolte nella formazione dell'emocianina e grazie alla loro attività fagocitica possono intervenire nel metabolismo degli ioni metallici.

Molte altre tipologie di cellule deposito sono presenti in questo strato, quali le cellule vescicolari, cellule del calcio e cellule dei granuli; anche queste sembrano partecipare ai processi di detossificazione, ma il loro ruolo all'interno non è ancora stato chiarito.

Le chioccioline utilizzano il sistema epiteliale per assorbire i liquidi di cui necessitano, non sfruttano però l'umidità presente nell'aria, ma assumono acqua direttamente tramite il piede. Uno studio volto ad approfondire questo tema potrebbe svelare se un'acqua contaminata possa portare metalli pesanti all'interno della lumaca tramite questa via.

3.2.7 Sistema emolinfatico

L'emolinfa è il liquido che compone il sistema circolatorio delle chioccioline: riempie la cavità celomatica e viene portato al cuore tramite un sistema aperto (Figura 3.1). Il pigmento in essa contenuto è l'emocianina, che risulta blu se ossigenato, mentre è trasparente quando non è legato all'ossigeno; come detto in precedenza è prodotto dai rodociti. È importante ricordare che questo pigmento contiene rame, non ferro come negli esseri umani, perciò un contenuto elevato di questo elemento è fisiologico in questa specie.

Le chioccioline non hanno un vero e proprio apparato immunitario, poichè questa funzione viene affidata alle cellule del sangue: le immunoglobuline, il sistema complemento ecc. sono sostituite in questo caso da agglutinine, le quali sembrano avere l'incredibile capacità di discriminare tra i vari tipi di sostanze. Queste particolari proteine non si trovano solo nell'emolinfa, ma anche nel muco prodotto dalla cute e sembrano costituire i sistemi più primitivi di difesa contro i microrganismi.

I gasteropodi possiedono cellule sanguigne dette amebociti in grado di fungere da fagociti nella digestione di materiale *non-self*, sia questo di origine organica o no: questo processo è in grado di eliminare in poco tempo anche possibili batteri penetrati nell'organismo, il sito finale di *clearance* sembra essere localizzato nella ghiandola digestiva.

L'abilità della chiocciola nel reagire contro i corpi estranei è rappresentato dal fenomeno dell'encapsulazione: gli amebociti sono in grado di circondare in vari strati il materiale esogeno, fino a formare in pochi giorni un vero e proprio involucro separato dal resto dell'organismo. Sono stati riprodotti sperimentalmente dei casi in cui *A. fulica* è stata in grado di encapsulare una larva di primo stadio del nematode *Angiostrongylus cantonensis*, il quale risulta tra l'altro fonte di zoonosi per l'uomo.

3.2.8 Apparato riproduttore

La chiocciola è un ermafrodita insufficiente, che presenta quindi entrambi gli organi sessuali, (Figura 3.1) ma necessita di un compagno al fine di fecondare le uova. L'apparato riproduttore è molto complesso: nella prima parte del loro ciclo biologico le lumache sviluppano un sistema maschile, che in seguito degenera con comparsa di quello femminile. La gonade, posta nella porzione apicale della ghiandola digestiva, è unica e da essa si diparte un dotto ermafrodita collegato con la ghiandola dell'albume. Lo spermi-ovidotto nel segmento finale si biforca e dà origine ad ovidotto e spermidotto. Durante l'accoppiamento la parte genitale maschile viene reciprocamente inserita nel condotto femminile del partner, al fine di rilasciare gli spermatozoi, in seguito accumulati nel ricettacolo seminale.

La ghiandola dell'albume è deputata alla produzione del materiale peri-vitellino, in grado di fornire nutrimento all'embrione nei primi periodi di vita. Le uova non vengono fecondate subito, ma in seguito al passaggio nel dotto, e in seguito, dopo circa quattro settimane, sono deposte in una buca scavata dalla madre.

Sono stati individuati fattori di regolazione endocrina della gonade: le gonadotropine rilasciate dal sistema nervoso sono in grado di agire direttamente sulla gametogenesi; la gonade a sua volta risulta determinante per lo sviluppo dell'apparato genitale.

E' stato dimostrato che le concentrazioni di metalli a livello di sistema riproduttore e della ghiandola dell'albume sono molto meno significative rispetto a quelle trovate nel sistema digerente (Boshoff, 2013). Tuttavia Gomot e Kerhoas (2000) hanno considerato questo sistema dopo ad aver notato un ritardo nel suo sviluppo in seguito ad esposizione al cadmio.

3.2.9 Sistema olfattivo

Il sistema olfattivo dei gasteropodi è posto nel tentacolo ottico, a carico dei rinofori, dove sono collocati i neuroni sensitivi bipolari. Le particelle odorose sono catturate dall'epitelio esterno e tramite una contrazione della muscolatura del tentacolo vengono spinte verso

l'emolinfa, dove sono disperse. Un odore piacevole provoca continue contrazioni della muscolatura nel mollusco.

Particelle irritanti causano continuo rinnovo delle cellule dell'epitelio olfattivo, oltre ad ispessimento del tessuto stesso e ad una produzione eccessiva di sostanza da parte delle cellule mucipare (*Lemaire e Chase, 1998*). Il muco ivi presente è in grado di intrappolare al suo interno sostanze esogene, come particelle di metalli pesanti.

4 PRINCIPALI SPECIE DI CHIOCCIOLE

Per comprendere le differenze tra le varie specie campionate saranno qui di seguito riportate le principali caratteristiche di ognuna:

Helix pomatia: detta anche *vignaiola*, o *Gros blanc* in Francia, è la chiocciola più pregiata (Fig. 4.1). E' considerata di grossa taglia, con un diametro conchigliare compreso tra 38 e 45 mm, il guscio è rigonfio e di forma globosa, di colore fulvo che con il tempo sbiadisce fino a diventare bianco. Il corpo dell'animale è molto chiaro e bozzellato e riempie completamente la cavità della conchiglia; alla maturità raggiunge un peso di 25 grammi circa.

E' originaria dell'ambiente alpino, perciò è adattata a vivere sui terreni ricchi di calcare dei boschi, delle vigne e delle zone incolte delle nostre Alpi e dell'Appennino. Ne esistono di numerose varietà, a seconda della zona in cui si è stabilita. E' in grado di costruire un opercolo molto duro, spesso e calcareo, che si rivela ottimo da un punto di vista igienico-sanitario. La sua vendita costituisce il 23,44% del mercato italiano, a causa della sua deperibilità dopo la raccolta viene impiegata soprattutto nell'industria conserviera.

Helix aspersa: (ora definita *Cornu aspersus*) detta anche *chiocciola zigrinata* o *petit-gris* dai francesi (Fig.4.2). E' una specie di taglia media e raggiunge un diametro dai 30 ai 35,5 mm. La conchiglia è molto globosa, in particolare l'ultima spira e presenta un asse obliquo; il colore è grigiastro, con zigrinature brune. Possiede un opercolo poco resistente, quasi cartilagineo e poco adatto al trasferimento dell'animale dopo la raccolta. Il colore del corpo è scuro, la carne è molto pregiata. E' di origine mediterranea e vive nella fascia collinare e in pianura, è molto diffusa nell'Italia centrale e meridionale. La sua commercializzazione occupa il 49,19% del mercato italiano.

Helix lucorum: chiamata anche *chiocciola dei boschi* a causa del suo tipico habitat, tra le *Helix* è quella di maggiori dimensioni, con un diametro di 40-43 mm. Si trova soprattutto nella zona appenninica, è estremamente diffusa in Turchia e nelle zone balcaniche. Il suo opercolo è abbastanza resistente, ma la durezza è condizionata dalla quantità di calcare presente nel terreno. Il colore delle carni è molto scuro e per questo motivo ha un prezzo basso. La sua vendita costituisce il 3,7% del mercato italiano, riscuote molto successo nell'industria per la trasformazione della conchiglia.

Eobania vermiculata: volgarmente chiamata *rigatella* (Fig. 4.3), è una specie diffusa nell'area mediterranea, vive soprattutto nelle zone dei litorali. E' di piccole dimensioni ed è facilmente riconoscibile per le livree assunte dalla conchiglia, che risultano molto elaborate. E' presente sul mercato tutto l'anno, ma è interamente di cattura e proviene soprattutto da Grecia e Marocco. Copre il 14,57% del mercato italiano, non viene allevata a causa della piccolissima taglia e della forte mortalità neonatale.



Figura 4.1: Esempjari di Helix aspersa



Figura 4.2: Esempjari di Helix pomatia



Figura 4.3: Esempjari di Eobania vermiculata

5 PROFILO NUTRIZIONALE DELLA CHIOCCIOLA

Il consumatore medio, al giorno d'oggi, non è più solo attento alla salubrità degli alimenti, ma va alla ricerca di quei cibi in grado di poter soddisfare particolari esigenze nutrizionali, o a volte tendenze alimentari del momento.

La continua richiesta di chiocciole dipende per l'appunto dalle loro proprietà nutrizionali, che ne fanno un prodotto estremamente ricercato, non solo più come 'status sociale', ma come vero e proprio alimento comunemente inserito nella dieta.

Le lumache sono ormai note per il loro profilo nutrizionale, composto da scarsa quantità di grassi, perlopiù polinsaturi e da un'alta percentuale di proteine.

In Tabella 5.1 viene rappresentato un confronto tra *Helix pomatia* ed altre carni di specie comunemente inserite nella dieta occidentale.

In Tabella 5.2 è proposto un paragone tra i profili bromatologici di varie specie di chiocciole, sia appartenenti al genere *Achatinidae*, sia al genere *Helix*.

Tabella 5.1: profilo nutrizionale, confronto tra specie animali

	Bovino	Pollo	Sogliola	Chiocciola
Umidità%	71,5	73,9	82,8	84,97
Proteine %	17	14,1	16	12,35
Lipidi %	11,5	12	1,2	0,75

Valori riportati per 100 grammi di parte edibile. Fonte: principi di elicicoltura (Avagnina, 1983)

Tabella 5.2: profilo nutrizionale, confronto tra specie di chioccioline

Specie	Umidità %	Proteine %	Lipidi %	Carboidrati %	Autori	Origine
Helix pomatia	80,80	16,35	0,41		Ozogul et al, 2005 (1)	Cattura
Helix aspersa	82,5	12,87	0,58	4,99	Çagiltay, 2011 (2)	Cattura
Achatina	79,28	10,08			Babalola, 2009 (3)	
Achatina achatina	75,28	17,20			Babalola, 2009 (3)	Cattura
Achatina achatina	77,54	19,27	1,43	0,42	Fagbuaro et al., 2006 (4)	Cattura
Archachatina marginata	73,67	19,53			Babalola, 2009 (3)	
Archachatina marginata	76,56	20,56	1,38	0,007	Fagbuaro et al., 2006 (4)	Cattura
Limicolaria	78,68	18,66	1,17	0,15	Fagbuaro et al., 2006 (4)	Cattura

Valori riportati per 100 grammi di prodotto fresco

1) Ozogul et al. (2005). Fatty acid profile and mineral content of the wild snail (*Helix pomatia*) from the region of the south of the Turkey.

2) Çagiltay et al. (2011). Amino acid, fatty acid, vitamin and mineral contents of the edible garden snail *Helix aspersa*.

3) Babalola et al. (2009). Proximate composition and mineral profile of snail meat from different breeds of land snail in Nigeria.

4) Fagbuaro et al. (2006). Nutritional status of four species of giant land snails in Nigeria.

5.1 Proteine

Dai dati sopra riportati è possibile intuire le grandi potenzialità delle chioccioline come fonte di proteine. Le specie africane in particolare, come *Archachatina marginata*, in cui il livello è pari al 20,5 %. *Malik et al* (2011) apportano un valore proteico pari a quello del bovino, con una quantità di lipidi di molto inferiore.

Le lumache inoltre contengono molti aminoacidi essenziali, inclusi quelli sulfurei. Si definiscono essenziali quegli aminoacidi che l'organismo non è in grado di sintetizzare, ma che devono essere necessariamente assunti con la dieta: le quantità presenti nelle chioccioline sono facilmente comparabili con quelle contenute in carne, latte e uova.

La Tabella 5.3 riporta il valore degli aminoacidi essenziali in cibi di largo consumo.

In *Helix aspersa* gli aminoacidi essenziali più presenti sono lisina, leucina e valina.

Tra i valori riportati il triptofano è assente in quanto non è stato ricercato, non perché non sia presente nella chiocciola.

Dalla Tabella 5.3 è possibile notare che gli aminoacidi essenziali risultano essere presenti in buone quantità nella lumaca, infatti, secondo questi dati, consumando 10 chioccioline (circa 100g) si copre il 30% del fabbisogno giornaliero di aminoacidi di un uomo adulto di 75 chili di peso (Tabella 5.4).

Tabella 5.3: contenuto di aminoacidi, confronto tra alimenti

Aminoacido essenziale	Manzo	Uova	Mais	Latte vaccino	<i>Helix aspersa</i>	<i>Helix lucorum</i>
Istidina	833	298	268	93	253,41	335,50
Isoleucina	932	657	357	192	464,57	376,80
Leucina	1809	1041	1168	355	611,50	785,10
Lisina	1944	880	261	272	721,00	614,90
Metionina	623	437	194	81	426,27	
Fenilalanina	866	662	481	176	362,72	424,70
Treonina	885	623	342	164	450,70	451,20
Triptofano	234	197	63	50		
Valina	1012	823	482	233	714,51	416,60

Quantità di aminoacidi essenziali in mg/100g parte edibile

Fonte: www.inran.it

Tabella 5.4: Dosi giornaliere raccomandate (RDA) per gli aa essenziali -

	Lisina	Metionina	Treonina	Triptofano	Isoleucina	Leucina	Fenilalanina	Valina
RDA	30	15	15	4	20	39	25	26

Valori espressi in mg/kg

Fonte: FAO/WHO (2007)

5.2 Grassi

I grassi, di percentuale bassissima, presentano un basso range di variabilità tra le specie edibili e possiedono una composizione molto particolare: i grassi insaturi rappresentano il 75% del totale, (contro il 5% del bovino) tra questi i polinsaturi ne coprono il 57,4% (Novelli *et al.*, 2002).

In particolare il grasso contenuto nel corpo è soprattutto di origine strutturale, non di deposito, in quanto le scorte dei molluschi sono soprattutto di origine polisaccaridica, non lipidica.

Una scarsa concentrazione di grassi saturi a catena corta e media (l'acido palmitico è circa metà di quello presente nelle altre specie) è senza dubbio un vantaggio in quei consumatori con problemi legati al colesterolo, in particolare al deposito di proteine di bassa densità.

I grassi polinsaturi favoriscono l'espulsione del colesterolo attraverso le vie biliari e sono utili in pazienti affetti da diabete, iper-trigliceridemia, iper-colesterolemia e problemi vascolari.

Tra questi acidi i più rappresentati, in ordine decrescente sono: ac. linoleico (14,65%), ac. arachidonico (12,51%), ac. eicosadienoico (10,08%), ac. eicosapentaenoico (2,05) e ac. α -linoleico (1,19%) (Novelli *et al.*, 2002).

Il rapporto $n6/n3$ è a favore degli $n6$, rappresentati in primis dagli acidi linoleico e arachidonico.

Nel corso degli anni i profili nutrizionali, almeno per il genere *Helix*, non sono cambiati molto, anche se le proteine sembrano essere leggermente aumentate, passando da 8-9 % a superare la soglia del 10% e i lipidi leggermente diminuiti, da 0,8-0,9 a 0,5 (Gomot, 1998). La causa di questa costanza nelle composizioni va forse cercata nella tipologia degli alimenti, che non sono variati di molto nel corso dell'ultimo decennio.

5.3 Calorie

Il valore energetico delle chioccioline è molto basso (Tabella 5.5) e si aggira attorno alle 80-90 kCal/100g di prodotto, a causa della scarsa presenza di grasso di deposito. Gli altri animali hanno bisogno di grandi scorte di glicogeno per accumulare energia, il quale viene in seguito convertito in grasso. I gasteropodi terrestri invece, data la loro scarsa capacità di movimento, non necessitano di enormi quantità di glicogeno, e mancano perciò anche di scorte di lipidi.

Tabella 5.5: confronto contenuto calorico tra diversi alimenti

Energia	Bovino	Pollo	Sogliola	Chiocciola
KCal/100g	145	171	83	67

Dati tratti da Yildirim 2004

5.4 Sali minerali

Le chioccioline sono un'ottima riserva di sali minerali, in quanto li assimilano da diverse fonti, tra cui il suolo, perciò incamerano molti elementi al loro interno. Per questo motivo sono indicate per bambini in crescita e donne in gravidanza.

Il calcio si trova a concentrazioni elevate, dato che è un costituente fondamentale per il loro organismo, un'ingestione di 200 g di chioccioline provvede al fabbisogno giornaliero di una donna in gravidanza. Le quantità medie riportate sono maggiori rispetto a quelle contenute nel latte (119 mg/100g) e raggiungono in alcuni casi, come in *Helix pomatia*, valori simili a quelli ritrovati in formaggi, come il pecorino (607 mg/100g).

Anche il ferro è presente in buone quantità, che risultano simili a quelle riportate per il bovino (1,6 mg/100g). È presente soprattutto nelle specie africane e per questo potrebbe rappresentare una buona difesa contro la comparsa dell'anemia, specialmente in quelle popolazioni povere in cui la dieta è composta esclusivamente da cereali. Il ferro contenuto nei cereali, infatti, non è assimilabile quanto il tipo legato alle proteine del sangue. In Africa purtroppo le grandi diversità culturali portano ad una frammentazione di abitudini alimentari, tanto che in uno stesso stato possono convivere etnie in cui la chiocciolina è comunemente consumata, ed altre in cui è considerata un alimento impuro.

Il consumo di 100 g di chioccioline è in media in grado di soddisfare il fabbisogno giornaliero di vari elementi, tra cui il rame, che ha una RDA di 1-3 mg al giorno, e lo zinco.

A confronto con altri animali comunemente allevati, la lumaca è considerata una bassa fonte di magnesio e fosforo, anche se per il secondo sono stati rinvenuti livelli molto diversi tra le varie specie.

In Tabella 5.6 sono riassunti i valori dei principali elementi per varie specie di chioccioline.

Tabella 5.6: Composizione minerale delle chioccioline

Specie	Ca	Fe	P	Mg	Cu	Zn	Mn	Na	K	Autori
Helix pomatia	726,25	1,71	104,52	54,05		1,35	0,19	90,50	82,17	Ozogul, 2005 (1)
Achatina fulica	66,30	1,30	14,79	15,13	0,58					Babalola, 2009 (2)
Achatina achatina	106,30	1,88	19,01	19,28	0,77					Babalola, 2009 (2)
Achatina achatina	204,63	9,43	131,38	46,15		1,76	0,39	60,94	193,74	Fagbuaro et al., 2006 (3)
Archachatina marginata	126,40	2,29	22,91	25,01	1,03					Babalola, 2009 (2)
Archachatina marginata	201,08	8,69	123,43	45,59		1,54	0,39	50,80	192,78	Fagbuaro et al., 2006 (3)
Limicolaria	36,20	0,72	8,98	5,28	0,29					Babalola, 2009 (2)
Limicolaria	208,75	9,46	153,89	45,99		1,51	0,38	65,10	197,57	Fagbuaro et al., 2006 (3)

Dati riportati in mg/ 100 grammi

1) Ozogul et al. (2005). Fatty acid profile and mineral content of the wild snail (*Helix pomatia*) from the region of the south of the Turkey.

2) Babalola et al. (2009). Proximate composition and mineral profile of snail meat from different breeds of land snail in Nigeria.

3) Fagbuaro et al. (2006). Nutritional status of four species of giant land snails in Nigeria.

5.5 Digeribilità

La digeribilità della chiocciola è elevata, in quanto possiede pochi grassi, poche calorie, e proteine di alto valore biologico, in grado di fornire all'organismo aminoacidi essenziali nelle proporzioni più adatte all'organismo umano.

Ciò resta comunque condizionato dal tipo di preparazione gastronomica: le numerose salse che di solito accompagnano il piatto possono rendere meno facilmente assimilabile l'alimento.

5.6 Variabili che possono influenzare il valore nutritivo

Da diversi anni sono stati intrapresi molti studi per cercare di comprendere se una diversa alimentazione possa in qualche modo alterare le componenti nutrizionali della chiocciola.

A questo proposito *Ademolu et al* (2004) hanno fornito ad esemplari di *Archachatina marginata*, per un periodo di 6 mesi, quattro diverse diete contenenti ognuna una fonte diversa e unica di azoto: soia (DI), pesce (DII), deiezioni di pollame (D3), urea (DIV), dieta di controllo (DV). A seguito di questa somministrazione gli studiosi hanno notato cambiamenti sia strutturali, sia nutritivi dei macro- e micro-elementi.

La DI ha portato al più alto valore di umidità (83,33%) e al il più alto contenuto di grassi (1,70 %).

La dieta III ha registrato il più alto livello di proteine (87,94%), la DIV il più basso (47,54).

Differenze significative sono state rinvenute anche per i sali minerali: il ferro è risultato essere maggiore in DI e in quantità minime in DIV e DIII, in quest'ultima al contrario è stato ottenuto il più alto valore di zinco.

Le lumache alimentate con la dieta a base di deiezioni hanno mostrato il miglior tasso di conversione e di crescita conchigliare, si ipotizza che la causa di questo fenomeno sia dovuta alla presenza di materiale indigerito e scarti metabolici che potrebbero incrementare la crescita del mollusco.

La dieta composta da soia ha rivelato, assieme a quella a base di urea, il consumo minore da parte del mollusco, nel primo caso si pensa la causa sia dovuta ad un'assenza di vitamine, nel secondo al gusto non appetito dalla chiocciola.

Hamzat et al (2002) hanno creato una dieta alternativa utilizzando un prodotto di scarto della pianta *Cola nitida*, comunemente coltivata in Africa, per valutarne la potenzialità e gli effetti sulla chiocciola *Archachatina marginata*. Dalla sperimentazione non sono risultate particolari differenze riguardo alla composizione chimica, se non nella percentuale proteica in cui sono stati rilevati valori più alti rispetto all'alimentazione tradizionale. Anche la valutazione sensoriale ha riscontrato livelli di gradimento simili da parte dei consumatori.

E' molto difficile valutare quale potrebbe essere l'alimento più conveniente sia da un punto di vista economico, sia gastronomico, in primis perché non si conoscono con certezza i fabbisogni nutritivi delle chioccioline, in seguito perché non è facile determinare la quantità di cibo da loro ingerita, soprattutto perché queste si alimentano di notte, né è possibile valutare quali fattori influenzano la preferenza verso un alimento rispetto a un altro.

Soprattutto per *Helix aspersa* è stato dimostrato come la sua composizione chimica sia influenzata dalle condizioni ambientali in cui vive, fatto che è stato osservato anche nelle differenze presenti tra le chioccioline allevate e di cattura.

Non solo gli alimenti, ma anche gli agenti chimici sono in grado di modificare le percentuali di proteine, grassi e umidità presenti nelle chioccioline.

In uno studio di *Radwan et al* (2008) è stato osservato l'effetto di pesticidi carbammati su *Eobania vermiculata*, attraverso la somministrazione del principio sia tramite esche, sia tramite applicazione topica.

In entrambi i casi dopo pochi giorni è stato notato un calo del contenuto lipidico, proteico e del glicogeno a carico della ghiandola digestiva, nella quale, a livello istologico, è stata osservata una degenerazione delle cellule digestive e del calcio.

La diminuzione delle componenti può derivare da diversi tipi di stress: lo stress ossidativo può produrre un utilizzo del glicogeno come fonte di energia, se questa non è più sufficiente vengono utilizzate le proteine, le quali però hanno anche funzione strutturale. Se la quantità proteica scarseggia si incorre in danni strutturali, a causa dei quali possono risultare alterati anche i lipidi.

Nella realtà dell'allevamento è raro che i molluschi vengano a contatto con un un'esca, in quanto i prodotti sono sparsi circa 40 giorni prima dell'arrivo degli animali, e sono in formato liquido o granulare, creati per sciogliersi in breve tempo. Tuttavia la persistenza dei principi attivi nel terreno, o la presenza accidentale di qualche residuo sui vegetali, potrebbe portare all'assunzione dell'agente per via orale o percutanea. A causa della mancanza di un prontuario specifico per le chioccioline gli allevatori si trovano spesso a dover 'testare' i prodotti su una piccola parte dei loro animali, in modo da poterne osservare i risultati.

5.7 Proprietà nutraceutiche

Fin dall'antichità le chioccioline venivano consumate per le loro proprietà nutraceutiche: i Latini le consideravano un ottimo rimedio contro l'indigestione e le ulcere gastriche, le consumavano bollite e arrostate, mangiandole sempre in numero dispari. Erano utilizzate inoltre per tamponare le perdite di sangue dal naso, o per accelerare gli sforzi del parto.

Nel Medioevo le chioccioline venivano impiegate per cicatrizzare ferite ed emorragie, per curare ernie e patologie oculari.

Nelle tradizioni popolari venivano bevute come decotto contro tosse e catarro, in quanto le sostanze mucillaginose di cui sono ricche funzionavano come un espettorante. Venivano addirittura inserite nella farmacopea al fine di preparare pastiglie e sciroppi contro 'malattie pettorali', o venivano triturate fino ad ottenere una polvere bianca in grado, secondo le credenze, di combattere l'asma.

Il brodo di lumache inoltre era considerato un antidoto contro lo scorbuto.

Ambroise Paré le raccomanda addirittura come coadiuvante nella cura del carbonchio (*Bonnemain, 2005*).

Secondo la medicina dell'800 gli estratti della chiocciola erano un ottimo modo per mantenere liscia e lucente la pelle femminile ed esistono tuttora prodotti di bellezza a base di elicina.

Ancor oggi in alcuni luoghi c'è l'usanza di sottoporsi alla 'cura della lumaca', ovvero ingerire una volta al giorno una lumaca cruda appena tolta dal guscio, per curare le ulcere gastriche.

Nelle tradizioni africane vengono inseriti sia la carne, sia il brodo delle chioccioline, per la preparazione di sostanze curative. La carne viene somministrata a donne in lattazione e a bambini in crescita, oltre a persone affette da ipertensione o da anemia. E' considerata efficace contro le convulsioni e le malformazioni ossee.

Il brodo è sfruttato come anti-reumatoide e per la cura di malattie oculari. Grazie alla capacità di bloccare le emorragie e risanare le ferite rientra nella guarigione di amputazione delle dita, di ferite cutanee e di lesioni create durante la circoncisione (*Engmann et al, 2013*).

6 CENNI SUI SISTEMI DI ALLEVAMENTO

La maggior parte dei sistemi di allevamento sono condotti all'aperto, in recinti nei quali le chioccioline vengono introdotte per l'ingrasso e la riproduzione. Nel ciclo completo gli animali che vengono venduti non sono quelli inizialmente immessi nel recinto, ma i soggetti nati dai riproduttori e in seguito sottoposti a ingrassamento.

La particolarità dell'allevamento elicicolo all'aperto è data dalla stabulazione delle chioccioline all'interno degli appezzamenti in cui si trovano in concomitanza le colture destinate alla loro alimentazione. Per gestire questo sistema risultano fondamentali le recinzioni, in modo da dividere gli spazi in compartimenti specifici, la continua manutenzione e la rotazione delle colture, per evitare l'esaurimento del suolo. Le stesse chioccioline non possono permanere troppo a lungo nello stesso recinto, a causa della bava prodotta, che alla lunga copre i vegetali e li rende inappetibili.

Per soddisfare le esigenze nutrizionali degli animali è inoltre necessario provvedere alla semina, in terreni separati e privi di chioccioline, di colture supplementari fornite come alimento, una volta fiorite, la più diffusa tra queste è il girasole.

A seguito della preparazione del terreno, eseguita tramite operazioni di diserbo, messa a terra delle recinzioni e semina delle colture, i riproduttori, acquistati da centri certificati, vengono immessi nel periodo estivo. Trascorse due settimane di tempo in cui i soggetti si ambientano, comincia la riproduzione: le prime chioccioline schiuderanno circa due mesi dopo l'immissione dei genitori.

All'arrivo dell'autunno è necessario prelevare tutti i riproduttori, spurgarli per una decina di giorni e venderli. Nel frattempo le chioccioline nate nei mesi estivi continuano a crescere e si preparano ad interrarsi per il sonno invernale. Alla primavera successiva, a seguito di una preparazione adeguata dei recinti con semina nel periodo di febbraio- marzo, le chioccioline, risvegliate dal letargo, vengono immesse nel recinto di ingrasso. Nello stesso periodo è necessario occuparsi del recinto per i nuovi riproduttori. Questi vengono scelti tra i soggetti più grossi presenti nella zona di ingrasso, vengono prelevati perciò dalle chioccioline nate l'anno precedente, solo gli individui adulti e quindi già 'bordati' sono selezionati. Il processo della *bordatura* consiste nell' indurimento del legamento situato a livello dell'apertura conchigliare anteriore e segna l'arrivo dell'età adulta del soggetto e quindi del raggiungimento del momento adatto alla vendita. Dal mese di luglio in poi i soggetti cominciano a 'bordarsi', la loro commercializzazione proseguirà fino all'autunno e all'esaurimento dei riproduttori. In seguito il ciclo successivo ricomincia.

Non tutte le specie presentano un ciclo biologico di egual durata: *Helix aspersa* cresce molto più velocemente ed entro il secondo anno già è possibile ottenere la bordatura dei soggetti nati l'anno precedente; *Helix pomatia* invece ha una crescita molto più lenta e può essere venduta solo due anni dopo, spesso la maturità viene raggiunta solo nella primavera del terzo anno.

7 ABITUDINI ALIMENTARI DELLA CHIOCCIOLA

La chiocciola è in grado di nutrirsi di materiale organico delle tipologie più diverse: dai vegetali, ai funghi, all'humus, a sostanze in decomposizione, un adattamento sviluppato dalla sua impossibilità a spostamenti veloci, che l'ha costretta ad evolversi in questo senso. Questa inclinazione però non esclude che la lumaca non sia selettiva nella scelta degli alimenti: l'animale consuma in principio i vegetali che gli sono più appetiti, solo in condizioni di necessità attacca piante che normalmente non aggredirebbe. In casi estremi è in grado di ridurre al minimo il suo metabolismo e prepararsi al letargo, per risvegliarsi in uno stato ambientale più favorevole.

Il gasteropode, per tutelarsi dalla possibile ingestione di vegetali tossici, consuma un piccolo pasto quando incontra una nuova pianta, se non incorre in reazioni avverse all'incontro successivo porta a termine un pasto completo. I comportamenti alimentari sono molto diversi a seconda della specie, della densità di altri esemplari nel territorio, dello stato di nutrizione, della disponibilità e tipologia di alimento ecc. ed è molto difficile prevedere che reazione avrà il soggetto davanti ad una determinata tipologia di nutrimento.

Le chioccioline preferiscono piante a foglia larga, tenera e ricca di acqua, scartano invece quelle con foglie strette, con presenza di peli o spine o con odori troppo intensi. Non amano le graminacee, perché hanno foglia stretta, né le solanacee perché sono molto odorose, né le categorie che possiedono un alto contenuto di silicio, in quanto optano per quelle ricche di calcio, elemento essenziale al loro sviluppo.

Tutti i vegetali freschi vengono facilmente appetiti dalla chiocciola, quelli secchi devono essere prima inumiditi dalla rugiada in modo da facilitare l'azione della radula.

Data la grande capacità della lumaca di accumulare al suo interno sostanze estranee senza incorrere ed effetti collaterali, risulta molto difficile, soprattutto per l'allevatore ipotizzare una possibile presenza di inquinanti negli alimenti forniti.

7.1 Piante utilizzate in allevamento

La chiocciola necessita di vegetali e questi possono essere integrati, ma non sostituiti, da nessun altro tipo di dieta. La scelta delle piante da seminare deve tener conto di diverse finalità, le principali sono:

- alimento in quantità adeguata e sempre fresco;
- zone d'ombra in modo da evitare disidratazione del mollusco nei momenti più caldi della giornata;
- struttura a foglia larga in modo che gli animali possano arrampicarsi facilmente;
- radici in grado di frantumare il terreno in modo da crear habitat più adatto alla deposizione delle uova;
- manutenzione facile da parte dell'allevatore;

I mangimi concentrati, in forma di sfarinati, pellettati o di cereali soffiati, si stanno diffondendo come integrazione ai vegetali; solitamente vengono sparpagliati sulla vegetazione, la quale deve essere necessariamente presente, soprattutto per soddisfare il bisogno d'acqua degli animali.

Viene qui di seguito proposta una tabella riassuntiva (Tabella 7.1) dei principali alimenti somministrati in allevamento, il periodo di utilizzo e loro caratteristiche principali.

Tabella 7.1: Principali piante coltivate in allevamento elicicolo

Nome del vegetale	Caratteristiche principali	Periodo di utilizzo
Ravizzone o cavolo cavaliere	pianta rustica, le sue foglie larghe sono ottime sia come alimento sia come riparo	resiste ai freddi dell'inverno e viene usato anche in primavera
Bieta	pianta a foglie larghe che forniscono ottimo riparo e nelle quali viene raccolta l'acqua utile all'abbeverata. Apprezzata nella sua interezza per l'alto contenuto d'acqua.	estivo, sostituisce il ravizzone nella stagione calda
Radicchio spadone	pianta a fusto alto in grado di fornire ombreggiatura adeguata, radici carnose	Primavera
Tarassaco	vegetale utilissimo per le chioccioline appena schiuse, in quanto è la prima pianta a svilupparsi nel periodo post-invernale	Primavera
Girasole	pianta di facile coltivazione, fusto alto che fornisce ombra, impiegata come alimentazione di supplemento. Fiore molto appetito dalle giovani chioccioline	piantato a più riprese durante tutto l'anno, in modo da avere fino ad autunno inoltrato una fonte di nutrimento supplementare rispetto alle piante coltivate in allevamento
Carota	appetita la radice, non la parte verde, molto gradita perché essendo solida difficilmente marcisce velocemente	tutto l'anno
Dragoncello	usata per dare aroma alla carne, viene miscelata ad altri alimenti, mai data da sola	
Rafano	usata per insaporire la carne, le chioccioline si nutrono della parte verde	
Timo	conferisce aroma delicato alle carni, molto appetito dalle chioccioline	

7.2 Possibili tipologie di accumulo di contaminanti nei vegetali

Come accennato in precedenza la chiocciola si nutre di vegetali e la via orale è la maggior fonte di assunzione di metalli pesanti; sarà di seguito presentata una piccola riflessione sui possibili contaminanti contenuti nelle piante utilizzate in allevamento.

I vegetali assorbono ioni metallici, se questi sono solubili nel terreno, come accade in caso di presenza di terreno acido. Alcuni elementi sono essenziali per lo sviluppo della pianta, come il rame, lo zinco e il ferro, altri risultano tossici e devono essere disattivati tramite sistemi di detossificazione.

I metalli vengono inizialmente assorbiti dalle radici, entrano nelle cellule e qui sono chelati e inattivati tramite proteine dette *fitochelatine*, come accade per il cadmio. In altri casi gli ioni vengono inglobati in vacuoli e fatti precipitare, come lo zinco, o legati a particelle *scavenger*, con funzione anti-ossidante, esercitata da particelle come il glutatione.

Le piante hanno sviluppato diversi meccanismi di difesa nei confronti dei metalli, mostrando delle strategie che possono essere riassunte in tre classi principali: *excluders*, quando ne prevengono l'assunzione, *indicators*, se li assorbono e in seguito li detossificano tramite chelazione, *accumulators* se ne accumulano in elevate concentrazioni, indipendentemente dal livello ambientale (Bargagli, 1998).

Le tipologie che potrebbero incidere sulle fonti di inquinamento in allevamento sono le *excluders* e le *accumulators*, le prime come mezzo per diminuire le possibilità di contaminazione, le seconde come sorgente di accumulo per le chioccioline. Diversi studi esistono riguardo alla seconda tipologia di comportamento, a causa della possibilità di utilizzare la loro capacità di estrazione a fini ambientali tramite la fitoestrazione, grazie alla quale gli inquinanti passano dalla matrice al vegetale. Questo metodo di risanamento, può rivelarsi molto utile anche a questo studio al fine di indagare l'effettività di questa traslocazione nelle specie vegetali sopra elencate.

Marchiol et al (2008) hanno esaminato il ruolo del girasole (*Helianthus annuus*) all'interno di un progetto di fitoestrazione al fine di purificare un suolo dai seguenti metalli: As, Cd, Co, Cu, Pb e Zn. La funzione delle piante nel processo è quella di crescere quanto più possibile e di concentrare alte quantità di contaminanti senza incorrere in effetti collaterali.

I metalli pesanti si sono accumulati in modo costante durante il ciclo vegetativo, ad eccezione del rame e dell'arsenico, i quali hanno subito un picco di accumulo al termine dello sviluppo del vegetale. Va ricordato che è il fiore di *Helianthus* ad maggiormente appetito dalle chioccioline, perciò il ciclo biologico della pianta viene portato a termine in allevamento. Il girasole non è risultato essere una pianta iperaccumulatrice, in quanto i valori assoluti non si sono rivelati molto elevati e le quantità depositate nei vegetali sono simili a quelle nel suolo.

Almeno due fattori appaiono influenzare l'ottimizzazione del processo: il fertilizzante e la specie vegetale. Il primo svolge un ruolo importante in quanto un ammendante organico è in grado di legarsi agli elementi presenti nel terreno e di renderli meno disponibili per la fitoestrazione. La scelta della pianta può influenzare l'ottimizzazione del metodo in quanto la parte epigea dimostra capacità selettive di accumulo, ad eccezione del piombo e del rame, che si sono dimostrati indipendenti al fenomeno. In particolare il girasole manifesta attitudine particolarmente verso il cadmio e lo zinco.

Occorre ricordare che nell'allevamento elicicolo *Helianthus annuus* non viene coltivato negli stessi recinti delle chioccioline, ma in appezzamenti separati, in cui le concentrazioni nel suolo potrebbero a questo punto essere monitorate e regolate senza pericolo di ferire i molluschi.

Uno studio simile è stato realizzato da *Song et al* (2012) per una varietà di *Beta vulgaris*, trovando nella specie un buon candidato per la fitoestrazione del cadmio, grazie alla grande biomassa prodotta dalla pianta durante l'esperimento e alla sua elevata capacità di accumulo. L'uso di un fertilizzante organico porta ad aumento della crescita totale del vegetale, ma ad una diminuzione dell'assorbimento del metallo. In entrambi gli studi sopra riportati è possibile notare una capacità chelante dell'ammendante organico nei confronti degli elementi in traccia; sarebbe interessante condurre un'indagine al fine di verificare se anche il materiale della stessa natura prodotto dalle chioccioline possa essere in grado di esercitare una qualche inibizione nell'assorbimento.

Un processo simile a quella sopra citato è la fitostabilizzazione, secondo la quale i metalli non si trasferiscono alla parte aerea del vegetale, ma trovano il loro target principale nella radice.

Per quanto riguarda gli alimenti forniti alle chioccioline, il fenomeno potrebbe rivelarsi particolarmente importante per la carota, *Zheng et al* (2008) hanno portato avanti una ricerca al fine di individuare i livelli di cadmio accumulati nel fittone, la parte carnosa del vegetale, in seguito ad esposizione a terreni inquinati da Cd. Dai risultati è emerso che la carota è una buona concentratrice di cadmio, soprattutto a carico della parte edibile per le chioccioline, e quindi dovrebbe essere evitata la sua coltivazione in terreni ricchi di questo elemento.

È importante ricordare che il successo di un allevamento elicicolo deriva dal ridurre al minimo le spese derivanti dalla manutenzione per i recinti e da un uso ottimale degli alimenti. Risulta quindi evidente come sia impensabile mettere in atto procedure dispendiose con lo scopo di ridurre lo stato di inquinamento del terreno.

La scoperta di specie vegetali refrattarie ai metalli pesanti potrebbe rappresentare in futuro una svolta anche nel campo delle lumache; sono già state individuate in tal senso differenze genotipiche all'interno di una stessa coltura. Il fattore ultimo da tenere in considerazione è la chiocciola stessa, la quale è molto esigente e selezionatrice riguardo alle categorie di piante che le sono gradite.

7.3 Altre fonti di contaminazione in allevamento

La prima sorgente di inquinamento dopo gli alimenti è rappresentata dal terreno, sia tramite via digestiva, sia tramite esposizione cutanea, come visto in precedenza (*Gomot, 2002*). La disponibilità dei metalli dipende sia dalle caratteristiche degli stessi, sia dalle condizioni del suolo.

Non sono stati constatati studi in letteratura riguardo alla campionatura di terreni all'interno di allevamenti di chioccioline.

L'acqua è un elemento fondamentale ai fini dell'allevamento elicicolo, in quanto è necessaria a mantenere quell'ambiente umido che è l'habitat ideale per il gasteropode. Anche in questo caso non sono stati individuati riferimenti in letteratura, tuttavia numerosi studi si sono incentrati sul problema dei metalli pesanti nelle coltivazioni irrigate tramite acque reflue. Dati i crescenti disagi creati dal possibile esaurimento delle scorte di acqua potabile è stata a lungo discussa la possibilità di usare fonti alternative di irrigamento per l'agricoltura. Indagini in

questa direzione potrebbero rivelarsi utili anche nell'ambiente elicicolo, date le grosse quantità d'acqua impiegate in questa attività.

Normalmente negli allevamenti viene utilizzata per l'irrigazione l'acqua di pozzo, o in alternativa vengono scelti dei terreni situati in prossimità di laghetti o di acque di scorrimento, l'uso di acque reflue potrebbe rivelarsi una buona fonte di risparmio per l'allevatore, nel caso in cui queste non fossero dichiarate sorgente di pericolo per la salute umana.

Non esiste ad oggi una regolamentazione riguardante i prodotti fitosanitari permessi in elicicoltura, agli allevatori, per poter utilizzare agenti pericolosi o tossici, è sufficiente possedere un patentino appositamente rilasciato dalla provincia di residenza.

Fino a qualche anno fa, quando il settore delle chioccioline era considerato secondario in termini di importanza, venivano impiegati terreni marginali, considerati di scarto rispetto alle colture principali, e quindi molto meno fertili. Per riuscire a coltivare gli alimenti necessari ai gasteropodi era quindi necessario un maggior impiego di fitosanitari.

Al giorno d'oggi l'allevamento elicicolo è molto diverso, ad esso vengono destinati i terreni più ottimali, con conseguente riduzione dell'utilizzo di prodotti chimici. Il più diffuso è il *clorpirifos* al 7%, un insetticida organofosforico impiegato durante il periodo della semina, circa 40 giorni prima dell'introduzione delle chioccioline.

Non sono presenti studi riguardo all'effetto del principio sulle lumache, ma secondo l'esperienza degli allevatori il prodotto, se dato in presenza di esemplari provoca la morte delle lumache appena schiuse. Le ditte di produzione assicurano una breve durata dell'agente nel terreno, pari a circa 60 giorni, la forma granulare è più persistente rispetto a quella liquida. La necessità della creazione di un elenco di prodotti autorizzati e di studi adeguati è molto sentita in questo settore, sia da un punto di vista igienico-sanitario, sia da parte degli allevatori, i quali molto spesso sono costretti ad eseguire delle prove empiriche sulle loro stesse chioccioline al fine di testarne le conseguenze.

8 MALATTIE DELLA CHIOCCIOLA

I fattori principalmente in grado di colpire le chioccioline sono rappresentati da parassiti e predatori, ben poco si conosce sulle malattie infettive di questa specie, da un punto di vista igienico-sanitario sono scarse le patologie in grado di essere trasmesse all'uomo.

Nonostante siano in grado di veicolare al loro interno una flora microbica varia, questi animali sembrano difendersi dagli attacchi batterici tramite una sostanza contenuta nella bava, molto simile alla streptomina, la quale ha dimostrato la sua efficacia in laboratorio contro organismi come *E. coli* e *Staphylococcus aureus*.

Un secondo meccanismo di difesa è dato dall'epifragma, il quale protegge l'apertura buccale della chiocciola, durante il sonno invernale, da infezioni, traumi e disidratazione.

Se molto si sa sul ruolo strutturale di questo elemento, poco si conosce sulle sue proprietà antimicrobiche: *Abiona et al. (2013)* hanno approfondito quest'ultima qualità analizzando l'epifragma di chioccioline normali e albine appartenenti alla specie *Archachatina marginata*.

Opercoli completamente formati sono stati prelevati in modo sterile e per ognuno di essi è stata calcolata la MIC (concentrazione minima inibente) nei confronti di patogeni quali *E. coli*, *Salmonella*, *Pasteurella* e *Staphylococcus aureus*, messa poi a paragone con la MIC dell'antibiotico streptomina. Per tutti gli agenti, ad eccezione di *S. aureus*, la MIC del mollusco si è rivelata più efficace rispetto a quella del farmaco. In particolare il potere antibatterico dell'epifragma di chioccioline di colorazione normale si è dimostrato più potente di quello delle albine: è stata ipotizzata una carenza in quest'ultime, forse per una assenza genetica, di enzimi e proteine possibilmente coinvolti nel processo. I risultati ottenuti da *Abiona* hanno rivelato la potenzialità delle chioccioline come prodotto antimicrobico, considerati soprattutto i problemi di resistenza antibiotica ormai diffusi (*Spellberg et al., 2008*).

Episodi di alta mortalità imputabili ad *Aeromonas* spp sono stati documentati sia in *Achantina fulica*, sia in *Helix aspersa*.

Scarsissime informazioni sono disponibili per quanto riguarda le malattie virali.

I parassiti rappresentano il problema più grave all'interno di uno stabilimento, le cause principali sono da attribuirsi a scarse condizioni igieniche nell'allevamento, inadeguata nutrizione, sovrappopolamento e cattiva gestione da parte dell'allevatore.

Nelle chioccioline allevate è possibile constatare frequentemente la presenza di nematodi e di acari, entrambi fonti di gravi danni, oltre alla presenza di funghi come *Fusarium spp.*, in grado di diminuire la schiudibilità delle uova.

Gli acari sono maggiormente rappresentati da *Riccardoella limacum*: si trovano per lo più al riparo nel bordo conchigliare o nel pneumostoma, attraverso il quale entrano per raggiungere il polmone e nutrirsi del sangue del loro ospite. È stato dimostrato come questi parassiti siano in grado di provocare sia una diminuzione della crescita fino al 40%, sia problemi riproduttivi (*Graham et al 1996*), pare inoltre che sia coinvolta una predisposizione genetica all'infestazione.

I soggetti allo stato selvatico sono spesso invece colpiti da ditteri, i quali rilasciano le loro uova sulla conchiglia del mollusco e all'interno di esso completano il loro ciclo di sviluppo, sembrano in particolare preferire chioccioline che hanno appena ovodeposto (*Elmslie, 2005*).

Altre cause mortalità sono date dai predatori, quali roditori, uccelli, insetti carnivori, rettili e anfibi, oltre che da condizioni climatiche avverse e cattiva gestione da parte dell'allevatore; sarà qui di seguito proposta una tabella riassuntiva (Tabella 8.1) dei principali fattori di danno, con i corrispettivi effetti sul mollusco.

Tabella 8.1: Principali agenti di mortalità della chiocciola

FATTORE	CONSEGUENZA SULLA CHIOCCOLA
Predatori: roditori, carabidi, stafilinidi, lampiridi, arionidi	Morte degli individui, soprattutto quelli giovani, morte anche delle uova di cui i predatori di nutrono
Condizioni climatiche avverse: pioggia eccessiva e acqua stagnante, vento, sbalzi di temperatura	Rispettivamente: annegamento, disidratazione, congelamento
Avvelenamento da rodenticidi, insetticidi, disinfestanti ecc.	Morte dei soggetti con pericolo di residui all'interno dei sopravvissuti
Parassitosi	Produzione eccessiva di bava, danni a causa degli acari e ditteri, fino a morte dei soggetti
Deficienze nutrizionali	Sviluppo di parassitosi, indebolimento della conchiglia, mancata produzione dell'epifragma fino a morte dell'individuo
Traumi	Rottura della conchiglia fino a decesso del soggetto
Batteri: Aeromonas, Pseudomonas	Indebolimento del soggetto, perdita di peso, comparsa di odori sgradevoli.

9 LEGISLAZIONE

Nell'introduzione è già stato messo in evidenza il problema della mancanza di una normativa specifica riguardante le chioccioline, che sono considerate alimenti di origine animale e pertanto sono state inserite nel Reg. CE 853/2004, in particolare nella sezione XI dell'Allegato III, in cui sono riportate le indicazioni per gli operatori del settore alimentare.

Verranno qui di seguito illustrate le indicazioni di legge ad oggi presenti nel sopraindicato Regolamento comunitario:

- *le lumache devono essere macellate in uno stabilimento costruito, sistemato ed attrezzato a tal fine.*
- *le lumache che muoiono al di fuori della macellazione nello stabilimento non devono essere preparate per il consumo umano.*
- *le lumache devono essere oggetto di un esame organolettico effettuato per campionamento. Se tale esame indica che possono presentare un pericolo, non devono essere utilizzate per il consumo umano.*
- *Dopo la macellazione, l'epato-pancreas delle lumache, se può presentare un pericolo, deve essere tolto e non deve essere utilizzato per il consumo umano.*

Risulta evidente che la normativa non riporta indicazioni precise all'operatore per quanto riguarda l'etichettatura, le modalità di macellazione, le caratterizzazioni analitiche, come sono invece suggerite per altri prodotti considerati di origine animale.

La mancanza di una legge per l'etichettatura porta alla presenza sul mercato di prodotti privi di indicazioni di specie e della zona di produzione o di provenienza. Il consumatore è attento all'origine degli alimenti che compra, soprattutto in seguito alle emergenze alimentari degli ultimi anni e una carenza di informazioni può ripercuotersi sulla credibilità di ciò che è presentato come un articolo di qualità.

Il macello rientra inoltre nella produzione post-primaria, come indicato nel Reg. CE 852/2004 e deve perciò applicare un sistema di HACCP per l'analisi dei pericoli e dei punti critici di controllo.

Lacune sono riscontrate anche nel Reg. CE 854/2004, nel quale non sono presi in considerazione i gasteropodi terrestri, ma solo quelli marini, con assenza quindi di qualsiasi informazione riguardante la visita ispettiva da parte del veterinario.

In circa la metà degli allevamenti italiani i servizi sanitari di competenza hanno attivato un'opera di inquadramento degli stabilimenti, con lo scopo di creare una banca dati del settore, grazie al rilascio del numero aziendale. Nei restanti allevamenti questa attività non è stata pianificata, in quanto mancano delle direttive, sia nazionali, sia comunitarie. Il raggiungimento di un elenco completo dei produttori sarebbe un grosso successo per gli elicoltori, soprattutto per chi di loro assiste all'immissione sul mercato di prodotti esteri, magari provenienti da condizioni igienico-sanitarie inferiori, scambiati per origine italiana, che nell'immaginario collettivo è sinonimo di qualità.

Riferimenti riguardanti il controllo ufficiale sono riportati nella Circolare Ministeriale del 3 luglio 1987 n° 30, nella quale viene suggerita una visita ispettiva in grado di verificare lo stato di salute generale, basandosi su di un esame sensoriale che comprende: colore, odore, anomalie di aspetto e comportamento, presenza di schiuma o di eccesso di feci.

Il mancato inserimento del mollusco nel Regolamento CE 854/2004 rende molto problematica la visita al veterinario in quanto quest'ultimo si trova ad affrontare due tipologie diverse di chioccioline: 'corritrici' ed epifragmate, per le quali è necessaria una tipologia diversa di visita ispettiva.

Entrambe le varietà devono portare sul mercato dei soggetti vivi e in salute: nel primo caso risulta relativamente più semplice verificarne la vitalità, in quanto l'individuo si presenta reattivo a vari stimoli, il piede è disteso e compatto e i tentacoli si retraggono a stimoli tattili, la cute del soggetto è lucente e umida e non compaiono odori sgradevoli. Le caratteristiche del muco possono aiutare nella valutazione: le secrezioni sono limpide, poco viscoso hanno basso contenuto di ioni nelle lumache non stressate; in caso contrario il muco risulta denso, quasi lattescente e con un alto contenuto di calcio.

Per le chioccioline opercolate la visita è invece più complessa, in quanto il gasteropode è racchiuso e sigillato nella sua conchiglia e non è possibile innescare in esso reazioni. La struttura dell'epifragma ci fornisce comunque informazioni sullo stato di salute del soggetto in esame, in quanto un opercolo integro e spesso è indice che la chiocciolina al suo interno è vitale.

Al contrario se il coperchio è rotto, in cattive condizioni, o eccessivamente retratto all'interno della conchiglia, allora l'ospite potrebbe essere deceduto; anche in questo caso l'olfatto può dare buone indicazioni sullo stato di conservazione e sulla vitalità del prodotto. E' necessario inoltre tenere in considerazione le differenze di specie, per non incorrere in errori: ad esempio *Helix lucorum* ha un corpo molto più magro di *H. pomatia*, perciò presenta un opercolo molto più ritirato nel guscio rispetto a quest'ultima specie, nonostante i soggetti siano sani.

Le lumache sono considerate '*prodotti che non formano oggetto di armonizzazione comunitaria, ma i cui scambi sarebbero soggetti a controlli*' e sono perciò inserite nella Direttiva 118/92/CEE, la quale stabilisce le *condizioni sanitarie e di polizia sanitaria per gli scambi e le importazioni nella Comunità di prodotti non soggetti, per quanto riguarda tali condizioni, alle normative comunitarie specifiche di cui all'Allegato A, capitolo I, della Direttiva 89/662/CEE e, per quanto riguarda i patogeni, alla Direttiva 90/425/CEE.*

Le chioccioline sono inoltre escluse dal Reg. CE 1099/2009, il quale sancisce i criteri per la protezione degli animali durante l'abbattimento: l'articolo 1 applica il suddetto Regolamento agli animali utilizzati per la produzione degli alimenti, definendo animale un essere vertebrato; risulta quindi evidente che la normativa trascuri i gasteropodi, in quanto privi di una struttura scheletrica.

La mancanza di studi adeguati non permette la definizione di una procedura standard per l'abbattimento delle lumache, che comprenda le fasi di immobilizzazione, stordimento e verifica di quest'ultimo, sistema invece collaudato da diversi anni per i mammiferi con i quali gli operatori hanno frequentemente a che fare. Risulta inoltre evidente che il protocollo valido per la fauna zootecnica non è applicabile ad una specie con una fisiologia e risposte così diverse e lontane, per le quali sono necessarie ancora molte ricerche.

Nonostante le poche conoscenze, il consumatore è comunque attento e curioso di capire se le manipolazioni portino in qualche modo sofferenza ai molluschi e senza delle forme di controllo regolamentate in via ufficiale è la commercializzazione stessa del prodotto che ne risente.

Alcune leggi regionali, come ad esempio la legge 32/1982, emessa dalla regione Piemonte, che abroga la precedente 68/1978 e la legge 53/1974 promulgata dalla Lombardia, , indicano i limiti di raccolta temporali e quantitativi per il genere *Helix*, per assicurare la protezione della fauna locale.

La Comunità Europea, a seguito del crescente interesse dei consumatori riguardo alla salubrità dei prodotti alimentari, ha emanato il Regolamento 1881/2006, per fissare dei tenori massimi di contaminanti negli alimenti, siano essi di origine antropica o ambientale.

Nonostante sia ormai stata dimostrata la propensione delle chioccioline ad accumulare al loro interno varie sostanze, tra le quali i metalli pesanti, queste non sono state incluse all'interno del sopracitato Regolamento Comunitario, né nelle modifiche successive (Reg. 629/2008; Reg. 420/2011). La carenza è aggravata dal fatto che per i molluschi bivalvi esistano invece dei valori specifici per vari elementi, tra cui piombo e cadmio, quest'ultimo sembra avere particolare tendenza ad accumularsi nell'epato-pancreas delle lumache (*Menta et al, 2001*).

Per quanto riguarda i criteri microbiologici bisogna rifarsi al Regolamento 2073/2005, nel quale vengono espressi i limiti per i gasteropodi vivi e le cui indicazioni vanno inserite nel piano HACCP dell'operatore del settore alimentare.

La flora microbica è diversa tra una chiocciola epifragmata, la quale, se conservata in ottime condizioni, può essere considerata assente dalla presenza di microrganismi e una chiocciola corritrice, che, se salubre, normalmente vede la presenza di saprofiti non dannosi per l'uomo, ma che potrebbe accogliere al suo interno anche patogeni.

Dato il continuo aumento di presenza sul mercato di chioccioline *ready-to-eat*, già cotte e pronte al consumo, una particolare attenzione dovrà essere applicata dall'operatore nella manipolazione di questi prodotti, in modo da evitare la contaminazione sia con batteri di origine ambientale, in grado di dare tossinfezioni nell'uomo, quali *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* e *Listeria monocytogenes*, sia batteri di origine umana, come *S. aureus* e fecali derivanti da scarse condizioni igieniche, quale *E. Coli*. Una proposta di legge, a seguito di 3 anni di lavoro, è stata presentata nel settembre 2012 al Ministero della Sanità ed è tuttora in attesa di una valutazione e presa d'atto definitiva.

L'elaborazione del disegno ha richiesto l'intervento di vari esperti nel campo dell'elicicoltura: sotto la guida del dottor Avagnina e del Dipartimento di Legislazione Veterinaria della Scuola di Medicina Veterinaria di Milano un gruppo di professori, veterinari ed ispettori ha redatto una proposta normativa con le indicazioni per creare una legislazione in grado di soddisfare le necessità di tutte le figure coinvolte nel settore.

Verranno riportati qui di seguito i limiti di legge inclusi nel Reg. 2073/2005 (Tabella 9.1).

Tabella 9.1: Limiti microbiologici Reg. 2073/2005

Categoria alimentare	Microrganismi/loro tossine, metaboliti	Piano di campionamento (1)		Limiti	Metodo d'analisi di riferimento (2)	Fase a cui si applica il criterio
		n	c			
Molluschi bivalvi vivi ed echinodermi, tunicati e gasteropodi vivi	<i>Salmonella</i>	5	0	Assente in 25 g	EN/ISO 6579	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
Molluschi bivalvi vivi ed echinodermi, tunicati e gasteropodi vivi	<i>E. coli</i> (3)	1(4)	0	230 MPN/100 g di carne e liquido intravalvare	ISO TS 16649-3	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
Crostacei e molluschi cotti	<i>Salmonella</i>	5	0	Assente in 25 g	EN/ISO 6579	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
Alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di <i>L. monocytogenes</i> , (5)	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g	EN/ISO 11290-2 (6)	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
Prodotti sgusciati di crostacei e molluschi cotti	<i>E. coli</i>	5 (7)	2 (8)	m= 1 ufc/g M= 10 ufc/g	ISO TS 16649-3	Fine del processo di lavorazione (9)
Prodotti sgusciati di crostacei e molluschi cotti	<i>Stafilococchi coagulasi-positivi</i>	5 (7)	2 (8)	m= 100 ufc/g M= 1000 ufc/g	EN/ISO 6888-1 o 2	Fine del processo di lavorazione (9)

- (1) n = numero di unità che costituiscono il campione
- (2) si applica l'ultima edizione della norma
- (3) *E. coli* è qui utilizzato come indicatore di contaminazione fecale
- (4) Campione aggregato costituito da almeno dieci animali
- (5) Quali ad esempio chiocciole in conserva sotto poste a trattamento termico
- (6) 1 ml di inoculo viene posto su una piastra di Petri di 140 mm di diametro o su tre piastre di Petri di 90 mm di diametro.
- (7) n = numero di unità che costituiscono il campione.
- (8) c = numero di unità campionarie i cui valori si situano tra m e M.
- (9) Azioni da compiere in caso di risultati insoddisfacenti: miglioramento delle condizioni igieniche durante la produzione

10 LE CHIOCCIOLE E I METALLI PESANTI

La presenza dei metalli pesanti negli alimenti ha sollevato, soprattutto negli ultimi anni, molto interesse da parte della Comunità Europea la quale, tramite commissioni scientifiche, ha avviato molti studi per identificare delle dosi massime assumibili al fine di evitare danni per la salute umana.

I metalli sono naturalmente presenti nella crosta terrestre come elementi in traccia: a causa di fenomeni geologici quali l'erosione e per effetto del movimento di acqua e vento vengono diffusi nell'ambiente.

Tuttavia negli ultimi decenni la fonte principale della loro presenza sul pianeta è dovuta ad attività antropiche, le quali hanno portato ad un enorme inquinamento dell'ecosistema.

Le fonti di esposizione sono molto alte per l'uomo, non solo per il fatto che i contaminanti si trovano nel nostro habitat, ma soprattutto perché sono in grado di entrare nelle catene biologiche e di conseguenza nella filiera alimentare.

I metalli sono coinvolti nel funzionamento del corpo umano, ma se raggiungono alte dosi possono dare tossicità acuta o cronica, in quest'ultimo caso il pericolo maggiore è rappresentato dalla loro capacità di accumulo, grazie alla quale possono restare all'interno di un organismo per anni, fino a raggiungere livelli molto elevati, a causa della loro stabilità e capacità di legarsi a componenti organici come le proteine.

In questo studio sono stati analizzati i seguenti metalli: arsenico, cadmio, calcio, cromo, ferro, magnesio, mercurio, nichel, piombo, rame, sodio, stagno, zinco.

E' stato dimostrato che le chioccioline sono in grado di assumere metalli pesanti per via orale o tramite assorbimento cutaneo, a causa della grande superficie umida che risulta a contatto con il terreno (*Coeurdassier et al, 2002*).

Non tutti gli elementi hanno la stessa pericolosità e si concentrano allo stesso modo: quelli che non sono essenziali sono i più pericolosi, in quanto non esistono vie di eliminazione precise ed efficaci, o sistemi di regolazione specifici (Tabella 10.1).

Anche i metalli essenziali, quali ad esempio zinco e rame, pur essendo necessari per la sopravvivenza, possono ad alte dosi dare tossicità; quest'ultima in particolare si presenta quando la concentrazione raggiunta supera i livelli di tolleranza dell'organismo, le cui vie di escrezione non funzionano più.

Tabella 10.1: Grado di tossicità metalli pesanti

Grado di tossicità	Metalli
Elevato	As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb
Moderato	Cu, Fe, Zn
Basso	Sn

Le contaminazioni degli alimenti possono essere primarie, se ad essere inquinato è l'ambiente in cui è presente l'allevamento o la coltura, o indirette, se il contatto avviene durante le fasi di trasformazione, conservazione o distribuzione del prodotto.

Risulta evidente che le lumache sono dirette ad una triplice esposizione: vivendo in stretto contatto con il terreno potrebbero inquinarsi tramite quest'ultimo, o a causa dell'ingestione di

piante contenente metalli, in questi casi si parla di contaminazione primaria, o nella fase di produzione finale (contaminazione secondaria).

Per ridurre le contaminazioni dirette sono stati presi provvedimenti con lo scopo di ridurre la quantità di inquinanti nelle emissioni prodotte dalle attività industriali umane, dai fitosanitari e da altre fonti di inquinamento come i carburanti.

Per quanto riguarda le esposizioni indirette invece, è stato sviluppato un sistema di controllo grazie al cosiddetto ‘pacchetto igiene’, nel quale sono stati sviluppati concetti come:

- l’HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Points*), secondo il quale è necessario individuare i punti critici all’interno della filiera di produzione, per tenere sotto adeguato controllo il processo;
- le GMP (*good manufacturing practices*), che permettono di creare un piano di lavoro basandosi sulle tecniche di lavorazione più adatte e in grado di assicurare la sicurezza dell’alimento;

E’ proposta qui di seguito una tabella riassuntiva (Tabella 10.2), al fine di visualizzare più chiaramente le origine antropogeniche più frequenti per i metalli; in seguito vengono analizzati i vari elementi da un punto di vista igienico-sanitario.

Tabella 10.2: Fonti di contaminazione di origine antropica

Fonte di contaminazione	Metalli coinvolti
Sorgenti elettroniche	As, Hg
Mezzi di trasporto e combustione di carburante	Cd, Ni
Industria metallurgica e fondiaria	As, Cu, Fe, Pb, Zn
Sistemi di smaltimento	As, Cd, Hg, Pb
Agricoltura	As, Cd, Cu, Hg, Zn
Vernici e piastrelle	Cd, Hg, Pb
Disinfettanti	Cd, Hg
Industria del legno	As, Cu
Industria mineraria	Hg

10.1 Arsenico

L'arsenico è un metallo presente in forma organica o inorganica nell'ambiente ed è di origine antropica o naturale. La fonte maggiore di esposizione umana è rappresentata dall'ingestione di alimenti contaminati; fonti di contatto diverse da quella sopracitata non sembrano essere significative.

Secondo parere dell'EFSA i prodotti più inquinati sono rappresentati da: prodotti della pesca, acqua e cereali, perciò le abitudini alimentari della popolazione influenzano molto il grado di esposizione, ad esempio nei luoghi in cui viene fortemente consumato il riso è stata stimata una dose di assunzione giornaliera pari a 1 µg/kg p.v.

Tra i vari prodotti utilizzati dall'uomo, che potrebbero aver contaminato l'ambiente sono inclusi pesticidi e additivi, tutt'ora utilizzati in alcuni Paesi.

L'arsenico inorganico sembra essere la forma più pericolosa per la salute: una sua assunzione cronica può portare a neoplasie alla pelle, al tratto urinario e polmonare, problemi cardiovascolari, lesioni della cute e diabete.

La commissione JECFA (*Joint Fao Expert committee on food additives*) ha stabilito un limite massimo di assunzione settimanale pari a 15 µg/kg p.v., ma a seguito di un'indagine svolta dall'EFSA, questo limite è stato considerato troppo alto: per mezzo di uno studio che ha coinvolto 19 Paesi europei è emerso che il consumatore medio assume tra 0,13 e 0,56 µg/kg p.v. al giorno.

I bambini sembrano essere esposti ad una dose due volte superiore rispetto agli adulti.

Non esistono ad oggi dati sufficienti per un'analisi del rischio adeguata, in grado di supportare la fissazione di limiti di legge per l'arsenico.

Coeurdassier et al (2010) hanno svolto un'indagine su esemplari di *Helix aspersa* esposti per il periodo di un mese sia a terreni inquinati con arsenico, sia a zone esenti da contaminanti. Nella prima situazione le chioccioline hanno mostrato un accumulo del metallo di molto superiore rispetto alla seconda, fino a raggiungere livelli di 17,56 µg/g. La distribuzione si è concentrata soprattutto a carico della ghiandola digestiva del mollusco.

10.2 Calcio

Il calcio è un metallo vitale per l'uomo, che lo accumula soprattutto nelle ossa e nei denti. L'elemento garantisce la crescita dell'organismo ed è coinvolto in moltissime funzioni regolatrici e di trasmissione del segnale tra cui: coagulazione, trasmissione nervosa, comunicazione cellulare, contrazione muscolare e molte altre.

Il livello massimo di assunzione giornaliera è stato imposto a 2.500 mg dalla commissione SCF (*Scientific Committee On Food*) nel 2003 e a seguito di vari studi è stato riconfermato dall'EFSA nel 2012. Il valore è riferito ad adulti, donne in lattazione e in gravidanza, al contrario un tenore massimo non è stato ancora stabilito per infanti, bambini e adolescenti, sembra comunque che queste categorie non corrano rischi anche se esposti ad alte dosi dell'elemento.

Un eccesso di calcio può portare all'alterazione della sua omeostasi, con comparsa di ipercalcemia (>11 mg/dL) e conseguenti debolezza muscolare, vomito, costipazione, problemi

cardiaci e perdita di peso. Se la condizione diventa persistente possono verificarsi ipercalciuria e problemi renali, come ad esempio nefrolitiasi.

Le principali fonti di calcio sono rappresentate dal latte e dai prodotti caseari.

Alte concentrazioni di calcio sono presenti nelle chioccioline ad uso alimentare, i valori sono riportati al capitolo 5.4 nella Tabella 5.6 riguardante gli elementi minerali.

Una quantità elevata di calcio nella chiocciolina è giustificata dal suo bisogno fisiologico dell'elemento, per essere in grado di sviluppare conchiglia e opercolo, oltre che dall'enorme capacità di stoccaggio all'interno degli appositi granuli intracellulari.

10.3 Cadmio

Il cadmio è un metallo pesante, presente nell'ambiente sia per derivazione naturale, sia proveniente da fonti umane, in particolare quelle industriali e agricole.

Appartiene allo stesso gruppo del mercurio e dello zinco, la sua tossicità deriva dalle sue somiglianze con quest'ultimo, a causa delle quali segue un processo metabolico analogo all'interno dell'organismo.

È considerato un cancerogeno, si accumula nel fegato e nel rene, risultando particolarmente tossico per quest'ultimo in seguito ad alte e prolungate esposizioni; grazie alle sue capacità di accumulo è in grado di avere un'emivita all'interno dell'organismo pari a 10-30 anni.

Come fattore tumorale può portare alla comparsa di neoplasie ai polmoni, al seno, all'endometrio e alla vescica, come agente tossico causa disturbi cardiovascolari e renali, osteomalacia ed enfisema polmonare.

Un valore provvisorio di 7 µg/kg p.v. è stato definito dalla commissione JECFA come limite di assunzione settimanale del cadmio (TWI), a seguito di nuovi studi condotti da parte dell'EFSA la soglia è stata abbassata a 2,5 µg/kg p.v. nel 2001.

L'esposizione media settimanale di un adulto è compresa tra 1,9 e 3,0 µg/kg p.v.; i vegetariani sono la categoria più a rischio in quanto consumano molti cereali, i quali sono una sorgente elevata di cadmio, soprattutto a causa dei prodotti utilizzati in agricoltura.

Non sembra tuttavia che la sola assunzione dell'alimento sia pericolosa per i consumatori, in quanto la TWI non individua il danno reale, ma è un indicatore di possibili conseguenze future sul rene; questo non esclude la necessità effettiva di ridurre le dosi di cadmio sulla popolazione.

Come già accennato in precedenza, è ormai consolidata la grande affinità delle chioccioline nei confronti di questo elemento, a causa della presenza di metallotioneine specifiche (*Barker, 2001*).

A seguito di questa grande capacità di accumulo da parte dei gasteropodi vengono qui di seguito riportati, in ordine cronologico, i risultati degli studi più recenti eseguiti su varie specie lumache al fine di individuare i livelli di cadmio in essi presenti (Tabella 10.3).

Tabella 10.3: Risultati studi precedenti sul Cd

anno dello studio	specie impiegata	range/ā (1) gh. digestiva	range/ā (1) corpo	range/ā (1) piede	localizzazione concentrazione massima	informazioni aggiuntive
2001(4)	<i>H. pomatia</i>	13,40 µg/g		<DL (2)	GD (3)	origine: cattura
	<i>H. aspersa</i>	15,90 µg/g		<DL (2)	GD (3)	
	<i>H. aperta</i>		0,12-0,62 mg/kg			
2001(5)	<i>Cernurella virgata</i>		0,06-1,13 mg/kg			origine: tutte le specie sono cattura/ allevamento
	<i>H. pomatia</i>		0,17-0,22 mg/kg			
2002(6)	<i>Biomphalaria glabrata</i>		4/5 µg/g			tempo di esposizione: 4/8 settimane
		10,55 µg/g C(8)	< DL (2) C (8)	0,0-0,5 µg/g C (8)		
2009 (7)	<i>Eobania vermiculata</i>	2,5-3,0 µg/g Z1 (9)	0,5-1,0 µg/g Z1 (9)	0,0-0,5 µg/g Z1(9)	GD (3)	Origine: cattura
		5,0-5,5 µg/kg Z2 (10)	0,5 µg/g Z2 (10)	0,5 µg/g Z2 (10)		
2013 (11)	<i>Cepanea nemoralis</i>	22,72 - 148,40 mg/kg PP (12)			GD (3)	
		33,93-46,65 mg/kg RP (13)	2,59-21,05 mg/kg PP (12)			
	<i>Succinea putris</i>		2,05-4,56 mg/kg RP(13)			

L'elenco delle note utilizzate è riportato a fine capitolo

10.4 Cromo

Il cromo è un elemento molto diffuso in natura, normalmente si trova nell'acqua, nel suolo ed è molto presente negli alimenti. E' stato usato nell'industria grazie alle sue proprietà anti-corrosive.

E' un oligoelemento essenziale per l'organismo, in quanto favorisce l'azione dell'insulina ed è coinvolto nel metabolismo di grassi, carboidrati e proteine.

Nella catena alimentare è presente soprattutto in forma trivalente, la dose raccomandata secondo la Direttiva 100/2008 è di 40 $\mu\text{g}/\text{die}$.

Non ci sono conferme riguardo alla tossicità da un eccesso di cromo, in quanto i dati sono scarsi e gli esperimenti a volte contrastanti. A causa di una mancanza di informazioni sufficienti non è stato fissato un limite massimo di assunzione per questo elemento.

In uno studio limitato su pazienti umani è risultato che una dose superiore a 1 mg/die non ha prodotto effetti collaterali. Tuttavia alti livelli di questo elemento negli esseri umani sono stati associati a possibili tumori, reazioni allergiche della pelle e problemi ai reni.

Non esistono molti studi riguardanti la presenza di questo metallo nelle chioccioline, si riportano qui di seguito i più recenti (Tabella 10.4).

Secondo *Eybe et al, (2013)* oltre ad accumularsi nella ghiandola digestiva, questo elemento è presente anche nella conchiglia. In particolare sembra che il cromo non abbia un assorbimento legato al calcio, come quanto accade per il cadmio, ma sia più connesso alla funzione delle cellule digestive.

Tabella 10.4: Risultati studi precedenti sul Cr

anno dello studio	specie impiegata	range/ā (1) gh. digestiva	range/ā (1) corpo	range/ā (1) piede	localizzazione concentrazione massima	informazioni aggiuntive
2001(5)	<i>Helix aperta</i>		0,04-0,09 mg/kg			origine: cattura/allevamento per tutte e tre le specie
	<i>Ceruella virgata</i>		0,06-0,77 mg/kg			
	<i>Helix pomatia</i>		0,09-0,25 mg/kg			
2009(7)	<i>Eobania vermiculata</i>	0,6 µg/g C (8)	0,3 µg/g C(8)	0,3 µg/g C(8)	GD(3)	origine: cattura
		0,5 µg/g Z1 (9)	0,0-0,5 µg/g Z1 (9)	0,5-1,0 µg/g Z1(9)		
		µg/g Z2 (10)	1 µg/g Z2(10)	2,0-2,5 µg/g Z2(10)		
2013(11)	<i>Cepaea nemoralis</i>	1,64-2,74 mg/kg PP (12)				
	<i>Succinea putris</i>	0,90-1,40 mg/kg RP (13)	0,56-1,00 mg/kg PP (12)	0,05-0,24 mg/kg PP (12)		
				0,92-1,57 mg/kg RP(13)	0,15-0,32 mg/kg RP (13)	

L'elenco delle note utilizzate è riportato a fine capitolo

10.5 Ferro

Il ferro è una sostanza indispensabile per l'organismo umano, del quale fa parte soprattutto come coenzima o associato a proteine quali l'emoglobina e la mioglobina.

La via alimentare è la fonte principale di assunzione per l'uomo, la dose consigliata è pari a 14 mg/die. Le fonti principali del metallo sono rappresentate da: carne, in particolare fegato e interiora, legumi, frutta secca e vegetali a foglia verde, in realtà questi ultimi contengono un ferro che è poco biodisponibile.

Al giorno d'oggi sono ben note le conseguenze di una carenza dell'elemento, le quali presentano come primi sintomi affaticabilità, astenia, pallore, fino a sfociare in un'anemia.

L'eccesso al contrario, benché molto raro, è possibile in caso di un consumo esagerato di alimenti arricchiti con ferro, o in caso di problemi ereditari e si presenta inizialmente con senso di affaticamento, dolore alle nocche e irrequietezza, fino ad arrivare a patologie di origine epatica, pancreatica e cardiaca.

Menta e Parisi (2001) hanno iniziato un'indagine volta a individuare i livelli di ferro in *H. aspersa* ed *H. pomatia* e hanno rilevato una presenza maggiore dell'elemento nella ghiandola digestiva, rispetto al piede: rispettivamente di 620,35 e 72,51 µg/g in media per *H. aspersa* e 385,96 e 107,59 µg/g in media per *H. pomatia*.

Pignolo (2009) ha ottenuto risultati leggermente inferiori per chioccioline di raccolta, appartenenti alla specie *Eobania vermiculata*, in tre zone di Trieste: per quanto riguarda l'epatopancreas i valori sono compresi tra 50 e 120 µg/g; tra 30 e 200 µg/g nel piede e tra 50 e 100 µg/g per quanto concerne il corpo.

Valori aggiuntivi riguardanti le concentrazioni di ferro nelle lumache sono riportati al capitolo 5.4, alla Tabella 5.6.

10.6 Magnesio

Il magnesio ha una dose giornaliera raccomandata pari a 375 mg, è considerato un elemento essenziale per l'uomo ed è coinvolto in varie funzioni come coenzima, nella regolazione dell'omeostasi di altri elementi quali calcio, potassio e sodio e nella protezione delle membrane cellulari.

Una carenza di questo elemento porta a squilibri elettrolitici e sintomi di natura nervosa.

Un eccesso di magnesio può portare a diarrea e disturbi gastro-intestinali.

Effetti tossici sono stati notati per esposizioni superiori a 2.500 mg, con sintomi quali debolezza muscolare e ipotensione.

Le concentrazioni di magnesio nelle chioccioline sono riportate al capitolo 5.4, nella Tabella 5.6.

10.7 Mercurio

Il mercurio è un elemento chimico in grado di dare tossicità nell'uomo se assunto in forma inorganica o come metilmercurio, quest'ultimo in particolare sembra essere molto più nocivo del primo. Entrambe le tipologie risultano tossiche per il sistema nervoso e sono contenute soprattutto nel pesce.

Gli studi effettuati dalle commissioni appartenenti all'EFSA hanno portato, nel 2012, a stabilire un nuovo valore massimo settimanale (TWI) di 1,3 µg/kg per il metilmercurio, inferiore quindi al precedente limite di 1,6 µg/kg; per la forma inorganica la soglia è stata fissata a 4 µg/kg.

Secondo indagini il TWI non viene superato dalla popolazione europea, tuttavia in determinate categorie, quale ad esempio quella delle donne in gravidanza, in cui viene consumato molto pesce, questo limite potrebbe essere oltrepassato; lo stesso vale per le zone in cui la pesca rappresenta una grande tradizione.

Di norma il mercurio si accumula negli eritrociti e tramite questi provoca danni ossidativi in tutto l'organismo; la classe più a rischio è rappresentata dai feti in gestazione: a causa della sua lipofilità, il metallo, il metilmercurio in particolare, è in grado di passare la barriera placentare e la barriera ematoencefalica, creando alterazioni di sviluppo nel sistema nervoso. Nonostante il mercurio fosse e sia presente in fitosanitari e prodotti per l'agricoltura, non sono state ancora proposte indagini finalizzate a cercare questo elemento nelle chioccioline ad uso alimentare.

In un esperimento sulla specie *Biomphalaria glabrata* per la ricerca dei metalli pesanti, i livelli di mercurio dopo quattro settimane di esposizione a 17° C sono risultati pari a 728 µg/g, dopo otto settimane sono scesi a 682 µg/g (*Allah et al., 2003*).

10.8 Nichel

Il nichel non è considerato un elemento essenziale per l'uomo e pochi studi sono stati portati avanti in questi anni, ma sembra che la forma tossica per questo metallo sia data dai suoi sali. Questi ultimi sembrano avere effetti carcinogeni se inalati, conseguenze che non sono riportate se assunti per via alimentare, mentre per contatto topico sono in grado di creare problemi dermatologici e negli animali da laboratorio danni a rene, milza e polmoni.

Non è stato fissato un TWI, in quanto non si sono riscontrate specifiche conseguenze dose-effetto.

E' una sostanza presente in quantità elevate in alimenti come la cioccolata, i legumi e la frutta secca.

Secondo lo studio di *Boshoff et al. (2013)* il nichel è presente nelle chioccioline: dalla loro ricerca emerge che in *Cepaea nemoralis* è presente in concentrazioni comprese tra 0,26 e 1,35 mg/kg, mentre in *Succinea putris* il range va da 0,09 a 0,44 mg/kg. Sono stati riportati solamente i valori riferiti alla ghiandola digestiva, poiché la quantità presente negli altri organi non è risultata significativa.

Al contrario le ricerche di *Pignolo (2009)* hanno evidenziato un livello del metallo molto alto nel piede, rispetto al resto dell'organismo: da 2,5 a 5 µg/g nel piede rispetto a valori tra 0,5 e 1,8 µg/g per l'epato-pancreas.

Ulteriori studi dovranno essere svolti in futuro al fine di raccogliere un adeguato numero di dati.

10.9 Piombo

Il piombo è un contaminante di derivazione in gran parte antropica, che si trova soprattutto in forma organica nell'ambiente e che è in grado di giungere all'uomo tramite la via alimentare o con l'acqua di bevanda.

Il tempo di emivita di questo metallo all'interno di un organismo varia da circa 30 giorni per il sangue, fino a 10-30 anni per le ossa. Gli effetti collaterali riconosciuti e studiati sono per lo più quelli cronici, quali deficit di sviluppo neurologico nei bambini e nefro- e cardio-tossicità negli adulti.

I cereali ne rappresentano la fonte principale: è stata calcolata una media di assunzione giornaliera nell'adulto con un range compreso tra 0,36 a 1,24 $\mu\text{g}/\text{kg}$, anche se per i grandi consumatori di cereali si può arrivare ad un'esposizione giornaliera di 5,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Il limite precedentemente fissato per l'assunzione settimanale, pari a 2,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p. v. non è più considerato valido, in quanto non è stato identificato un valore soglia in grado di provocare danni nell'uomo.

Questo elemento risulta particolarmente accessibile per la lumaca, in quanto si accumula principalmente negli strati superficiali del terreno, soprattutto se ricchi di sostanza organica, e può quindi facilmente venire in contatto con la cute del mollusco, la quale rappresenta una via di assunzione per la chiocciola.

In Tabella 10.5 sono riportati i risultati degli studi più recenti che hanno individuato la presenza di piombo nelle lumache.

Tabella 10.5: Risultati studi precedenti sul Pb

anno dello studio	specie impiegata	range/ā (1) gh. digestiva	range/ā (1) corpo	range/ā (1) piede	localizzazione concentrazione massima	informazioni aggiuntive
2001(4)	<i>H.pomatia</i>	10,65 µg/g		< DL (2)	GD (3)	origine: cattura
	<i>H. aspersa</i>	23,04 µg/g		< DL (2)		
2001 (5)	<i>Helix aperta</i>	0,24-0,40 mg/kg				
	<i>Cerņuella virgata</i>	0,06-0,94 mg/kg				
	<i>Helix pomatia</i>	0,13-0,15 mg/kg				
2002 (6)	<i>Biomphalaria glabrata</i>	19/32 µg/g				tempo di esposizione: 4/8 settimane
2009 (7)	<i>Eobania vermiculata</i>	< DL(8) C	< 0,5 µg/g C(8)	< 0,5 µg/g C(8)		
		1.0 µg/g Z1(9)	< 0,5 µg/g Z1(9)	0,5-1,0 µg/g Z1(9)		
		7,5 µg/g Z2(10)	2,0 µg/g Z2(10)	3,0 µg/g(10)		

L'elenco delle note utilizzate è riportato a fine capitolo.

10.10 Rame

Le fonti di inquinamento di questo elemento derivano soprattutto dagli usi agricoli di fertilizzanti, fungicidi e battericidi in essi contenuto.

Il rame è un elemento essenziale per l'organismo, la sua dose giornaliera consigliata secondo la Direttiva 100/2008 è di 1 mg.

Questo metallo è coinvolto in molte funzioni come cofattore di enzimi ed è accoppiato ad alcune proteine. E' molto diffuso nella carne, soprattutto nel fegato, nei legumi, come la soia, nei molluschi di mare e nelle verdure a foglia verde.

Non sono stati stabiliti ad oggi dei limiti di assunzione, ma degli studi americani, da parte della *Food and nutrition board* hanno indicato nel 2001 una soglia massima di 10 mg/die.

Un eccesso di rame porta a vomito e diarrea e in casi eclatanti alla morte, gli episodi di intossicazione sono comunque molto rari; una carenza può al contrario creare problemi vascolari e anemie.

Questo elemento è integrato nei processi fisiologici ed essenziali della chiocciola, in quanto entra a far parte dell'emocianina, l'equivalente umano dell'emoglobina. A differenza degli altri metalli, i quali solitamente risultano più concentrati nell'apparato digerente, il rame è presente in larghe quantità nelle zone più vascolarizzate, come ad esempio il piede.

Secondo *Menta e Parisi* (2001) il rame è distribuito uniformemente nella chiocciola, e presenta concentrazioni molto simili nel piede e nella ghiandola digestiva. Nel loro studio hanno preso in considerazione *H. pomatia*, con valori medi di 55,68 µg/g nell'epatopancreas e di 39,49 µg/g nel piede; per quanto riguarda *H. aspersa* il livello medio è risultato essere rispettivamente di 34,69 µg/g e 49,96 µg/g.

Un altro studio ha confermato l'omogeneità nella diffusione dell'elemento, rilevando quantità comprese in un intervallo tra 22,90 mg/kg e 261,56 mg/kg nella ghiandola digestiva di *C. nemoralis*, per la quale non sono stati riportati valori per il piede. In *S. putris* hanno individuato un range di 25,53- 44,01 mg/kg e di 27,66-78,22 mg/kg rispettivamente (*Boshoff et al, 2013*).

10.11 Sodio

Il sodio è molto diffuso negli alimenti, tanto che una sua carenza nell'uomo è riscontrata molto raramente, la fonte principale di assunzione è data dal cloruro di sodio, comunemente chiamato sale.

Il sodio è un elemento essenziale per mantenere un corretto bilancio elettrolitico e una corretta funzione cellulare, l'apporto giornaliero medio tuttavia è risultato di molto superiore ai fabbisogni.

Il principale effetto collaterale di questo metallo è rappresentato dall'aumento della pressione arteriosa, che può portare a lungo termine a una disfunzione renale.

Dato che moltissimi fattori concorrono a regolare la risposta arteriosa nei confronti del sodio, non è stato ancora possibile individuare un determinato livello di assunzione in grado di causare un aumento della pressione.

Secondo stime il consumo medio di sale è di circa 8-11 g (pari a 3-5 g di sodio), molto più elevato rispetto alla dose giornaliera raccomandata di 3,8 g (equivalenti a 1,5 g di sodio), le

fonti derivano soprattutto dagli alimenti trasformati, che sono molto più salati rispetto a quelli 'naturali'.

Il contenuto di sodio nelle chioccioline è riportato al capitolo 5.4, nella Tabella 5.6 specifica sui minerali.

10.12 Stagno

La fonte principale di ingestione dello stagno è data da alimenti conservati in contenitori a banda stagnata, tuttavia la ritenzione da parte dell'organismo umano, in seguito ad assunzione orale del metallo non sembra essere elevata, l'escrezione è affidata all'eliminazione per via fecale.

Nonostante sia un elemento tossico per il sistema nervoso, e possa interferire con l'omeostasi di calcio, rame e zinco, sembra che una sua carenza sia in grado di provocare alterazioni nella crescita.

Nel Regolamento 242/2004 è espressa l'opinione del Comitato Scientifico per la Salute Umana, secondo il quale il tenore massimo di stagno permesso nelle lattine è di 100 mg/kg, di 200 mg/kg per le conserve in scatola, mentre viene abbassata a 50 mg/kg negli alimenti per lattanti.

Non sono stati rilevati dati precisi riguardo alla concentrazione di stagno nelle chioccioline, se non alcuni accenni ad analisi in cui era risultato 'in tracce' (G. Avagnina, 1983).

10.13 Zinco

Lo zinco è uno degli elementi più diffusi all'interno della crosta terrestre ed è presente in quasi tutti gli alimenti.

La dose consigliata per lo zinco, riportata nel Reg. 100/2008 è pari a 10 mg/die.

È un elemento essenziale per lo sviluppo di vari organi e apparati, oltre a essere coinvolto in moltissime reazioni come coenzima. Le fonti principali del metallo sono rappresentate da carne e cereali, al contrario i vegetali e la frutta ne contengono scarse quantità.

Carenze dell'elemento sono molto rare e portano a ritardi della crescita e a deficienze del sistema immunitario.

L'eccesso può portare ad intossicazione acuta, la quale però è molto rara e deriva soprattutto da ingestione di alimenti conservati in contenitori contaminati, o ad una forma cronica, molto più diffusa, la quale porta ad anemia, problemi al sistema immunitario e al ciclo di utilizzo del rame.

Sulla base di alcuni studi, un gruppo appartenente alla 'Scientific committee of food' ha stimato un limite massimo tollerabilità di 25 mg/die, ma i consumi medi europei sono risultati essere al di sotto di questo valore.

Per quanto riguarda le chioccioline, le concentrazioni massime di zinco sono localizzate a livello della ghiandola digestiva, nella quale raggiungere livelli compresi tra 408,14 mg/kg e 1919,52 mg/kg per *C. nemoralis* e tra 169,47 mg/kg e 699,48 mg/kg per *S. putris* (Boshoff et al, 2013).

Anche Menta e Parisi (2001) hanno notato differenze significative riguardo alla concentrazione di zinco nell'epato-pancreas rispetto al piede, individuando valori pari a 187,32 µg/g per *H. pomatia* e 384,69 µg/g per *H. aspersa*.

Dati riguardanti la presenza di zinco in una specie africana di lumaca, *L. aurora*, ci sono forniti da *Udoh et al* (1994), e sono pari a 259 mg/100g.

- (1) \bar{a} , valore medio riportato nello studio corrispondente
- (2) DL, limite di rilevamento
- (3) GD, ghiandola digestiva
- (4) C. Menta, V. Parisi (2001). *Metal concentration in Helix pomatia, Helix aspersa and Arion rufus: a comparative study.*
- (5) M.M. Storelli, G.O. Marcotrigiano (2001). Heavy metals (Hg, Pb, Cd, and Cr) in edible snails.
- (6) A.T. ABD Allah et al (2002). *Dissolved heavy metals, lead, cadmium and mercury, accumulate in the body of the schistosome vector, Biomphalaria glabrata (Gastropoda: Pulmonata).*
- (7) G.Pignolo (2009). *Studio su gasteropodi terrestri come potenziali bioaccumulatori per metalli pesanti ed idrocarburi policiclici aromatici nella provincia di Trieste.*
- (8) C, zona di controllo
- (9) Z1, zona 1
- (10) Z2, zona 2
- (11) M. Boshoff et al (2013). *Organ and species specific accumulation of metals in two-land snail specie (Gastropoda, Pulmonata).*
- (12) PP, polluted plot
- (13) Rp, reference plot

10.14 Possibili effetti dei metalli pesanti sulle chioccioline

Sono note ormai le capacità delle chioccioline di accumulare al loro interno metalli pesanti, al contrario molto meno si sa a proposito delle conseguenze che questi ultimi possono avere sul loro ospite.

Sono disponibili studi sugli effetti tossici portati dal cadmio a carico delle lumache: secondo *Coourdassier et al* (2002) l'elemento, non essendo essenziale per l'ospite, può indurre ritardi nella sviluppo a seguito di bioaccumulo: è stata individuata una correlazione tra le concentrazioni corporee medie di Cd e un'inibizione della crescita.

Nell'esperimento di *Coourdassier* sono stati usati esemplari giovani, di quattro settimane di vita, appartenenti alla specie *H. aspersa*, i quali sono stati esposti a terreni artificialmente contaminati con dosi note di cadmio. I ricercatori hanno posto gli animali a diretto contatto con il terreno (DC), o con l'interposizione di piastre (NC), in quest'ultimo caso era possibile assumere i metalli solo *per os*, non tramite la cute, il differenziale nelle misurazioni ha portato alla determinazione della quota assunta per via trans-epiteliale. A seguito delle analisi, negli esemplari direttamente esposti è stata rilevata una dose doppia di cadmio rispetto a quelli NC. Se trasportiamo questi risultati alle chioccioline per uso alimentare risulta facile comprendere come anche questa popolazione sia esposta ad alti rischi, soprattutto se di raccolta, le quali essendo migranti possono spostarsi su vari terreni possibilmente contaminati.

E' possibile gestire le componenti del suolo presente negli allevamenti selezionando ad esempio territori ricchi di calcio, elemento oltretutto fondamentale per la chiocciolina, in modo che questo possa competere con il cadmio durante i processi di assorbimento da parte dei gasteropodi (*Gimbert et al, 2008*).

Nello studio di *Coourdassier* gli approfondimenti sull'inibizione della crescita sono stati impostati usando contenitori di adeguata ampiezza, così da non interferire con la capacità di sviluppo e materiali esenti da contaminanti, in modo da non alterare le quantità note di cadmio somministrate.

Durante l'esperimento, durato quattro settimane, le chioccioline venivano settimanalmente pesate; alla fine della prova è stata notata una significativa diminuzione della crescita in seguito ad esposizione al cadmio, conclusione resa possibile grazie alle condizioni standard create in precedenza.

In un altro studio *Gimbert et al* (2008) hanno analizzato le conseguenze a lungo termine dello stesso tipo di contaminazione, giungendo allo stesso esito riguardo al ritardo dello sviluppo, osservando in aggiunta un'alterazione del ciclo riproduttivo. Anche in questo caso sono stati usati esemplari di *Helix aspersa* di un mese di età, in quanto questa specie è in grado di completare in laboratorio l'intero ciclo biologico in 12 settimane.

Con lo scopo di valutare gli effetti del metallo, le chioccioline sono state poste 12 settimane in terreno contenente cadmio a concentrazioni note, e in seguito un periodo equivalente in ambiente puro. Dopo 84 gg di esposizione è stata notata una diminuzione della crescita nelle chioccioline poste a contatto con l'inquinante, con un calo del 30% nel diametro della conchiglia; questo ritardo non è poi stato compensato a seguito del trasferimento in terreno incontaminato, segno che il metallo resta presente nei tessuti anche in seguito allo spostamento.

Per quanto riguarda la capacità riproduttiva, gli studiosi non hanno rilevato difetti nella formazione del tratto genitale, che è risultato di dimensioni normali, ma un ritardo e un'alterazione nel ciclo dell'ovodeposizione.

I ricercatori hanno ipotizzato un collegamento tra il ritardo nello sviluppo della conchiglia e nella sua bordatura e la posticipazione del periodo di deposizione: il guscio è il principale sito di deposito del calcio, ma data la competizione del cadmio per quest'ultimo, non ci sono riserve sufficienti a dare inizio alla produzione di uova.

Durante tutta la durata dell'esperimento non sono stati notati episodi di mortalità, indice della grande tollerabilità da parte del mollusco e della necessità in futuro di condurre prove più durature.

Risultati opposti sono stati ottenuti da *Gomot e Kerhoas* (2000), i quali hanno notato difetti nello sviluppo del tratto genitale di *Helix aspersa*, in seguito ad esposizione al cadmio della durata di sette e dieci settimane. In questi esemplari l'apparato si è mostrato rudimentale, poco sviluppato, con scarsa crescita anche della ghiandola dell'albumine. La parte maschile è risultata meno sensibile agli effetti del metallo, forse a causa di un'interferenza di quest'ultimo con neuromediatori coinvolti solo nello sviluppo della controparte femminile. Queste modificazioni probabilmente intervengono anche a carico della ghiandola albumigena. Uno studio leggermente diverso è stato portato avanti da *Gomot* (1997), nel quale ad essere contaminato non era il terreno, bensì l'alimento, al fine di individuare la sola via di assunzione *per os*. Anche in questo caso l'assunzione di cadmio ha influenzato la crescita in senso negativo.

Altri esperimenti hanno riportato risultati contrastanti, in parte a causa del fenomeno dell'*ormesi*, per il quale piccole dosi di cadmio sembrano stimolare e non inibire lo sviluppo delle chioccioline, in parte per la composizione dei terreni usati: è stato notato che in quelli contenenti Ca e Mg l'effetto del contaminante è minore, a causa di fenomeni di competizione. Un esperimento condotto su di una specie di lumaca acquatica, *Potamopyrgus antipodarum*, ha dimostrato lo stress subito dalla stessa da parte dell'arsenico. Gli studiosi, immettendo l'elemento nel flusso d'acqua in cui si trovavano le chioccioline, hanno notato come gli animali

evitino la corrente inquinata, anche nel caso in cui venga modificata la direzione del movimento dell'acqua. Nel caso in cui il flusso non riesca ad essere aggirato, i gasteropodi restano immobili, non è chiaro se il motivo sia dovuto ad un meccanismo di difesa o agli effetti tossici del metallo (Golding, 1996).

Un secondo studio sull'arsenico riguardo una lumaca terrestre, *Helix aspersa*, ha riportato una diminuzione della sopravvivenza della stessa, in seguito all'esposizione della durata di un mese a terreno in cui era stato inserito arsenico (Coourdassier et al, 2009).

Gli stessi autori, nello stesso esperimento, hanno notato una diminuzione della crescita nelle chioccioline allevate nel terreno alterato, rispetto agli esemplari posti nella zona di riferimento, esente da metallo.

Gli effetti tossicologici del rame sono stati studiati in chioccioline appena schiuse appartenenti alla specie acquatica *M. cornuarietis*, tramite l'individuazione di lesioni istopatologiche, in seguito ad un'esposizione della durata di 7 giorni, con un livello di minerale compreso tra 10 e 75 µg/L (Sawasdee et al, 2011).

A livello microscopico i ricercatori hanno osservato: alterazioni a carico dell'epitelio e delle cellule mucose dell'epidermide, un rigonfiamento a sfavore delle componenti della ghiandola digestiva e modificazioni nella composizione del muco.

Coourdassier et al (2000) hanno studiato gli effetti del cromo⁶⁺ sulla crescita di individui di un mese di vita appartenenti ad *Helix aspersa*, somministrando per 28 giorni dosi crescenti del metallo. Sia la dose accumulata, sia il tasso di crescita si sono rivelati dose-dipendenti, all'aumentare della quantità assunta inoltre, non è stata rinvenuta una dose corrispondente di cromo nelle feci, segno che la chiocciolina manca di un meccanismo di regolazione per questo elemento nella forma esavalente.

Un'analisi sugli effetti del piombo nella crescita di *Achatina Achatina* ha rivelato un ritardo nello sviluppo a dosi crescenti del metallo, non ha evidenziato però mortalità a carico degli individui. Non è chiaro se la diminuita ingestione di cibo, constatata a fine esperimento, sia dovuta alla selettività della chiocciolina, la quale evita un'alimentazione con possibile contenuto dannoso, o ad un possibile effetto tossico del metallo sull'animale. Il ritardo nella crescita è stato evidenziato tramite misurazioni successive del diametro della conchiglia (I. E. Ebenso, A. D. Ologhobo, 2009).

Pignolo (2009) ha valutato gli effetti dei metalli pesanti sulla struttura dell'apparato olfattivo della chiocciolina: dato che una sostanza irritante è in grado di aumentare lo spessore del tessuto olfattivo e il numero delle cellule mucipare, delle misurazioni sono state fatte allo scopo di confermare queste informazioni. Ad esemplari di *Eobania vermiculata* è stato asportato il tentacolo posteriore, fissato in formalina e tagliato al microtomo così da ottenere sezioni osservabili al microscopio. I risultati hanno confermato dimensioni maggiori sia per lo strato muciparo, sia per l'epiteliale, nelle chioccioline immerse nella zona contaminata, rispetto al territorio di controllo.

Non sono stati reperiti dati riguardo agli effetti sulle chioccioline degli altri metalli presi in considerazione in questo studio.

11 ALTRI RISCHI DERIVANTI DAL CONSUMO DI CHIOCCIOLE

11.1 Rischi microbiologici

Le chioccioline sono un alimento che può presentarsi in varie forme: dalle chioccioline vive già spurgate, alle opercolate, alle congelate, ai prodotti *ready to eat* fino alle chioccioline in conserva.

In ognuno di questi prodotti può celarsi una flora microbica anche patogena.

Dato l'enorme ventaglio di mercati da cui possono provenire le lumache, diventa importante la messa a punto di una pratica di lavorazione che non consenta l'innalzamento della carica batterica. In particolare il prodotto fresco è molto deperibile e necessita di corrette pratiche, dalla raccolta fino allo stoccaggio.

È importante ricordare che le chioccioline, vivendo a contatto con il terreno, possono veicolare patogeni quali ad esempio *L. monocytogenes* ed *E. coli*, il quale ha un lungo tempo di sopravvivenza nell'ambiente (Maule, 2000). Il rischio derivante da questi microrganismi dipende sia dallo stato immunitario dell'ospite, sia dalla carica microbica e dalla virulenza del ceppo.

Le lumache inoltre sono attratte dalle feci dei mammiferi (Barker, 2001) e da queste potrebbero assumere microorganismi nel caso in cui le feci stesse ne siano inquinate, sono note le diarree provocate da *E. coli* a seguito della diffusione di deiezioni provenienti da animali infetti.

Il fattore di rischio più grande dato da questi agenti è la loro capacità di non dare alterazioni sensoriali o visive all'alimento, caratteristica che ne aumenta la loro pericolosità.

Considerando che nel Reg. CE 2073/2005 non esistono dei limiti di legge per tutti i patogeni specifici per i gasteropodi terrestri, è necessario rifarsi a categorie più ampie come quelle dei molluschi.

Temelli et al (2004) hanno analizzato, durante un processo di congelamento di *H. pomatia* destinate al mercato alimentare in Turchia, l'evoluzione dello stato di contaminazione batterica da *Coliformi*, *E.coli*, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococci* coagulasi positivi, batteri mesofili aerobi e lieviti e muffe.

Nello stabilimento le chioccioline venivano sottoposte ad un iniziale trattamento con vapore a 105 °C per tre minuti, seguito nell'ordine da: rimozione della conchiglia, prima bollitura, eviscerazione, seconda bollitura e infine congelamento.

La riduzione dei batteri mesofili è stata considerata indice di buona qualità igienica dell'alimento: l'abbassamento della scala logaritmica in seguito a bollitura ha dimostrato che la temperatura a cuore, riportata essere di 85° C, si è dimostrata sufficiente per l'abbattimento della carica iniziale. Un modulo di 99° C per tre minuti è considerato sufficiente per i molluschi, bisogna ricordare però che questo passaggio ha efficacia nei confronti delle sole forme vegetative.

La presenza di *E. coli* viene connessa a scarse condizioni igieniche di lavorazione, dato che la sua inattivazione può essere facilmente ottenuta con applicazione di calore a 68.3 ° C per 15 minuti. In questo caso gli studiosi hanno rilevato una contaminazione da parte degli operatori

in seguito al passaggio del *packaging*, lo stesso incremento è stato notato per gli *Staphylococci* in seguito a manipolazione umana.

Anche l'incremento di lieviti e muffe ha messo in evidenza una scarsa applicazione in campo igienico dello stabilimento in questione. Non è stata rilevata presenza di *Salmonella spp.* in nessun campione iniziale e a nessuna fase del processo.

Dati simili per *Salmonella spp.* sono stati individuati da *Tedde et al* (2009) in campioni di *Helix aspersa*, *H. pomatia* ed *E. vermiculata*, nei quali una sola aliquota è risultata positiva a carico di *H. aspersa*.

Altri batteri patogeni appartenenti a *Salmonella spp* e *Aeromonas*, sono stati individuati in esemplari di *Achatina Achatina*. Tra i vari sierotipi sono state individuate *Salmonella typhimurium* e *A. hydrophila* enterotossigena ed emolitica (*Obi e Nzeako*, 1980).

Uno studio più recente, (*Adegoke et al*, 2010), ha rilevato positività per batteri e funghi patogeni in specie di provenienza africana quali *Achatina fulica*, *Limicolaria sp.* e *Helix pomatia*. Quest'ultima in particolare ha dimostrato la maggiore carica microbica, con valori tra $5,2 \times 10^7$ e $2,2 \times 10^8$ ufc/g. Dalle analisi è emersa la presenza di *E. coli*, in grado di dare enteriti, *S. aureus emolitico*, *Salmonella* e di funghi appartenenti al genere *Aspergillus*, in grado di portare ad aspergillosi.

Ebenso et al. (2012) hanno ricercato i patogeni contenuti nell'intestino prossimale di *Archachatina marginata*, i quali potrebbero diffondersi durante le operazioni di eviscerazione. La presenza di *Vibrio* in quantità tra 2,00 e $9,66 \times 10^4$ ufc/g, in concentrazioni quindi maggiori rispetto all'ordine di 10^3 ufc/g previsto da HPA (2009), è indice di scarse condizioni igieniche e di cross-contaminazioni. Un'ingestione di alimento a queste cariche potrebbe portare alla comparsa di forti diarree nel consumatore. Gli stessi limiti, pari a 10^2 ufc/g sono stati superati anche nella determinazione di *E. coli*, che nei campioni ha raggiunto la soglia di $9,33 \times 10^4$ ufc/g. Il medesimo ordine di grandezza, pari a 8,67- $18,33 \times 10^4$ ufc/g è stato individuato nella conta di *Salmonella*; *Giaccone et al.* (2012) riportano un livello di rischio per questo agente se viene raggiunta una presenza di 10^4 ufc/g.

Cariche batteriche molto alte sono state individuate in specie edibili di gasteropodi acquatici africani, nelle quali per *Salmonella*, *Coliformi* totali e *Staphylococci* sono stati rilevati ordini di grandezza pari a 10^7 ufc/g (*Adebayo-tayo et al.*, 2011).

Un alto rischio per la salute potrebbero derivare dal consumo di questi alimenti se crudi o poco cotti, in quanto i campioni negli studi precedenti sono stati prelevati direttamente da mercati alimentari. Si può quindi comprendere come questo possa portare ad un rischio molto elevato, soprattutto considerato che in alcune zone dell'Africa, questi molluschi rientrano comunemente nella dieta come fonte proteica. Secondo un rapporto (*WHO*, 2009) circa 200,000 morti all'anno in Nigeria sono causate da malattie alimentari, in particolare da *Salmonella* ed *E. coli*. Le malattie alimentari rappresentano in questo Paese il 25% di cause totali di mortalità (*FAO/WHO*, 2002). Vanno anche ricordati gli enormi costi derivanti dall'ospedalizzazione e dalle cure mediche necessarie alle persone colpite da tossinfezione.

Sono stati effettuati studi anche sulla flora presente sulla conchiglia: *Caplan et al* (2012) hanno trovato presenza di *L. monocytogenes* sulla superficie di una conchiglia sottoposta a bollitura.

Come ricordato all'inizio della dissertazione, le importazioni da mercati esteri stanno diventando di primaria importanza per l'Italia; in futuro sarà necessario creare un piano di

controllo più stretto riguardo alla condizione microbiologica dei prodotti importati. Esistono già accordi tra vari Paesi europei per la valutazione del prodotto sulla base della qualità igienica con cui esso si presenta.

11.2 Rischi parassitari

Le parassitosi della specie presa in considerazione non sono solitamente trasmissibili all'essere umano, tuttavia esiste un nematode, *Angiostrongylus cantoniensis*, il quale sembra essere causa di meningiti eosinofile in seguito ad assunzione di chioccioline (Fisman e Laupland, 2010).

Il ciclo del parassita coinvolge i roditori, nelle cui feci si schiude la larva di primo stadio, e le lumache, all'interno delle quali la larva matura al terzo stadio. L'ospite definitivo è rappresentato dai topi, con contaminazioni accidentali per l'uomo.

Il consumatore si infesta ingerendo chioccioline crude o poco cotte, o vegetali mal lavati e imbrattati da bava del gasteropode. I sintomi iniziano nella prima fase come gastrointestinali, a causa della migrazione del parassita dall'intestino al fegato, il quale arriva in seguito al sistema respiratorio e dopo due settimane circa dall'inizio dell'infestazione, giunge alle meningi. Segni neurologici, come l'iperestesia, possono essere aggravati in caso di migrazione del nematode, a causa della quale possono derivare danni al cervello o problemi visivi nel caso cui si sposti fino al tratto ottico.

Circa un centinaio di casi sono stati riportati in Asia dagli anni '90 ad oggi, nessun episodio simile è mai stato segnalato in Europa. Il pericolo di diffusione in altri Paesi è stato però ipotizzato in seguito alla diagnosi di meningite da *A. cantoniensis* in studenti americani di ritorno da un viaggio in Jamaica, la cui probabile fonte derivava da verdura contaminata da bava di chiocciola.

12 MATERIALI E METODI

12.1 Materiali

12.1.1 I campioni

Per la ricerca sono state utilizzati 53 campioni di chioccioline spurgate e congelate, appartenenti a varie specie: *Helix aspersa* (23), *Helix pomatia* (9), *Helix lucorum* (1), *Eobania vermiculata* (9) e da esemplari di cui la specie non era nota (11); per l'identificazione dei soggetti sono state utilizzate le indicazioni rilasciate dai fornitori. Ciascun campione era formato, a sua volta, da un certo numero di esemplari (5-10 in media): risultati ottenuti, quindi, si riferiscono a ben più di 53 chioccioline. Ad ogni campione è stato in seguito attribuito un numero identificativo progressivo da 1 a 53.

Le chioccioline sono state prelevate sia da siti in natura, sia da allevamenti, di provenienza di vari Paesi (Tabella 12.1): Algeria, Austria, Bulgaria, Francia, Grecia, Italia, Marocco, Polonia, Portogallo, Rep. Ceca, Romania, Slovenia, Tunisia, Turchia.

I campioni, raccolti tra il 23.05.2012 e il 14.02.2013, erano formati da soggetti provvisti di conchiglia, adulti e alcuni presentavano l'opercolo.

Le prove sperimentali sono state realizzate tramite tecnologia di spettrometria ad emissione atomica accoppiata induttivamente al plasma d'argon con rivelatore ottico (ICP-OES).

Tabella 12.1: Descrizione dei campioni

Numero campione	Specie	Provenienza	Origine
1	<i>Helix aspersa</i>	Austria	Allevata
2	<i>Helix aspersa</i>	Tunisia	Raccolta
3	<i>Helix aspersa</i>	Marocco	Raccolta
4	<i>Helix aspersa</i>	Grecia	Allevata
5	<i>Helix aspersa</i>	Grecia	Allevata
6	<i>Helix aspersa</i>	Bulgaria	Allevata
7	<i>Helix aspersa</i>	Grecia	Allevata
8	<i>Helix aspersa</i>	Portogallo	Allevata
9	<i>Helix aspersa</i>	Turchia	Raccolta
10	<i>Helix aspersa</i>	Polonia	Allevata
11	<i>Helix aspersa</i>	Tunisia	Raccolta
12	<i>Helix aspersa</i>	Italia	Allevata
13	<i>Helix aspersa</i>	Algeria	Raccolta
14	<i>Helix aspersa</i>	Rep. Ceca	Allevata
15	<i>Helix aspersa</i>	Grecia	Allevata
16	<i>Helix aspersa</i>	Italia	Allevata
17	<i>Helix aspersa</i>	Italia	Allevata
18	<i>Helix aspersa</i>	Italia	Allevata
19	<i>Helix aspersa</i>	Italia	Allevata
20	<i>Helix aspersa</i>	Italia	Allevata
21	<i>Helix aspersa</i>	Italia	Allevata
22	<i>Helix aspersa</i>	Italia	Allevata
23	<i>Helix aspersa</i>	Italia	Allevata
24	<i>Helix lucorum</i>	Italia	Allevata
24	<i>Helix lucorum</i>	Italia	Allevata
25	<i>Helix pomatia</i>	Romania	Raccolta
26	<i>Helix pomatia</i>	Slovenia	Raccolta
27	<i>Helix pomatia</i>	Romania	Raccolta
28	<i>Helix pomatia</i>	Italia	Allevata
29	<i>Helix pomatia</i>	Italia	Allevata
30	<i>Helix pomatia</i>	Italia	Allevata
31	<i>Helix pomatia</i>	Italia	Allevata
32	<i>Helix pomatia</i>	Italia	Allevata
33	<i>Helix pomatia</i>	Italia	Allevata
34	<i>Eobania vermiculata</i>	Tunisia	Raccolta
35	<i>Eobania vermiculata</i>	Marocco	Raccolta
36	<i>Eobania vermiculata</i>	Turchia	Raccolta
37	<i>Eobania vermiculata</i>	Algeria	Raccolta
38	<i>Eobania vermiculata</i>	Francia	Raccolta
39	<i>Eobania vermiculata</i>	Marocco	Raccolta
40	<i>Eobania vermiculata</i>	Italia	Raccolta
41	<i>Eobania vermiculata</i>	Italia	Raccolta
42	<i>Eobania vermiculata</i>	Italia	Raccolta
43	Missing	Italia	Allevata
44	Missing	Italia	Allevata

(continua)

(segue)

45	<i>Missing</i>	Italia	Allevata
46	<i>Missing</i>	Italia	Allevata
47	<i>Missing</i>	Italia	Raccolta
48	<i>Missing</i>	Italia	Allevata
49	<i>Missing</i>	Italia	Raccolta
50	<i>Missing</i>	Italia	Allevata
51	<i>Missing</i>	Italia	Allevata
52	<i>Missing</i>	Italia	Allevata
53	<i>Missing</i>	Italia	Allevata

12.1.2 Apparecchiatura

Riporto qui di seguito l'apparecchiatura e i reagenti utilizzati per la preparazione del campione ai fini della lettura:

- Omogeneizzatore, tritratore IKA T25 digital ULTRA-TURRAX;
- Micropipetta a volume variabile 1000-5000 μL ;
- Matracci tarati classe A 50 mL;
- Acido nitrico 69% esente da metalli ultrapuro;
- Acqua ossigenata per l'analisi dei metalli in tracce;
- Mineralizzatore a microonde FKV Milestone tipo Start D, corredato da vessel porta campione, supporto di fissaggio e chiave di bloccaggio;
- Contenitori Falcon da 50 mL;
- Acqua demineralizzata;
- Spettrometro ICP-OES Spectro Ametek;

12.2 Metodi

Definizioni:

- 1) Microonde: radiazioni elettromagnetiche con frequenza compresa tra l'infrarosso e le onde radio
- 2) Vessel: recipiente per il campione omogeneizzato da trattare
- 3) Mineralizzatore: dispositivo in grado di idrolizzare il campione organico, fino a produrre una soluzione elementare adatta alla lettura.

Le chioccioline sono state analizzate tal quali, dopo essere state estratte dal guscio. I campioni sono stati triturati al fine di rendere la matrice omogenea; da ognuno di essi sono stati prelevati 2 g, trasferiti in seguito nel vessel corrispondente.

Per avviare la digestione della matrice e coadiuvare chimicamente l'azione del mineralizzatore, sono stati aggiunti 6 mL di acido nitrico e 2 mL di acqua ossigenata.

Ogni vessel è stato chiuso con il corrispondente coperchio e fissato tramite chiave di bloccaggio, in modo da applicare una forza di 12 kN, per evitare possibili sfiatature e perdita del campione durante il processo di irraggiamento.

I contenitori sono stati poi inseriti negli appositi spazi del mineralizzatore a microonde. L'utilizzo di questa apparecchiatura è necessaria per eliminare le interferenze provocate dalla sostanza organica presente nella matrice e per favorire la liberazione di eventuali metalli presenti.

Grazie all'irraggiamento accoppiato alla digestione chimica, il microonde è in grado di abbattere i tempi di una digestione a cielo aperto, garantendo un attacco efficiente e completo. Dopo aver avviato il programma dall'apposito *display* è stato possibile monitorare i parametri reali della mineralizzazione e la curva delle temperature raggiunte.

Il processo viene portato a termine in due tempi: il primo, della durata di 15 minuti, in cui viene raggiunta la temperatura massima di 200 °C, il secondo, della stessa durata del precedente, in cui è mantenuto il *plateau*.

Al termine dell'irraggiamento i vessel vengono raffreddati tramite ventilazione forzata, fino a raggiungimento della temperatura ambiente.

A questo punto i contenitori sono stati prelevati dal mineralizzatore e aperti con l'apposita chiave. Il campione ottenuto è stato filtrato per eliminare ogni traccia di impurità e in seguito è stato portato a un volume di 50 mL, attraverso l'aggiunta di acqua demineralizzata ad elevato grado di purezza (conducibilità < 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$).

La soluzione è stata presentata al sistema ICP-OES, il quale preleva per autocampionamento la matrice da analizzare.

Nella tabella sottostante (Tabella 12.2) vengono riportati i campi di misura utilizzati durante le prove:

Tabella 12.2: Limiti di rilevabilità

Elemento	Campo di misura
Arsenico	0,010-5 mg/kg
Calcio	0,50-400 mg/kg
Cadmio	0,001-1 mg/kg
Cromo totale	0,010- 2 mg/kg
Ferro	0,010- 10 mg/kg
Mercurio	0,010-0,5 mg/kg
Piombo	0,010-5 mg/kg
Potassio	0,050-20 mg/kg
Rame	0,010-20 mg/kg
Sodio	0,050-20 mg/kg
Stagno	0,010-10 mg/kg
Zinco	0,010-20 mg/kg

12.2.1 Sistema ICP-OES

Il sistema ICP-OES sfrutta l'accoppiamento di una sorgente al plasma con un rilevatore ottico, con lo scopo di individuare i tenori di concentrazione per alcuni elementi della tavola periodica.

Nell'apparecchiatura è presente una bobina di metallo, che genera un intenso campo magnetico, grazie all'alimentazione di un generatore di radiofrequenze. Al centro di questa struttura si trova la torcia, composta da 3 tubi in quarzo concentrici, nei quali scorrono tre flussi separati di gas Argon (Ar). La ionizzazione di quest'ultimo viene innescata da una scintilla: gli atomi di Ar, ionizzati in cationi ed elettroni, sono eccitati dal campo magnetico, le collisioni tra le particelle cariche e gli atomi di argon generano il plasma. Il plasma risulta stabile ad altissime temperature, il flusso di argon nel tubo più esterno serve ad impedire la fusione del quarzo; il gas presente nel tubo ausiliare serve a mantenere il plasma caldo e lontano dall'estremità del capillare di iniezione, dal quale viene introdotto il campione.

Il campione ottenuto dalla mineralizzazione è allo stato liquido e non può essere letto dal sistema tal quale, ma deve prima subire un ulteriore trattamento tramite camera spray e nebulizzatore, a seguito del quale viene introdotto alla base del plasma, da cui, attraverso la torcia, raggiungerà temperature via via crescenti fino a 6000-8000 ° C.

A causa delle alte temperature l'aerosol si asciuga, si vaporizza, si atomizza e infine si scompone in ioni, passando quindi da uno stato liquido, a solido fino a diventare un gas. In quest'ultimo stato le alte temperature scompongono il campione nella sua forma più elementare, costituita da atomi e ioni eccitati; l'eccitazione degli elettroni crea dei fotoni di luce a lunghezze d'onda specifiche (emissione atomica), i quali vengono scomposti da un monocromatore (reticolo di diffrazione) e in seguito captati da uno spettrometro.

La quantificazione degli analiti presenti nel campione avviene per confronto delle intensità dei segnali ottenuti, rispetto a soluzioni di riferimento multielemento a concentrazione nota, appositamente sviluppate a seconda della curva di taratura prescelta.

13 RISULTATI

Nelle Tabelle 13.1 e 13.2 sono riportati i risultati delle analisi.

Tabella 13.1: Risultati analisi

ID	Cd	Hg	Pb	As	Cr tot	Fe
1	0,753	< 0,010	0,214	0,135	0,117	51,1
2	0,193	< 0,010	0,014	0,155	0,044	25,6
3	0,702	< 0,010	0,019	0,083	0,081	35,2
4	0,011	< 0,010	0,033	0,113	0,019	4,97
5	0,456	< 0,010	0,056	0,058	0,046	24,4
6	0,475	< 0,010	< 0,010	0,111	0,069	41,8
7	0,339	< 0,010	0,347	0,131	0,059	38,7
8	0,120	< 0,010	< 0,010	0,125	0,120	17,4
9	0,479	< 0,010	< 0,010	0,109	0,016	22,2
10	0,123	< 0,010	< 0,010	0,151	0,154	16,8
11	0,303	< 0,010	< 0,010	0,093	0,041	21,7
12	0,225	< 0,010	0,022	0,084	0,041	19,5
13	0,456	< 0,010	< 0,010	0,250	0,050	24,8
14	0,076	< 0,010	0,078	0,126	0,115	13,2
15	0,193	< 0,010	0,062	0,096	0,065	31,7
16	0,011	< 0,010	< 0,010	0,138	0,034	5,30
17	0,441	0,012	0,299	< 0,010	0,081	42,8
18	0,815	0,015	0,221	< 0,010	0,045	38,1
19	0,376	< 0,010	0,033	< 0,010	0,062	28,0
20	0,309	0,010	0,125	< 0,010	0,040	27,0
21	0,271	0,013	0,031	< 0,010	0,044	22,3
22	0,115	0,020	< 0,010	< 0,010	0,024	23,8
23	0,145	< 0,010	< 0,010	< 0,010	0,058	26,1
24	0,256	< 0,010	< 0,010	0,046	0,042	35,3
25	0,213	< 0,010	0,035	0,136	0,022	17,0
26	0,993	< 0,010	0,066	0,146	0,045	29,0
27	0,160	< 0,010	< 0,010	0,179	0,020	14,4
28	0,097	0,019	< 0,010	< 0,010	0,031	20,3
29	0,051	< 0,010	< 0,010	< 0,010	0,016	17,9
30	0,140	0,027	< 0,010	< 0,010	0,047	25,8
31	0,174	< 0,010	< 0,010	< 0,010	0,043	21,5
32	0,206	0,015	< 0,010	< 0,010	0,058	28,9
33	0,362	0,010	0,162	< 0,010	0,052	32,5
34	0,076	< 0,010	< 0,010	0,078	0,055	29,9
35	0,220	< 0,010	0,017	0,195	0,020	16,0

(continua)

(segue)

ID	Cd	Hg	Pb	As	Cr tot	Fe
36	0,070	< 0,010	< 0,010	0,084	0,017	21,2
37	0,094	< 0,010	< 0,010	0,081	0,010	18,9
38	0,312	< 0,010	< 0,010	0,092	0,014	12,9
39	0,201	< 0,010	< 0,010	0,066	0,015	13,3
40	0,132	0,022	< 0,010	< 0,010	0,037	14,6
41	0,120	0,021	< 0,010	< 0,010	0,033	12,5
42	0,117	< 0,010	< 0,010	< 0,010	0,022	10,4
43	0,200	< 0,010	0,172	0,054	0,054	27,5
44	0,194	< 0,010	< 0,010	0,063	0,063	26,9
45	0,041	< 0,010	< 0,010	0,069	0,028	13,5
46	0,216	< 0,010	0,143	0,073	0,040	24,9
47	0,140	< 0,010	< 0,010	0,078	0,117	15,4
48	0,207	< 0,010	0,050	0,080	0,062	27,3
49	0,093	< 0,010	0,068	0,065	0,040	10,5
50	0,435	< 0,010	0,201	0,109	0,045	22,5
51	0,285	< 0,010	0,099	0,096	0,062	24,4
52	0,121	< 0,010	< 0,010	0,092	0,068	31,0
53	0,215	< 0,010	0,016	0,072	0,039	25,7

Valori riportati in mg/kg. ID: numero identificativo del campione.

Diciture 'minori di' (<) indicano valori inferiori al limite di quantificazione della metodica

Tabella 13.2: Risultati analisi

ID	Ni	Na	Ca	Mg	Sn	Zn	Cu
1	0,284	562,7	2146	434,4	0,092	15,1	24,3
2	0,121	628,7	1551	351,0	0,108	8,18	19,7
3	0,360	617,4	2029	355,9	0,046	11,6	32,5
4	0,017	394,2	1243	261,8	0,063	5,99	12,9
5	0,150	533,3	1671	314,8	0,032	10,3	21,6
6	0,198	602,8	1547	320,5	0,082	8,50	34,0
7	0,203	662,9	2408	486,3	0,092	12,0	32,2
8	0,523	657,8	1819	488,1	0,087	26,6	18,6
9	0,285	284,1	2890	290,9	0,088	10,6	17,2
10	0,605	660,2	2318	571,6	0,092	26,2	26,9
11	0,393	524,2	1828	293,4	0,049	8,65	20,1
12	0,414	546,1	2191	299,9	0,048	9,86	29,7
13	0,180	565,4	2065	347,9	0,133	11,7	25,4
14	0,389	653,1	1614	391,9	0,062	21,1	20,9
15	0,260	642,7	2426	392,5	0,062	7,86	22,1
16	0,150	400,9	1874	377,3	0,104	7,27	12,9
17	0,097	755,2	2438,7	435,2	< 0,010	17,0	40,9

(continua)

(segue)

ID	Ni	Na	Ca	Mg	Sn	Zn	Cu
18	0,092	763,8	3325,4	542,3	< 0,010	21,1	58,7
19	0,260	768,2	4642,8	460,5	0,033	12,0	28,2
20	0,077	685,1	2212,7	453,8	< 0,010	8,44	27,9
21	0,110	667,4	1665,4	467,9	< 0,010	10,3	26,3
22	0,083	614,4	2174,7	264,5	< 0,010	7,66	23,9
23	0,291	739,4	2705,2	561,3	0,029	49,4	32,8
24	0,095	730,8	5045,5	370,3	0,061	17,3	21,5
25	0,171	243,0	3139	455,4	0,082	13,1	24,5
26	0,387	366,4	2403	402,3	0,045	23,5	24,4
27	0,172	254,7	3395	373,1	0,108	11,4	25,9
28	0,051	431,5	3353,0	334,9	< 0,010	9,26	41,2
29	0,032	310,0	4661,2	381,0	0,007	9,72	48,4
30	0,180	679,3	4959,0	575,5	< 0,010	16,9	38,72
31	0,113	716,6	5022,8	670,1	< 0,010	13,0	27,9
32	0,125	573,8	4270,4	463,3	< 0,010	14,7	35,6
33	0,145	567,5	4616,9	5364,8	< 0,010	1,45	45,6
34	0,470	495,9	3421	294,8	0,060	7,79	12,7
35	0,159	524,1	2107	17,6	0,129	8,27	8,53
36	0,076	355,7	1802	185,3	0,039	4,47	10,6
37	0,125	386,3	1855	226,8	0,078	6,04	11,5
38	0,212	531,1	1983	376,3	0,057	8,34	8,97
39	0,290	495,4	1747	298,4	0,043	7,15	8,87
40	0,117	719,9	3001,7	365,1	< 0,010	8,29	15,0
41	0,087	673,7	2752,5	413,6	< 0,010	9,37	27,3
42	0,075	655,6	2091,8	377,8	0,022	8,36	26,0
43	0,129	535,2	2020,5	386,7	0,043	8,83	38,6
44	0,257	584,8	3034,2	445,5	0,025	45,4	19,3
45	0,099	256,7	4064,3	336,7	0,036	8,02	23,6
46	0,100	380,7	2100,7	400,2	0,038	9,28	22,4
47	0,082	617,2	2633,5	403,6	0,041	13,9	63,5
48	0,112	596,5	2461,3	447,5	0,050	10,7	32,1
49	0,112	521,6	2489,1	341,1	0,040	9,15	48,7
50	0,114	435,6	4560,1	485,3	0,045	13,2	23,8
51	0,125	513,2	3818,7	660,5	0,051	16,6	37,3
52	0,270	663,2	2174,3	517,0	0,041	57,7	17,9
53	0,093	462,2	2120,5	322,4	0,049	8,55	27,3

Valori riportati in mg/kg.

ID: numero identificativo del campione.

Diciture 'minori di' (<) indicano valori inferiori al limite di quantificazione della metodica

In Tabella 13.3 sono riportati i valori medi per ogni elemento \pm deviazione standard (S.D.), riferiti alle singole specie di chioccioline impiegate.

I risultati delle prove sono stati letti in un'ottica di confronto tra tutte le specie di chioccioline utilizzate nell'esperimento, allo scopo di individuare eventuali differenze significative nell'accumulo dei vari contaminanti. Vengono adottate le seguenti sigle: *Eobania vermiculata* (Ev), *Helix pomatia* (Hp), *Helix aspersa* (Ha), *Helix lucorum* (Hl), missing (Ms). Di *Helix lucorum* è pervenuto un solo campione, nella discussione dei dati perciò non verrà presa in considerazione, essendo un dato non significativo ai fini statistici.

In seguito, per rendere più chiara ed immediata l'interpretazione della tabella 13.3, vengono di seguito proposti dei grafici (dal 13.1 al 13.12), i quali esprimono le differenze tra le varie specie di chioccioline analizzate, nei confronti dei singoli elementi. In ordinata è indicato il singolo elemento, in ascissa sono riportate le specie.

Le illustrazioni sono correlate da media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\underline{I}) e scarto interquartile.

Tabella 13.3: Medie e S.D. per specie

Elemento	Ev	Hp	Ha
Cd	0,149±0,080	0,266±0,286	0,321±0,226
Hg	0,009 ±0,007	0,011±0,008	0,007±0,004
Pb	0,006±0,004	0,033±0,053	0,070±0,101
As	0,068±0,060	0,055±0,075	0,087±0,066
Cr tot	0,025±0,014	0,037±0,015	0,062±0,035
Fe	16,623±6,001	23,036±6,268	26,195±11,444
Ni	0,179±0,130	0,153±0,102	0,241±0,152
Na	537,519±125,205	460,330±180,207	605,650±121,362
Ca	2360,893±600,428	3979,957±930,720	2208,104±714,812
Mg	317,274±80,320	456,939±113,507	398,423±94,489
Sn	0,049±0,039	0,030±0,040	0,058±0,039
Zn	7,564±1,485	12,557±6,004	14,243±9,667
Cu	14,397±7,279	34,689±9,346	26,504±9,814

Valori espressi in mg/kg.

Eobania vermiculata (Ev), *Helix pomatia* (Hp), *Helix aspersa* (Ha), *Helix lucorum* (Hl), missing (Ms)

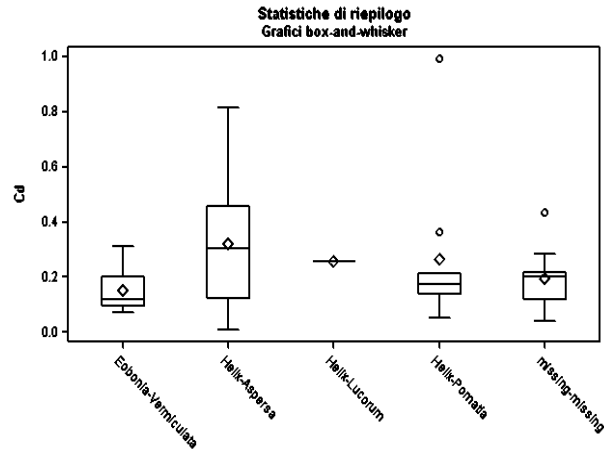


Figura 13.1: Cadmio: confronto tra specie (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (L) e scarto interquartile.

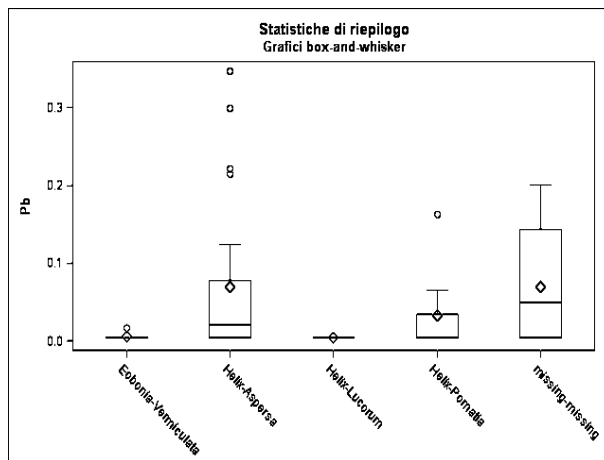


Figura 13.2: Piombo: confronto tra specie (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (L) e scarto interquartile.

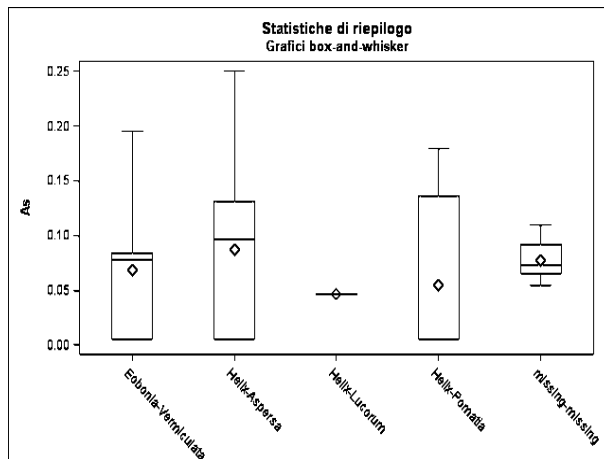


Figura 13.3: Arsenico: confronto tra specie (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (L) e scarto interquartile.

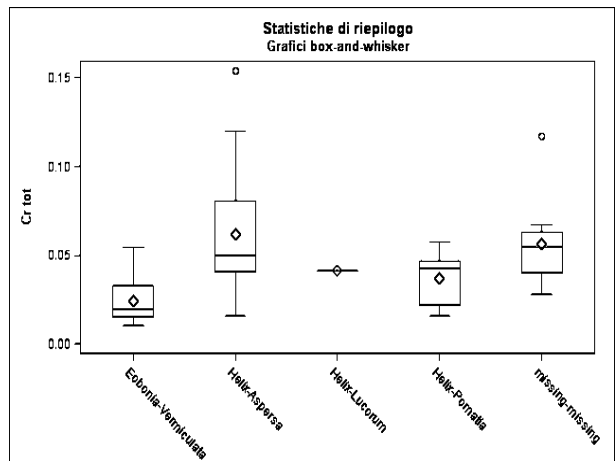


Figura 13.4: Cromo: confronto tra specie (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (L) e scarto interquartile.

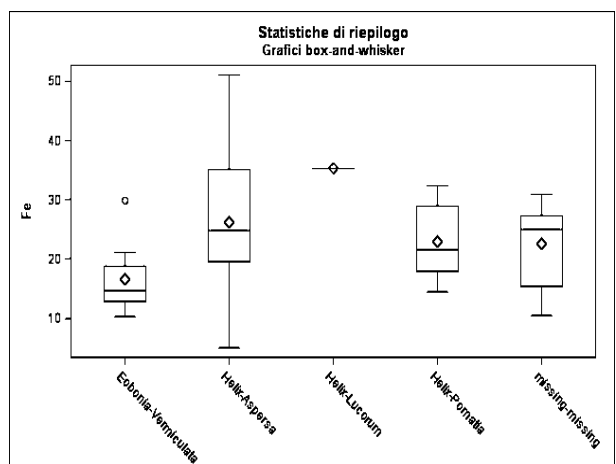


Figura 13.5: Ferro: confronto tra specie (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (L) e scarto interquartile.

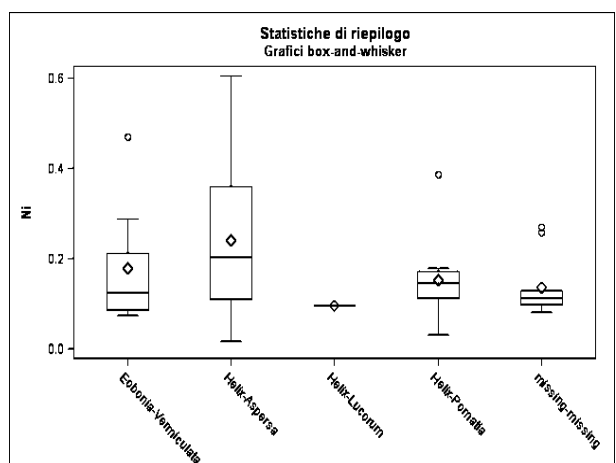


Figura 13.6: Nichel: confronto tra specie (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (L) e scarto interquartile.

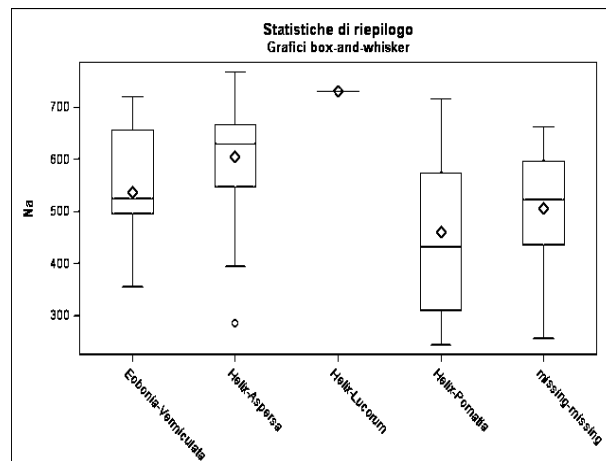


Figura 13.7: Sodio: confronto tra specie (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (L) e scarto interquartile.

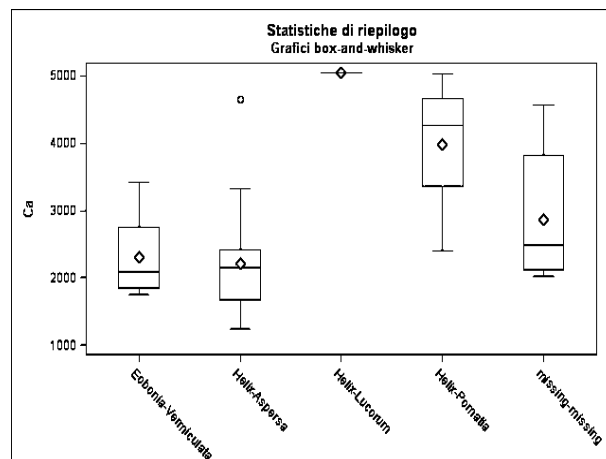


Figura 13.8: Calcio: confronto tra specie (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (L) e scarto interquartile.

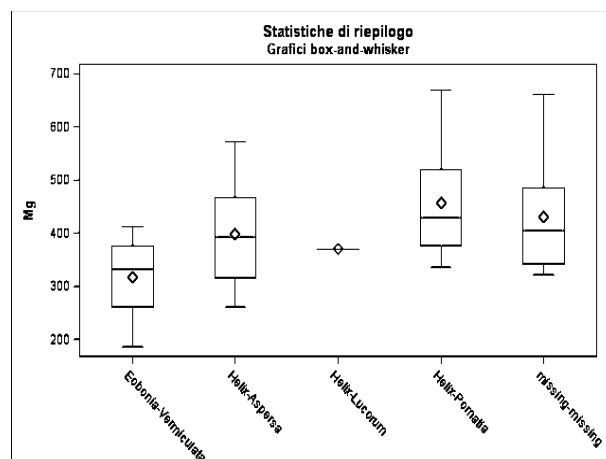


Figura 13.9: Magnesio: confronto tra specie (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (L) e scarto interquartile.

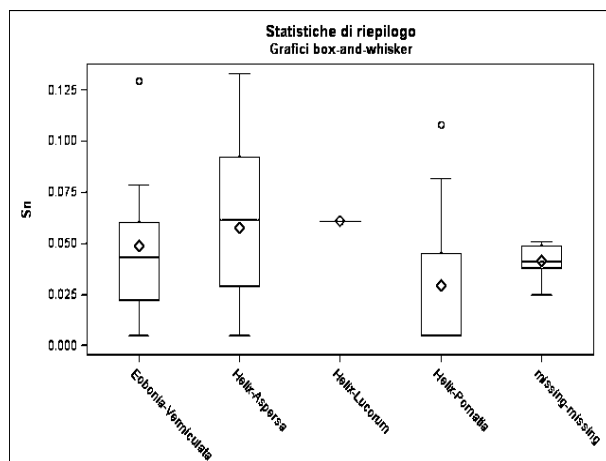


Figura 13.10: Stagno: confronto tra specie (mg/kg)
media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (I) e scarto interquartile.

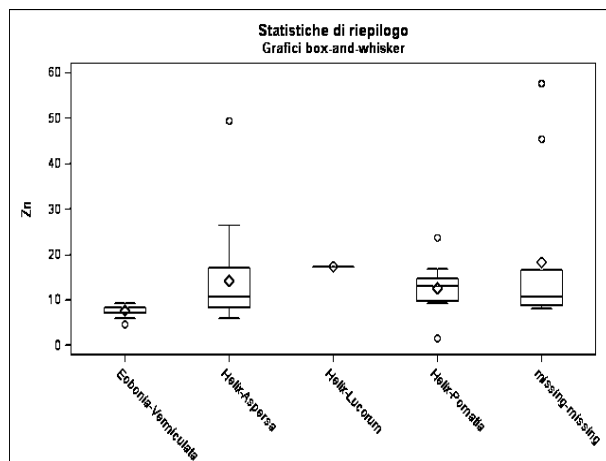


Figura 13.11: Zinco: confronto tra specie (mg/kg)
media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (I) e scarto interquartile.

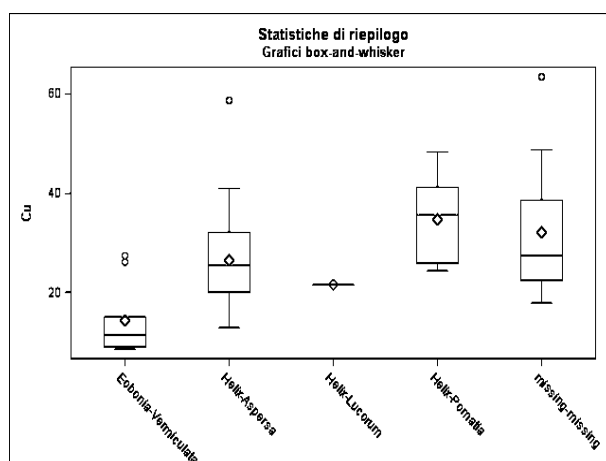


Figura 13.12: Rame: confronto tra specie (mg/kg)
media(\diamond), mediana(—), quartili superiore ed inferiore (I) e scarto interquartile.

Per *Helix pomatia* ed *Helix aspersa* sono stati messi a confronto i dati provenienti dalle chioccioline di cattura rispetto alle chioccioline allevate, qui di seguito sono riportate in Tabella 13.4 le medie, correlate dalle deviazioni standard (S.D.), espresse in mg/kg. Sono state adottate le seguenti abbreviazioni: *Helix aspersa* allevata (HaA), *Helix pomatia* allevata (HpA), *Helix aspersa* raccolta (HaR), *Helix pomatia* raccolta (HpR).

Per dare una visione più immediata e chiara dei dati espressi in tabella 13.4 vengono in seguito proposti dei grafici, i quali esprimono le differenze all'interno di una stessa specie tra chioccioline allevate e chioccioline raccolte in natura, nei confronti dei singoli elementi. Nell'ordine sono rappresentati i dati riguardanti *Helix aspersa* (Figure da 13.13 a 13.24), seguiti dai risultati per *Helix pomatia* (Figure da 13.25 a 13.36). *Eobania vermiculata* non è stata considerata in quanto è interamente di cattura.

In ordinata è riportato l'elemento considerato, in ascissa è espressa l'origine delle chioccioline (allevamento o cattura).

Le illustrazioni sono correlate da media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\underline{I}) e scarto interquartile.

Tabella 13.4: Confronto fra chioccioline di raccolta e chioccioline di cattura

Origine	Elemento	Media	±S.D.
HaA	Cd	0,292	±0,231
	Hg	0,007	±0,004
	Pb	0,086	±0,109
	As	0,072	±0,059
	Cr tot	0,066	±0,037
	Fe	26,278	±12,746
	Ni	0,234	±0,163
	Na	628,336	±109,133
	Ca	2245,689	±771,626
	Mg	418,036	±97,106
	Sn	0,050	±0,036
	Zn	15,380	±10,677
	Cu	27,484	±10,544
HaR	Cd	0,427	±0,193
	Hg	0,005	±0,000
	Pb	0,010	±0,006
	As	0,138	±0,068
	Cr tot	0,046	±0,023
	Fe	25,896	±5,451
	Ni	0,268	±0,116
	Na	523,981	±140,489
	Ca	2072,798	±500,542
	Mg	327,819	±32,674
	Sn	0,085	±0,038
	Zn	10,150	±1,648
	Cu	22,976	±6,111
HpA	Cd	0,172	±0,108
	Hg	0,014	±0,009
	Pb	0,031	±0,064
	As	0,005	±0,000
	Cr tot	0,041	±0,015
	Fe	24,480	±5,567
	Ni	0,108	±0,056
	Na	546,473	±152,930
	Ca	4480,529	±614,761
	Mg	484,938	±138,077
	Sn	0,005	±0,001
	Zn	10,831	±5,440
	Cu	39,562	±7,346
HpR	Cd	0,455	±0,467
	Hg	0,005	±0,000
	Pb	0,035	±0,031
	As	0,154	±0,023
	Cr tot	0,029	±0,014
	Fe	20,148	±7,805
	Ni	0,243	±0,124
	Na	288,042	±68,132
	Ca	2978,813	±514,767
	Mg	410,274	±41,681
	Sn	0,078	±0,032
	Zn	16,011	±6,585
	Cu	24,942	±0,873

Medie ± S.D.

Valori riportati in mg/kg

Helix aspersa allevata (HaA), *Helix pomatia* allevata (HpA), *Helix aspersa* raccolta (HaR), *Helix pomatia* raccolta (HpR).

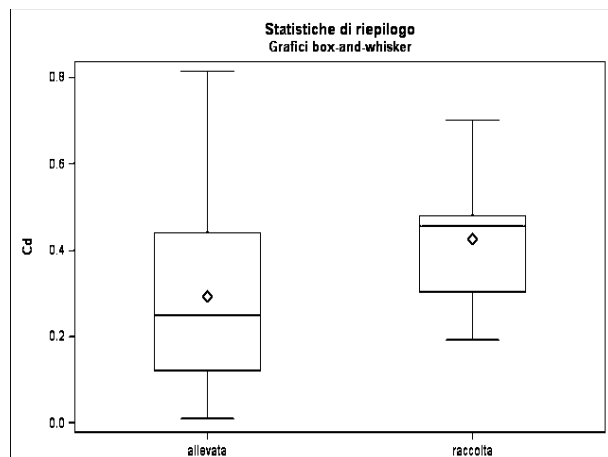


Figura 13.13: Cadmio: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(◇), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

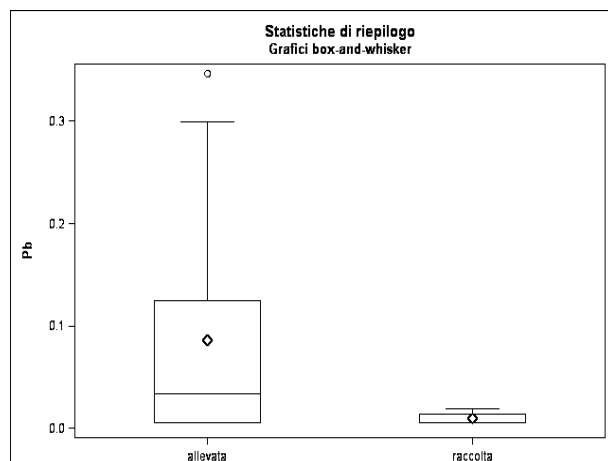


Figura 13.14: Piombo: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(◇), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

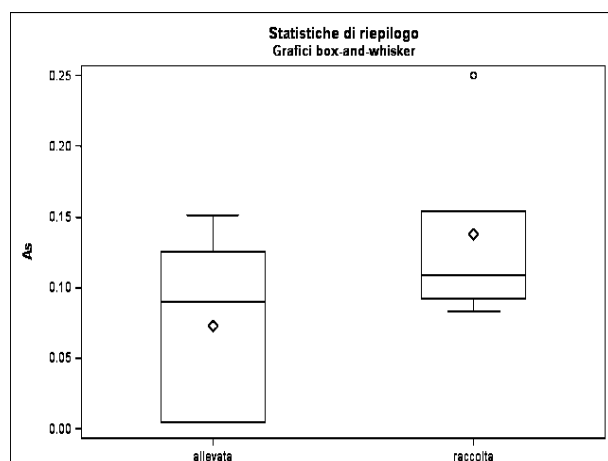


Figura 13.15: Arsenico: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(◇), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

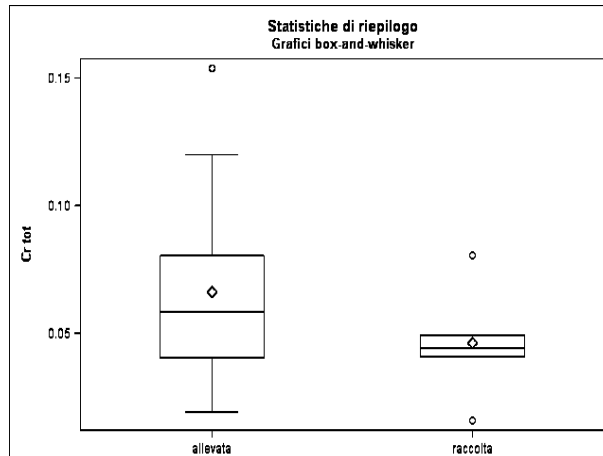


Figura 13.16: Cromo totale: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

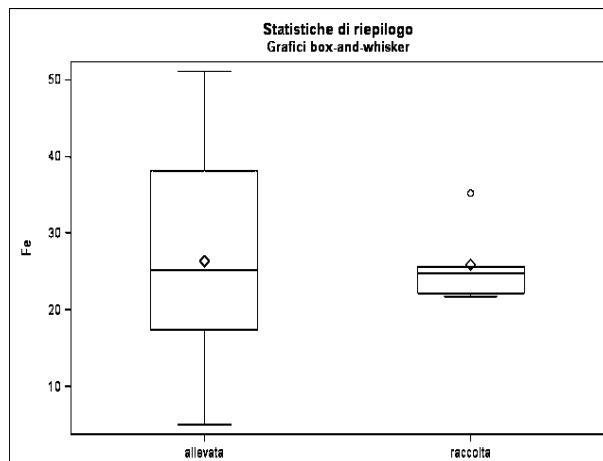


Figura 13.17: Ferro: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

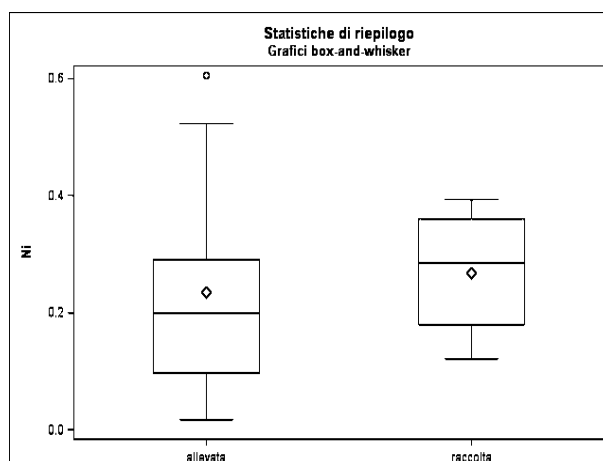


Figura 13.18: Nichel: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

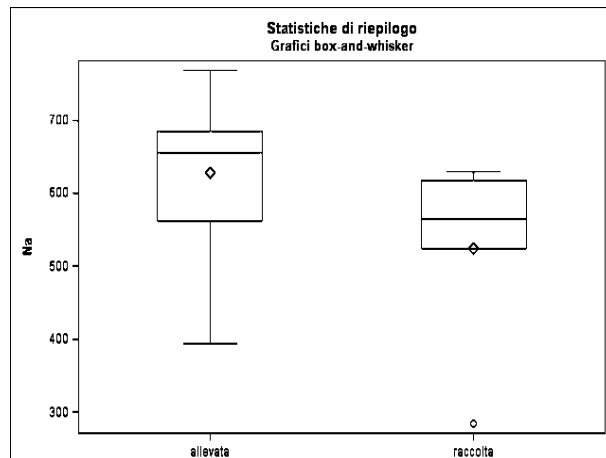


Figura 13.19: Sodio: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

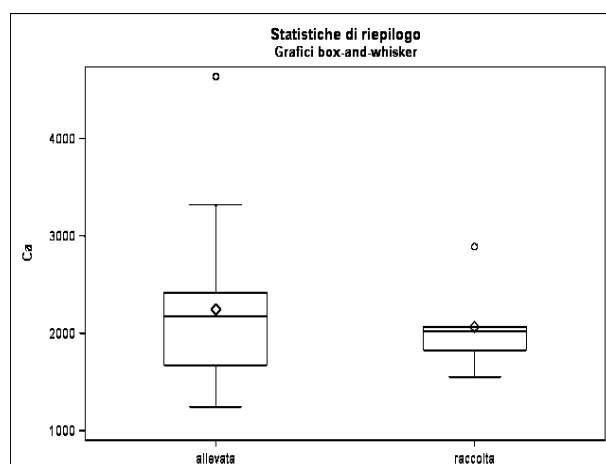


Figura 13.20: Calcio: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

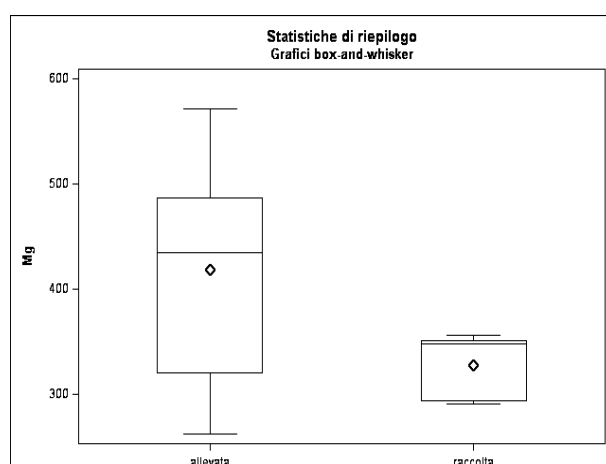


Figura 13.21: Magnesio: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

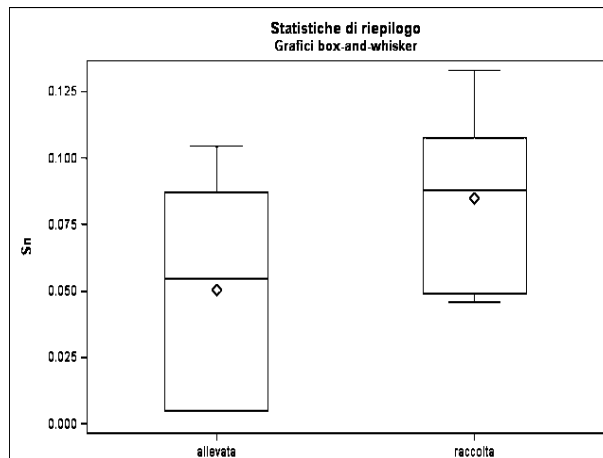


Figura 13.22: Stagno: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

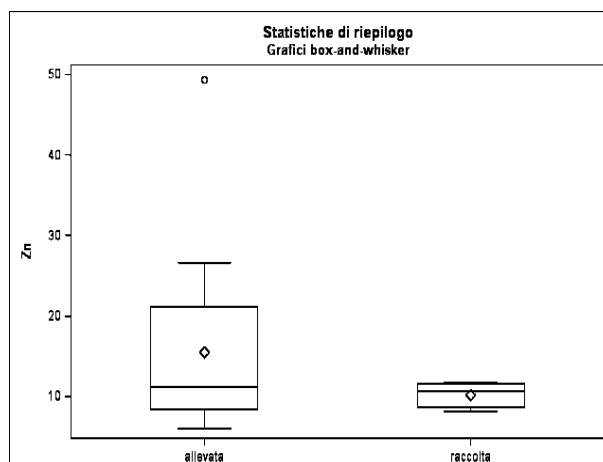


Figura 13.23: Zinco: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

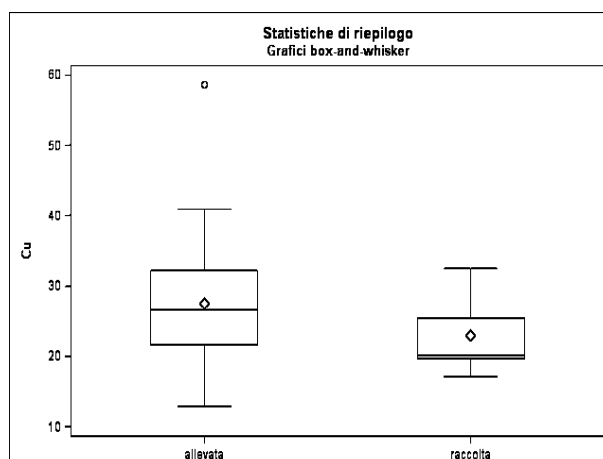


Figura 13.24: Rame: *Helix aspersa*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

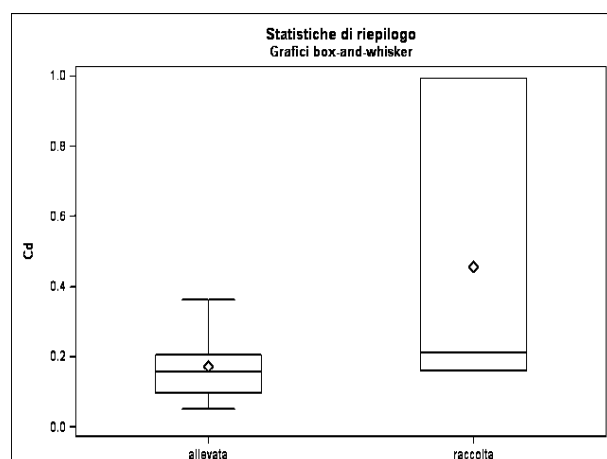


Figura 13.25: Cadmio: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(◇), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

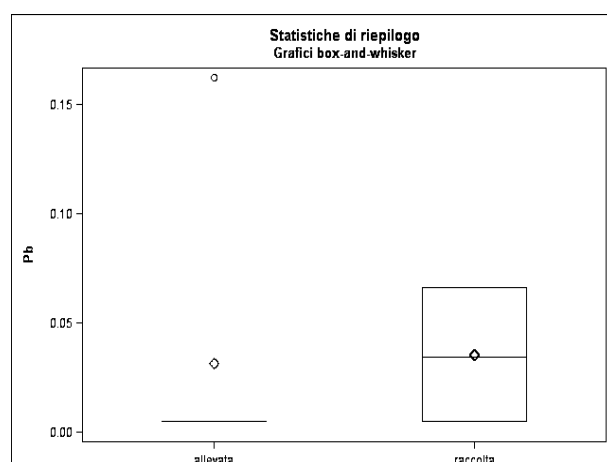


Figura 13.26: Piombo: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(◇), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

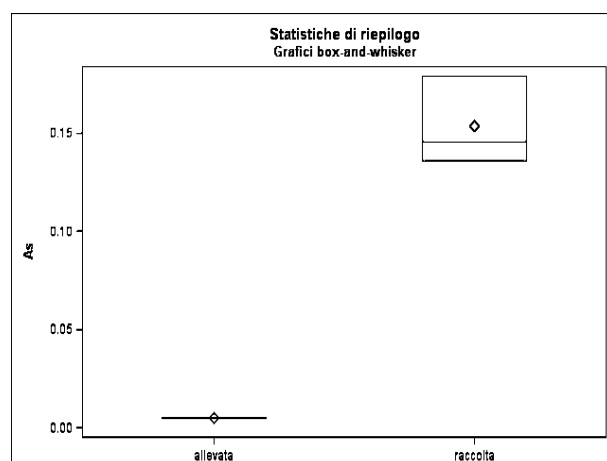


Figura 13.27: Arsenico: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(◇), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

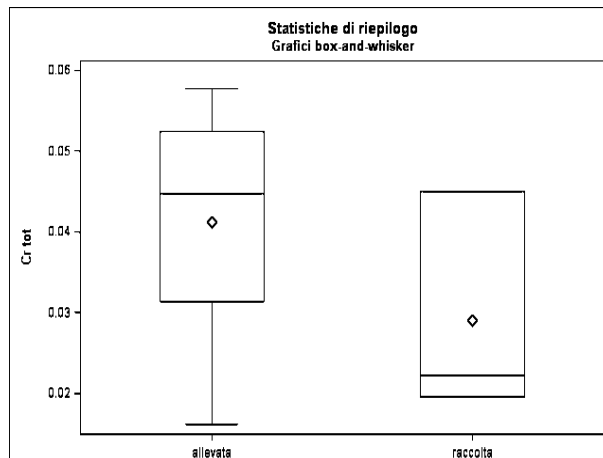


Figura 13.28: Cromo totale: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

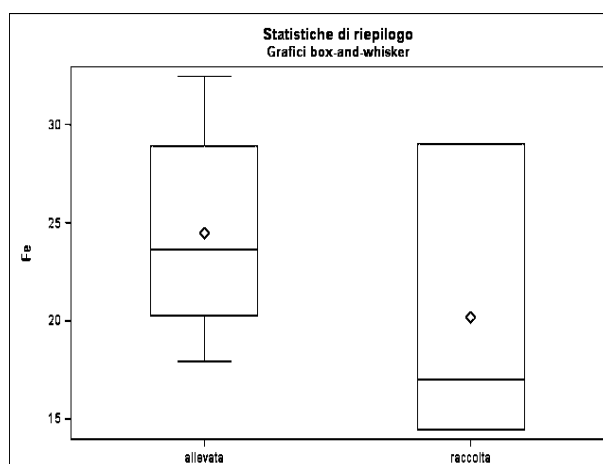


Figura 13.29: Ferro: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

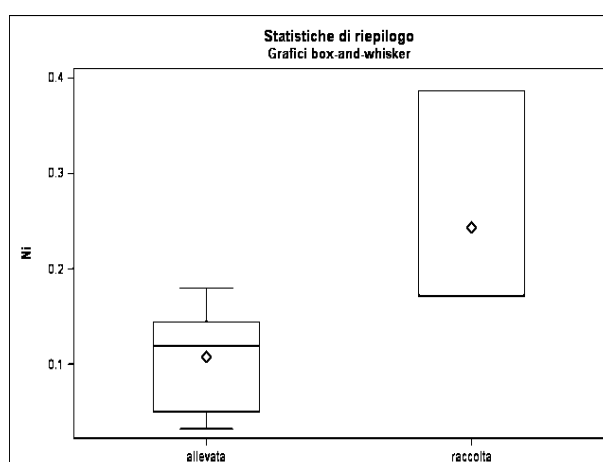


Figura 13.30: Nichel: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

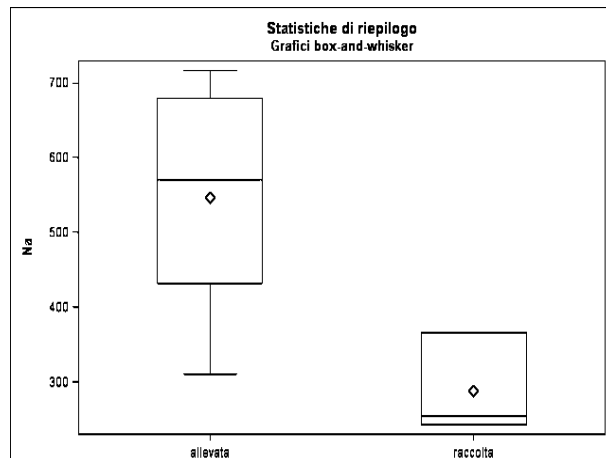


Figura 13.31: Sodio: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

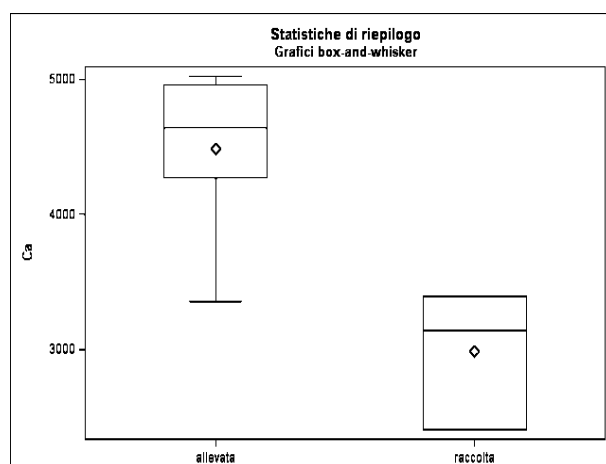


Figura 13.32: Calcio: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

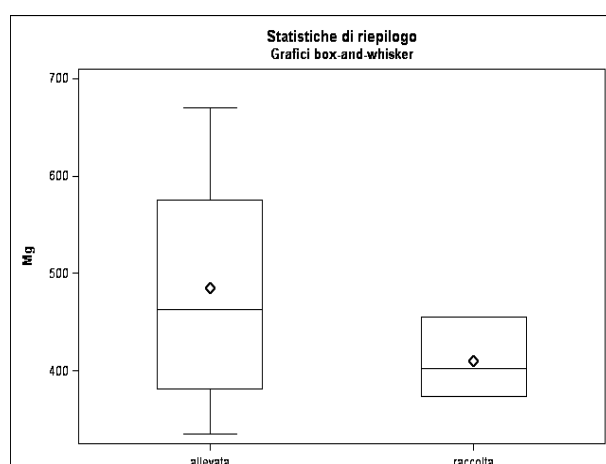


Figura 13.33: Magnesio: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

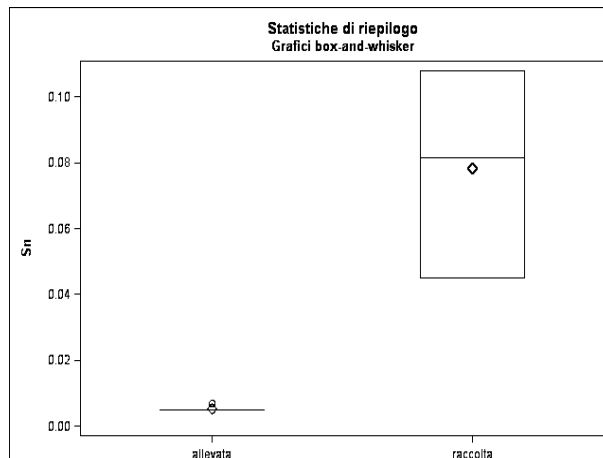


Figura 13.34: Stagno: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

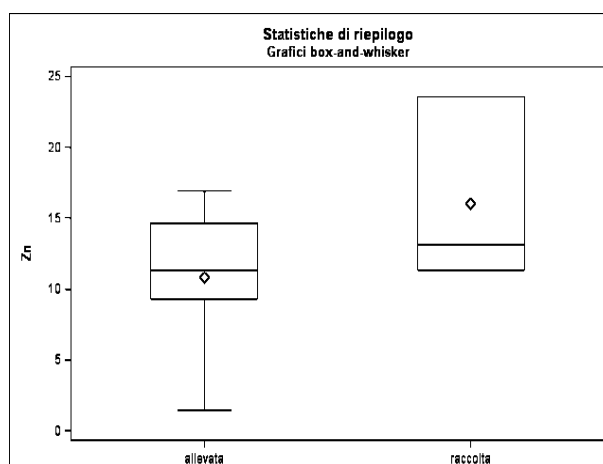


Figura 13.35: Zinco: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

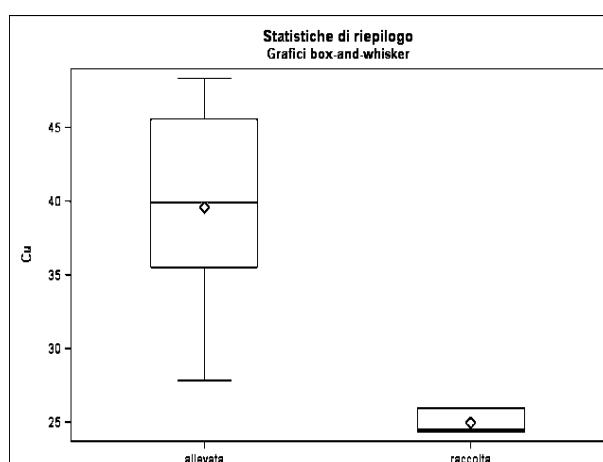


Figura 13.36: Rame: *Helix pomatia*, confronto tra chioccioline allevate e raccolte (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore (\bar{L}) e scarto interquartile.

Per la sola *Helix aspersa* è stato possibile fare un confronto tra le varie zone di provenienza, in quanto per le altre specie i campioni non erano presenti in numero significativo. I Paesi sono stati raggruppati in tre aree geografiche (A.G.): Africa (Algeria, Marocco, Tunisia, Turchia), sud Europa (Austria, Grecia, Italia, Portogallo), est Europa (Bulgaria, Polonia, Rep. Ceca). Le abbreviazioni impiegate sono: Africa (AF), sud Europa (SE), est Europa (EE). Qui di seguito sono riportate, in Tabella 13.5, le medie, correlate dalle deviazioni standard (S.D.), espresse in mg/kg.

Con lo scopo di dare una visione più immediata e chiara dell'elaborazione dei dati riportati in Tabella 13.5, vengono in seguito proposti dei grafici (Figure da 13.37 a 13.48), i quali esprimono le differenze all'interno della stessa specie *Helix aspersa*, tra chioccioline provenienti da Africa, sud Europa ed Est Europa, nei confronti dei singoli elementi.

In ordinata è riportato l'elemento considerato, in ascissa le aree geografiche.

Le illustrazioni sono correlate da media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\perp) e scarto interquartile.

Tabella 13.5: Confronto tra aree geografiche

A.G.	Cd	Hg	Pb
AF	0,417±0,193	0,005±0,000	0,010±0,006
SE	0,305±0,239	0,008±0,005	0,098±0,116
EE	0,225±0,218	0,005±0,00	0,029±0,042

Valori riportati in mg/kg

Area geografica (A.G.), Africa (AF), sud Europa (SE), est Europa (EE)

Tabella 13.6: Confronto tra aree geografiche

A.G.	As	Cr tot	Fe	Ni
AF	0,138±0,068	0,046±0,023	25,896±5,451	0,268±0,116
SE	0,061±0,058	0,057±0,030	26,745±12,695	0,201±0,139
EE	0,130±0,020	0,113±0,042	23,941±15,583	0,397±0,204

Valori riportati in mg/kg

Area geografica (A.G.), Africa (AF), sud Europa (SE), est Europa (EE)

Tabella 13.7: Confronto tra aree geografiche

A.G.	Na	Ca	Mg
AF	523,981±140,489	2072,798±500,542	327,819±32,674
SE	626,269±119,561	2329,535±807,318	416,041±95,049
EE	638,672±31,296	1826,459±426,912	428,010±129,354

Valori riportati in mg/kg

Area geografica (A.G.), Africa (AF), sud Europa (SE), est Europa (EE)

Tabella 13.8: Confronto tra aree geografiche

A.G.	Sn	Zn	Cu
AF	0,085±0,038	10,150±1,648	22,976±6,11
SE	0,045±0,037	14,732±11,127	27,529±11,350
EE	0,079±0,016	18,619±9,132	27,260±6,579

Valori riportati in mg/kg

Area geografica (A.G.), Africa (AF), sud Europa (SE), est Europa (EE)

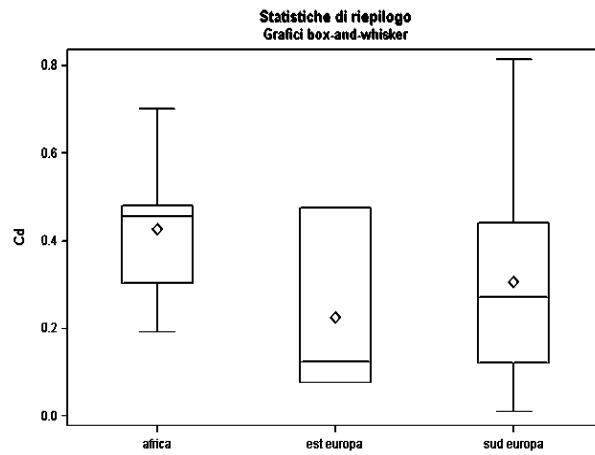


Figura 13.37 Cadmio: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\bar{I}) e scarto interquartile.

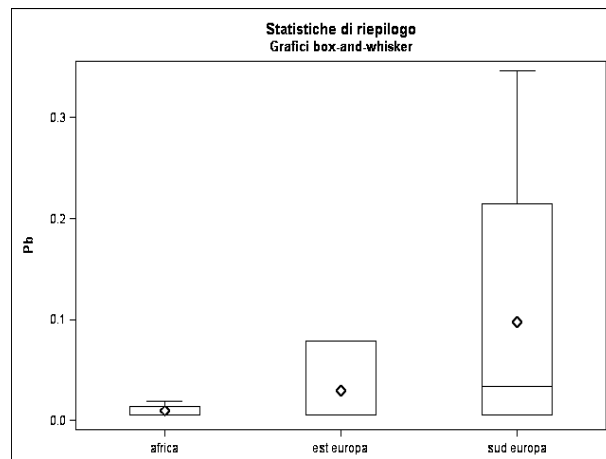


Figura 13.38 Piombo: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\bar{I}) e scarto interquartile.

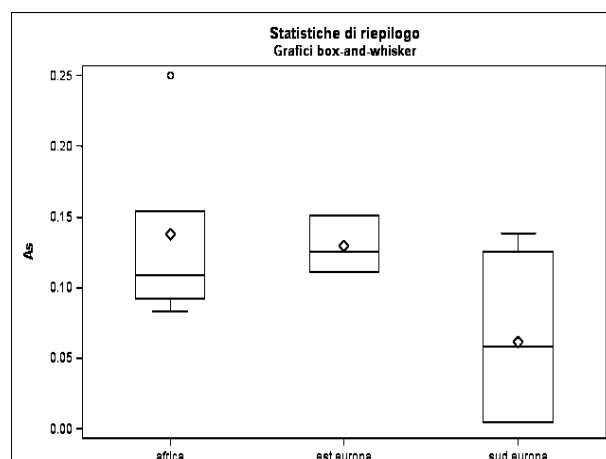


Figura 13.39 Arsenico: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\bar{I}) e scarto interquartile.

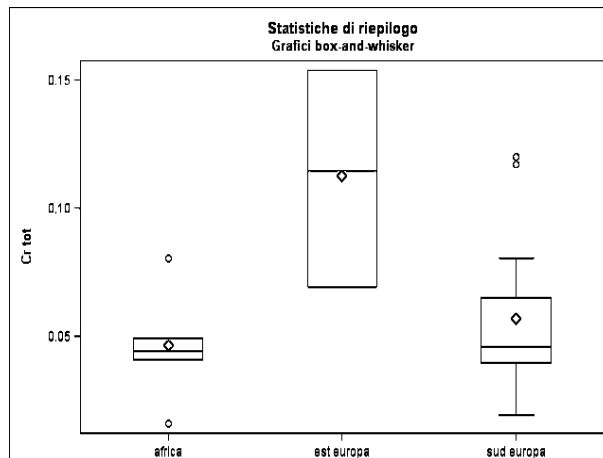


Figura 13.40 Cromo totale: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\underline{I}) e scarto interquartile.

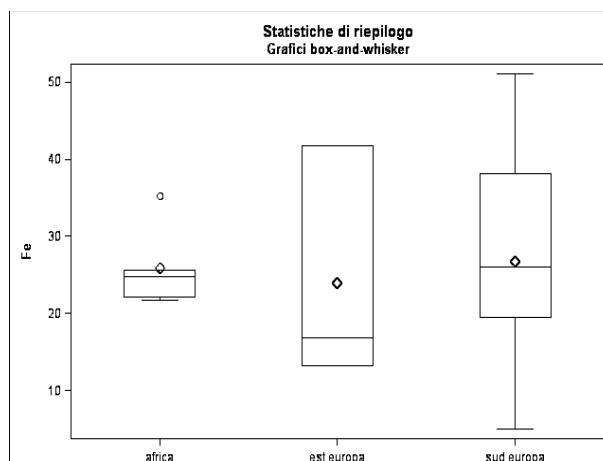


Figura 13.41 Ferro: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\underline{I}) e scarto interquartile.

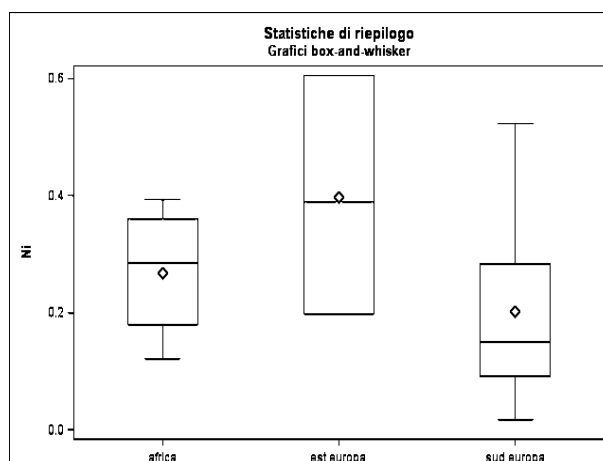


Figura 13.42 Nichel: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\underline{I}) e scarto interquartile.

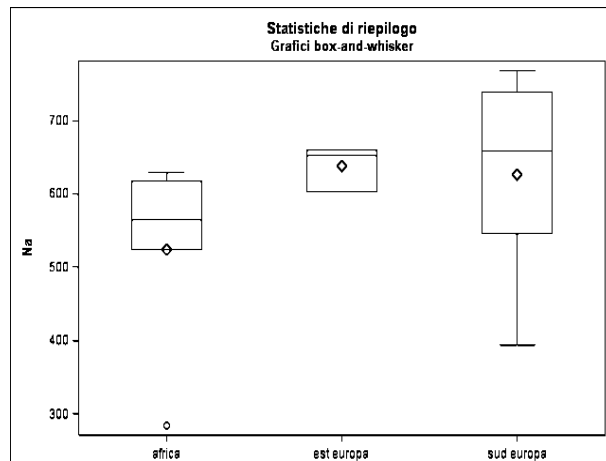


Figura 13.43 Sodio: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\bar{I}) e scarto interquartile.

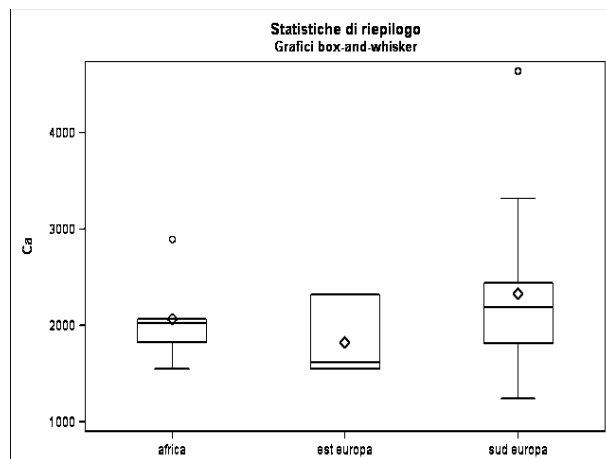


Figura 13.44 Calcio: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\bar{I}) e scarto interquartile.

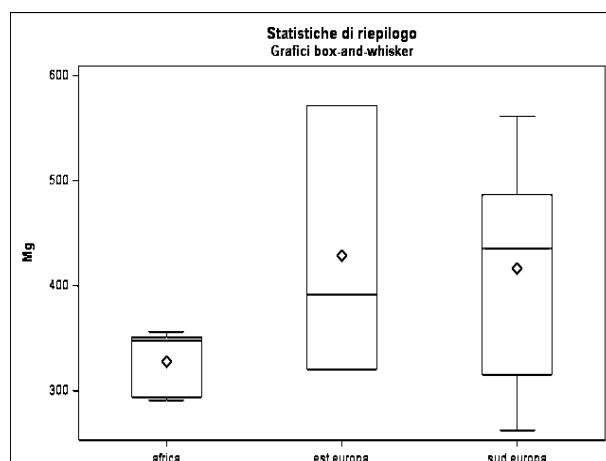


Figura 13.45 Magnesio: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\bar{I}) e scarto interquartile.

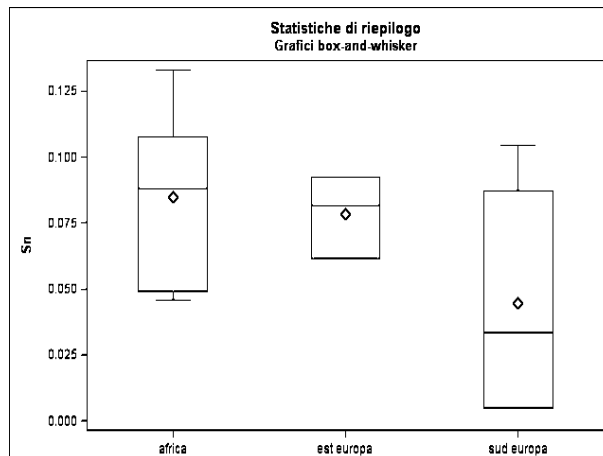


Figura 13.46 Stagno: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\underline{I}) e scarto interquartile.

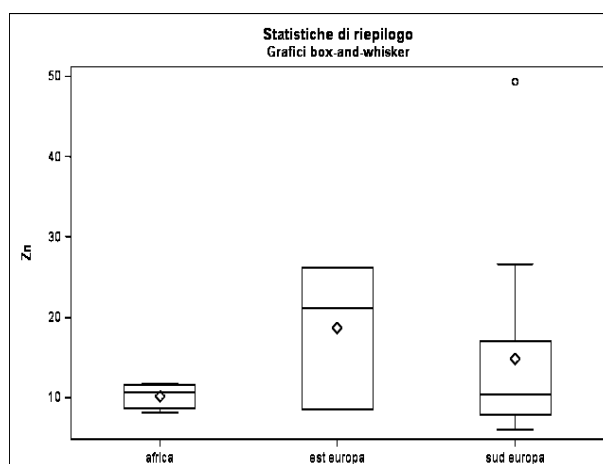


Figura 13.47 Zinco: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\underline{I}) e scarto interquartile.

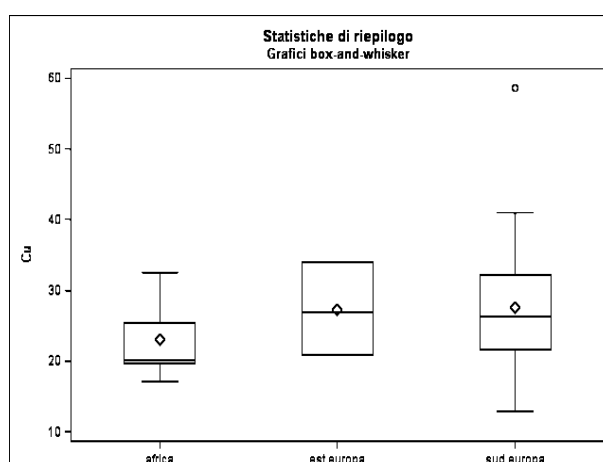


Figura 13.48 Rame: *Helix aspersa*, confronto tra Africa, sud Europa ed est Europa (mg/kg) media(\diamond), mediana(—), quartili superiore (\bar{I}) ed inferiore(\underline{I}) e scarto interquartile.

I risultati per As, Fe, Na, Sn, Cu, Cr, Ni, Ca, Cd, Mg sono stati analizzati secondo test ANOVA (P correlato a ogni elemento) con lo scopo di identificare eventuali differenze significative tra i dati; nella Tabella 13.9 vengono riportate le medie \pm errore standard (mg/kg). Cd, Ca, Ni, e Cr sono stati elaborati in logaritmo naturale, perciò nella Tabella 13.9 i valori sono espressi come media (range interquantile). Tutti gli elementi sono correlati dal livello di significatività (P).

Il confronto statistico tra i dati è stato fatto nell'ottica delle specie di chioccioline considerate, *Helix lucorum* non è stata presa in considerazione in quanto, disponendo di un solo campione, non è stata giudicata significativa per l'analisi statistica. Una seconda comparazione è stata creata per ogni elemento tra chioccioline di allevamento e chioccioline raccolte in natura (Tabella 13.10).

Il mercurio non è stato elaborato in quanto la percentuale di campioni al di sotto del limite di quantificazione del metodo di prova era troppo elevata.

I valori ottenuti dalle analisi di piombo e zinco non hanno presentato una distribuzione normale, per portare a termine le analisi statistiche sono stati adoperati due test: test di *Mann-Whitney*, utilizzato per il confronto tra chioccioline allevate e raccolte e test di *Kruskal-Wallis*, impiegato nel paragone tra specie.

Nelle Tabelle 13.11 e 13.12 sono riportati rispettivamente i risultati del test di *Mann-Whitney* e di *Kruskal-Wallis*. I valori sono espressi come mediana (range interquantile) e il livello di significatività corrispondente (P). La valutazione del piombo con il secondo test non ha portato a risultati significativi e per questo non viene riportata.

Tabella 13.9: Confronto tra diverse specie di chioccioline considerate nello studio

Elem.	Ev	Ha	Hp	Ms	P
As	0,032±0,020 ^b	0,107±0,012 ^a	0,067±0,018 ^{ab}	0,100±0,017 ^{ab}	0,027
Fe	18,584±3,415	25,087±2,091	22,382±3,047	21,459±2,905	0,422
Na	590,407±48,360	575,757±29,607	442,700±43,144	472,433±41,129	0,020
Sn	0,030±0,012	0,068±0,007	0,036±0,011	0,053±0,010	0,030
Cu	14,340±3,992 ^b	26,536±2,444 ^{ab}	34,708±3,561 ^a	32,258±3,395 ^a	0,004
Cr	0,024(0,020-0,029) ^b	0,050(0,045-0,057) ^a	0,033(0,028-0,039) ^{ab}	0,049(0,042-0,058) ^{ab}	0,015
Ni	0,125(0,096-0,162)	0,208(0,177-0,244)	0,131(0,104-0,165)	0,140(0,112-0,174)	0,186
Ca	2426,503(2190,339-2688,131) ^b	2027,103(1903,929-2158,246) ^b	3774,363(3444,854-413539) ^a	2615,830(2397,67-2853-84) ^b	< 0,0001
Cd	0,103(0,074-0,145)	0,250(0,203-0,308)	0,205(0,151-0,278)	0,197(0,147-0,263)	0,254
Mg	358,442±36,478	375,155±21,327	446,647±32,648	405,304±29,609	0,208

Medie seguite da lettere diverse nella stessa riga sono significativamente differenti tra loro, ^a indica il valore maggiore (P corrispondenti ad ogni elemento) secondo test ANOVA.

Eobania vermiculata (Ev), *Helix pomatia* (Hp), *Helix aspersa* (Ha), *Helix lucorum* (Hl), missing (Ms)

Tabella 13.10: Confronto tra chioccioline di origine diversa: allevate e raccolte in natura

Elemento	Allevata	Raccolta	P
As	0,041±0,012	0,112±0,014	0,001
Fe	23,839±1,953	19,917±2,290	0,237
Na	573,212±27,647	467,437±32,429	0,027
Sn	0,028±0,007	0,065±0,008	0,003
Cu	26,904±2,282	27,018±2,677	0,976
Cr	0,041(0,037-0,046)	0,034(0,030-0,039)	0,301
Ni	0,125(0,107-0,145)	0,175(0,146-0,208)	0,188
Ca	2854,374(2692,079-3026,453)	2441,429(2279,42-2614,952)	0,118
Cd	0,140(0,115-0,170)	0,231(0,183-0,290)	0,133
Mg	437,554±20,584	355,220±23,478	0,018

Valori riportati in mg/kg

Tabella 13.11: Risultati test Mann-Whitney per valori non parametrici

Elemento	Allevata	Raccolta	P
Zn	11,366(8,545-16,792)	8,653(8,179-11,600)	0,024
Pb	0,026(0,005-0,125)	< DL	0,032

Valori riportati in mg/kg

DL: limite di quantificazione

Tabella 13.12: Risultati test Kruskal-Wallis per valori non parametrici (mg/kg)

Elemento	Ev	Ha	Hp	Ms	P
Zn	8,7(7,15-8,34) ^b	10,62(8,44-16,97) ^a	12,99(9,72-14,66) ^a	10,73(8,83-16,64) ^a	0,055

Valori riportati in mg/kg

DL: limite di quantificazione;

Lettere diverse sulla stessa riga indicano significatività diverse.

Per illustrare più facilmente i risultati statistici ottenuti sono riportati qui di seguito dei grafici (Figure da 13.49 a 13.58) per ogni elemento studiato. Ogni grafico rappresenta sia il paragone tra le specie, sia il paragone secondo l'origine del campione.

In ordinata è riportato il metallo considerato, in ascissa le specie, le linee spezzate indicano, a seconda del colore, l'origine delle chioccioline.

Legenda dei colori: — raccolta — allevata

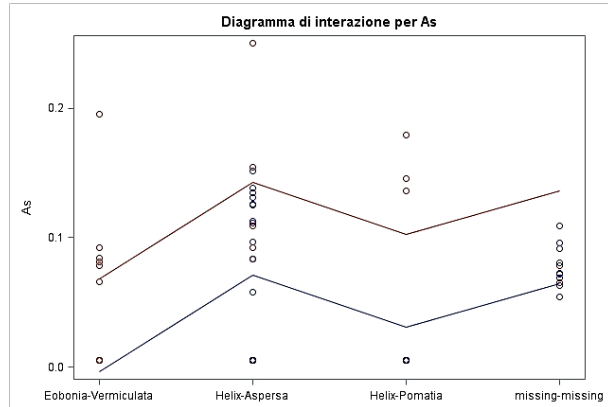


Figura 13.49 As: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)
 — raccolto — allevata

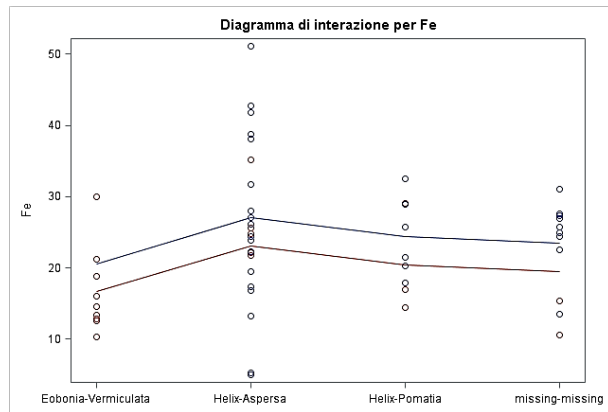


Figura 13.50 Fe: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)
 — raccolto — allevata

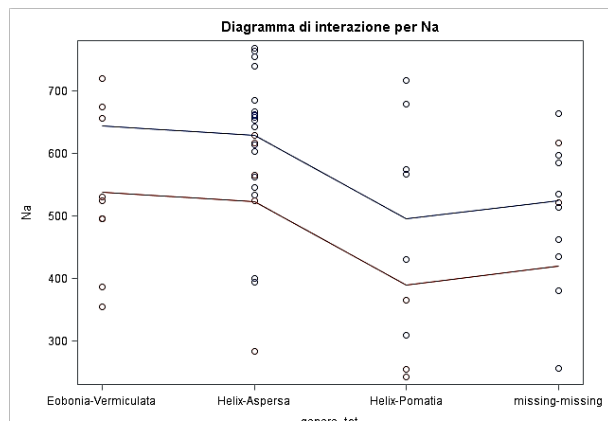


Figura 13.51 Sodio: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)
 — raccolto — allevata

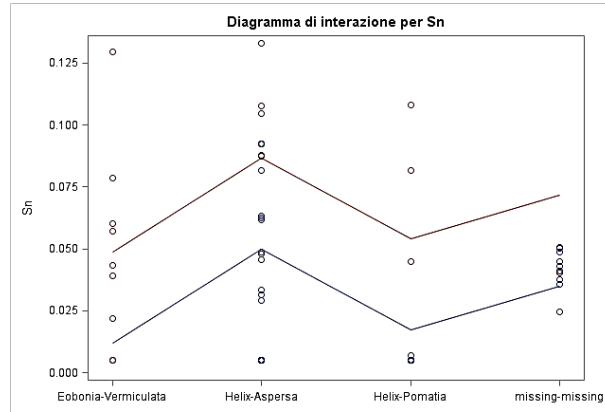


Figura 13.52 Stagno: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)
 — raccolta — allevata

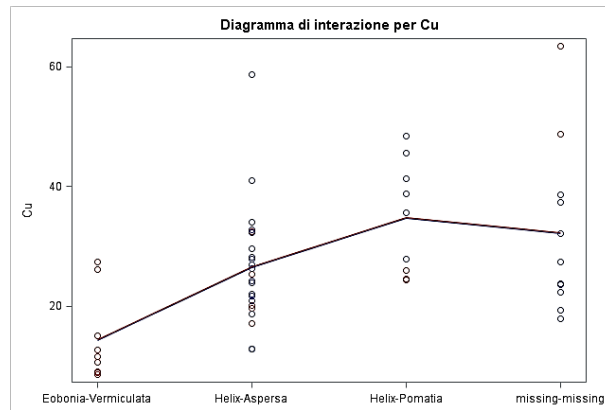


Figura 13.53 Rame: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)
 — raccolta — allevata

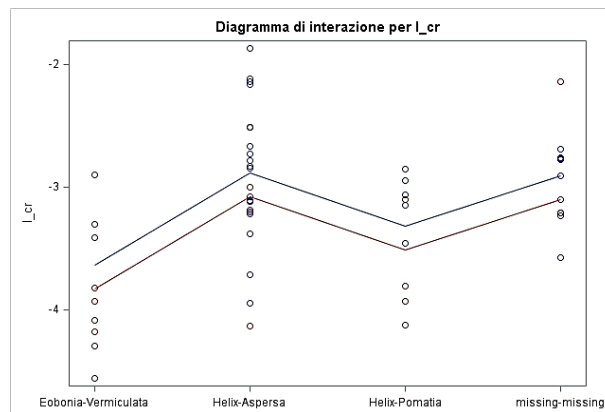


Figura 13.54 Cromo: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)
 — raccolta — allevata

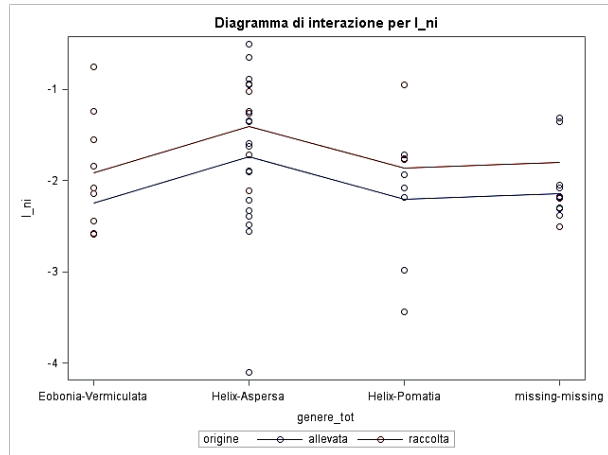


Figura 13.55 Nichel: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)
 — raccolta — allevata

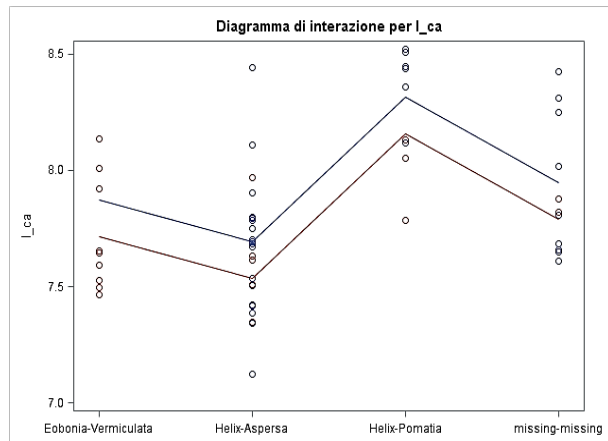


Figura 13.56 Calcio: di interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)
 — raccolta — allevata

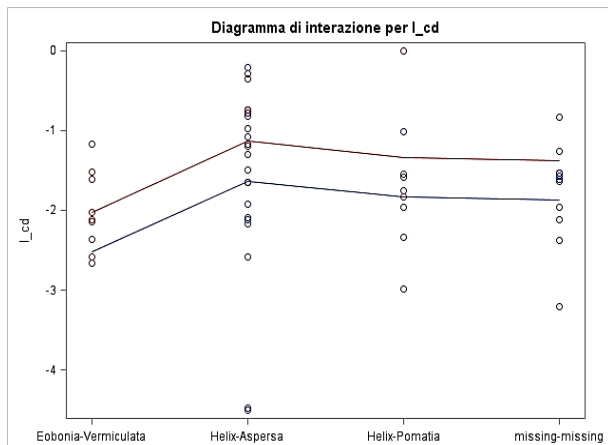


Figura 13.57 Cadmio: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)
 — raccolta — allevata

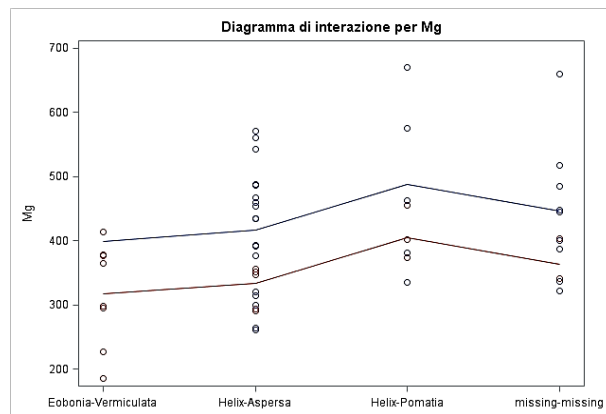


Figura 13.58 Magnesio: interazione secondo diversa origine e secondo diversa specie (mg/kg)
 — raccolta — allevata

14 DISCUSSIONE DEI RISULTATI

14.1 Confronto con i limiti di legge attuali

Le chioccioline non sono inserite nel Regolamento CE 1831/2003, pertanto per avere un riferimento normativo con il quale confrontare i risultati ottenuti, verranno considerati i limiti massimi ammessi per i prodotti freschi, sia per le carni di bovino, ovino, suino e pollame, sia per i molluschi bivalvi, dato che le caratteristiche dei gasteropodi sono intermedie a quelle di queste ultime due classi di alimenti.

Un'alta percentuale di campioni sul mercurio è risultata al di sotto del limite di quantificazione (Tabella 13.1), per questo motivo non è stato possibile elaborare i valori ottenuti per l'elemento. Non esistono in letteratura dati riguardanti le concentrazioni di mercurio nelle chioccioline ad uso alimentare, perciò risulta molto difficile, senza la possibilità di un confronto appropriato, far luce sulla reale presenza di questo metallo nelle popolazioni di lumache.

Se però si considera il TWI per il mercurio inorganico, pari a 4 µg/kg e si assume come concentrazione media di mercurio nelle chioccioline il valore di 0,010 mg/kg, pari al limite di quantificazione, risulta necessario il consumo di 24 chili di chioccioline per superare la soglia imposta dall'EFSA. Tenendo presente che le concentrazioni ottenute dai campioni sono inferiori a 0,010 mg/kg, è possibile escludere le chioccioline come fonte di pericolo per la salute umana, almeno per quanto riguarda il mercurio.

Il criterio per il piombo è stato fissato a 1,5 mg/kg per i molluschi bivalvi e a 0,10 mg/kg di prodotto per le carni. Tutte le medie delle popolazioni di chioccioline studiate (Tabella 13.3) sono inferiori a quest'ultimo valore.

Per il cadmio è previsto un limite massimo per la carne pari a 0,050 mg/kg e di 1 mg/kg per i molluschi bivalvi. Se considerassimo il primo valore, tutti i gruppi di lumache analizzate avrebbero un grado di contaminazione superiore ai limiti di legge (Tabella 13.3).

Lo stagno viene preso in considerazione dal sopraccitato Regolamento solo per quanto riguarda gli alimenti conservati in contenitori a banda stagnata, con un limite pari a 200 mg/kg, in quanto il recipiente potrebbe rilasciare tracce del metallo nel contenuto. Circa l'85% delle chioccioline in conserva presenti sul mercato sono prodotte in Italia (*Avagnina, 2011*), tutte le specie analizzate in questo studio presentano medie di molto inferiori rispetto ai valori fissati dalla legge (Tabella 13.3).

Non esistono ancora normative riguardanti i tenori massimi ammessi dei restanti metalli considerati in questo studio.

14.2 Discussione dei risultati ottenuti dal confronto tra specie diverse di chioccioline

In Figura 13.1 sono riportate le concentrazioni medie di ogni popolazione per il cadmio: dai risultati appare che *Helix aspersa*, in media, contiene quantitativi più elevati per questo elemento (0,32 mg/kg), *Eobania vermiculata* i valori inferiori (0,15 mg/kg) (Tabella 13.3). I dati ottenuti sono in linea con i valori degli studi precedenti sul cadmio (Tabella 10.3).

H. aspersa risulta possedere in media livelli più alti anche per l'arsenico (0,09 mg/kg). In questo caso le concentrazioni inferiori sono presenti *Helix pomatia* (0,05 mg/kg) (Figura 13.3; Tabella 13.3). E' importante far notare che su nove campioni di *H. aspersa* provenienti dall'Italia, sette sono emersi essere inferiori ai limiti di rilevabilità (Tabelle 12.1-13.1).

Helix aspersa presenta in media le concentrazioni maggiori di cromo e ferro, rispettivamente di 0,06 mg/kg e 26,20 mg/kg (Tabella 13.3; Figure 13.4-13.5); *Eobania vermiculata* le minori (Figure 13.4-13.5).

Per le prove sul nichel *Helix pomatia* si è dimostrata essere la specie con minor presenza dell'elemento al suo interno (0,15 mg/kg), mentre i valori più elevati sono comparsi in *H. aspersa* (0,24 mg/kg) (Figura 13.6; Tabella 13.3).

Per il sodio sono state evidenziate concentrazioni maggiori in *H. aspersa*, con valori pari a 605,65 mg/kg (Tabella 13.3; Figura 13.7) per il calcio in *H. pomatia* con 3979,96 mg/kg (Tabella 13.3; Figura 13.8). I dati ottenuti sono simili ai risultati riportati da altri autori (Tabella 5.6).

Il magnesio determinato in *Helix pomatia* è apparso essere in quantità maggiori rispetto ad altre specie, con valori di 456,94 mg/kg, i livelli minori sono stati individuati in *Eobania vermiculata*, con 317,27 mg/kg (Tabella 13.3; Figura 13.9).

Per lo stagno i livelli più elevati, pari a 0,06 mg/kg, sono emersi dalle prove su *Helix aspersa* (Tabella 13.3; Figura 13.10), le quantità più esigue, pari a 0,03 mg/kg sono risultate da *Helix pomatia* (Tabella 13.3; Figura 13.10).

Lo zinco rilevato in *Helix aspersa* (14,24 mg/kg) è presente in dose maggiore rispetto alle altre specie (Tabella 13.3; Figura 13.11).

Il rame si trova in tutte le popolazioni analizzate in quantità alte, raggiungendo la media più elevata in *Helix pomatia*, con un valore pari a 34,69 mg/kg (Tabella 13.13, Figura 13.12).

14.3 Discussione dei risultati ottenuti dal confronto tra chioccioline di origine diversa

Per *Helix aspersa* ed *Helix pomatia* sono stati fatti dei confronti tra le popolazioni raccolte in natura e le popolazioni provenienti da allevamento.

Per la prima specie è risultato che il cadmio, l'arsenico, il nichel e lo stagno sono più concentrati negli esemplari di cattura rispetto a quelli allevati (Figure 13.13-13.15-13.18-13.22; Tabella 13.4). Macro-elementi come sodio, calcio e magnesio sono apparsi in quantità maggiore nei soggetti allevati, probabilmente perché questi ultimi ricevono un supplemento di minerali con la dieta (Tabella 13.3; Figure 13.19-13.20-13.21). Nelle chioccioline tenute in allevamento anche cromo, zinco e rame sono risultati a livelli più alti rispetto al gruppo allo stato selvatico (Figure 13.16-13.23. -13.24; Tabella 13.4).

Il piombo è presente solo nel gruppo di allevamento, nelle chioccioline raccolte in natura è stato individuato al limite della soglia di quantificazione della metodica (Figura 13.14; Tabella 13.4).

Gli esemplari di *Helix pomatia* raccolti in natura hanno mostrato concentrazioni maggiori per cadmio, piombo, nichel, stagno e zinco (Tabella 13.4; Figure 13.25-13.26-13.30-13.34-13.35). L'arsenico e lo stagno sono presenti in media rispettivamente in quantità di 0,15

mg/kg e 0,08 mg/kg in *H. pomatia* raccolte, mentre risultano al di sotto dei limiti di quantificazione per i soggetti allevati (Tabella 13.4; Figure 13.27-13.34).

Calcio e sodio si trovano in quantità maggiore in questi ultimi esemplari, la causa si può ricondurre anche in questo caso ad un'integrazione alimentare (Tabella 13.4; Figure 13.32-13.31). Cromo, ferro e rame sono presenti in concentrazioni più elevate nelle chioccioline d'allevamento (Tabella 13.3; Figure 13.28-13.29-23.36).

Da questi paragoni è possibile notare che per alcuni contaminanti, quale il piombo, le situazioni si mostrano diametralmente opposte: nel caso di *H. aspersa* l'elemento è più concentrato nelle chioccioline allevate e si trova al limite di rilevabilità nelle raccolte, per *H. pomatia* i risultati sono antitetici. Studi futuri potranno forse rivelare se questa diversità dipenda da diversi stati di inquinamento dei siti di prelievo, o da capacità diverse delle due specie di lumache nell'accumulo del piombo.

Anche lo zinco mostra condizioni opposte nelle due specie, ma le differenze sono molto meno eclatanti rispetto al piombo.

Per quanto riguarda cadmio, arsenico, nichel e stagno, lo scarto tra le due popolazioni d'origine è risultato molto più ampio per *H. pomatia*, rispetto a quello rilevato in *H. aspersa*. Non dispongo di dati sufficienti per dimostrare la causa di questo fenomeno.

14.4 Discussione dei risultati ottenuti dal confronto di *H. Aspersa* provenienti da varie aree geografiche

Dai confronti sviluppati su *H. aspersa* sono emerse delle differenze riguardo allo stato di contaminazione dei diversi Paesi.

Tutte e tre le aree geografiche risultano inquinate da cadmio, arsenico e stagno, i livelli più alti, rispettivamente 0,42 mg/kg, 0,14 mg/kg e 0,08 mg/kg (Tabelle 13.5-13.6-13.8) sono presenti nei campioni raccolti in siti della zona denominata 'Africa' (Figure 13.37-13.39-13.46).

Le *H. aspersa* provenienti dall'area del 'sud Europa' mostrano le concentrazioni più elevate di piombo (0,10 mg/kg) (Tabella 13.5; Figura 13.38).

Cromo, nichel, sodio, magnesio e zinco presentano valori più elevati nelle chioccioline campionate nella zona 'est Europa' (Tabelle 13.6-13.7-13.8; Figure 13.40-13.42-13.43-13.45-13.47).

Dalle analisi sul ferro, calcio e rame emergono livelli molto simili tra le tre aree geografiche.

14.5 Discussione sui risultati dei test Anova, Kruskal-Wallis e Mann-Whitney

Dai risultati è emerso che per i valori di arsenico, cromo, rame e calcio sono presenti differenze statisticamente significative. Per i primi due elementi è *H. aspersa* a detenere la concentrazione più elevata (Tabella 13.9), in *Helix pomatia* sono presenti invece i livelli più elevati di rame e calcio (Tabella 13.9).

Se si considera la Tabella 13.10 si nota che arsenico, stagno, sodio e magnesio presentano differenze significative tra la popolazione raccolta e quella allevata. Sodio e magnesio sono

presenti in concentrazioni significativamente maggiori nelle chioccioline allevate, mentre i due elementi restanti si trovano maggiormente nei soggetti raccolti allo stato libero.

Dal test di *Mann-Whitney* è emerso che per lo zinco esistono differenze significative tra la popolazione raccolta e quella allevata, con maggior concentrazione dell'elemento in quest'ultima categoria. Anche per lo zinco le quantità presenti sono molto diverse, con valori al di sotto del limite di rilevabilità per la popolazione raccolta (Tabella 13.11).

Dal test di *Kruskal-Wallis* non sono emerse differenze significative (Tabella 13.12).

Osservando le Figure dalla numero 13.49 alla 13.58, nelle quali sono rappresentate le interazioni tra le variabili analizzate, è possibile, in duplice chiave, leggere la distribuzione di ogni elemento, considerando sia la specie della chiocciolina, sia l'origine del campione (allevamento o natura).

Dalla Figura 13.53 si può notare come un elemento essenziale per la chiocciolina quale il rame, presenti una sovrapposizione dei valori tra popolazione allevata e di cattura in tutte le specie considerate, indice che nell'organismo esistono dei meccanismi di regolazione simili per vari gasteropodi terrestri. Analogamente differenze significative non sono state trovate per elementi come magnesio, calcio, sodio e ferro tra le varie specie, in quanto sono elementi necessari alla fisiologia della chiocciolina.

Nelle specie considerate non sono state trovate differenze significative per stagno, nichel e cadmio. Se per il cadmio è nota la predisposizione all'accumulo da parte delle chioccioline (*Barker, 2001*), nulla si conosce sull'affinità di quest'ultime verso lo stagno e il nichel, ma può essere ipotizzata una via comune di ingresso o metabolizzazione. Per rispondere a questi risultati servono in futuro studi più mirati.

15 CONCLUSIONI

Lo stato di contaminazione da metalli pesanti nelle chioccioline meritava un approfondimento, poiché gli studi precedenti avevano indagato solamente gli elementi più noti, quali cadmio e piombo e poche ricerche avevano preso in considerazione specie edibili presenti sul mercato occidentale. Se si confrontano i limiti massimi settimanali stabiliti per alcuni metalli, le concentrazioni medie individuate da questo studio e le stime di consumo *pro-capite* di lumache in Italia, è possibile ipotizzare che le chioccioline non rappresentino un rischio per la salute umana.

Avagnina, (2011) riporta un consumo *pro-capite* annuo di chioccioline pari a 180 g, una quantità molto limitata, anche se in costante crescita.

Secondo i valori riportati nei capitoli 10.1-10.10-10.12-10.13, per superare la soglia settimanale ammessa per i metalli considerati ‘minori’, quali arsenico, stagno, zinco e rame, sarebbe necessario ingerire una quantità molto elevata di chioccioline, superiore a un chilo, una quota non raggiungibile secondo i consumi attuali.

Ciò non toglie che dovrebbero essere valutati dei metodi in futuro, a tutela del consumatore, per diminuire i livelli di contaminazione.

Se si valuta la concentrazione media di cadmio nei campioni, pari a 0,26 mg/kg, con una TWI di 2,5 µg/kg, facendo una stima per un uomo del peso di 60 kg risultano necessari 0,6 kg circa di chioccioline per oltrepassare la dose soglia. Quest’ultimo elemento potrebbe rappresentare un rischio concreto nel caso in cui le lumache divenissero la fonte principale di carne, come potrebbe accadere in una ‘moda alimentare’ o in alcuni Paesi come l’Africa. Tuttavia il genere *Helix*, analizzato in questo studio, non trova commercio nel continente africano, dove è invece molto diffuso il genere *Achatinidae*, per il quale sono necessari ulteriori studi.

Per gli altri elementi non sono ancora stati emessi dei limiti di tollerabilità e non è stato perciò possibile esprimere un parere a riguardo.

Gli studi fino ad ora si sono focalizzati sulle vie di assunzione dei metalli nelle chioccioline, a seguito di questo studio è stato dimostrato che questi animali contengono una grande varietà di elementi al loro interno, anche solo in tracce come nel caso del mercurio. Le ricerche future dovranno mettere in luce le fonti di inquinamento in allevamento, dato che è sulle sorgenti dei contaminanti che l’allevatore può agire, non sulla chiocciolina stessa, considerando non solo l’alimento che le viene fornito, ma tutte le tipologie di fattori con cui la lumaca viene a contatto, come l’acqua e il terreno. Lo sviluppo di una normativa specifica sarebbe di grande aiuto alla realizzazione di una metodologia di lavoro adeguata, non solo per il possessore dell’impianto, ma anche per gli operatori del servizio sanitario, con totale beneficio per il consumatore.

A seguito della comparsa sul mercato mondiale di nuovi Paesi produttori, come la Romania, la Bulgaria, la Polonia ecc., la presenza di chioccioline provenienti dall’Europa dell’est è aumentata di molto sul mercato europeo, soprattutto grazie al prezzo più basso del prodotto estero rispetto al nostrano. In futuro potrebbe quindi risultare importante condurre una ricerca per determinare le concentrazioni di alcuni isotopi radioattivi nelle chioccioline alimentari, per inquadrare la reale situazione di contaminazione dopo il ‘disastro di Cernobyl’ ed escludere ulteriori fonti di pericolo per la salute umana.

Ringraziamenti

Un sentito ringraziamento al professor Valerio Giaccone, per avermi permesso di lavorare su di un argomento così stimolante e originale e per avermi supportato con i suoi consigli sempre mirati e puntuali.

Ringrazio la mia correlatrice, la dottoressa Elisa Bissacco, per avermi dato l'opportunità di vivere un'esperienza pratica in laboratorio e per le sue osservazioni utili e costruttive.

Ringrazio il personale del laboratorio Eptanord, in particolare Giovanna, Serena, Silvia, Alice e Davide, per essersi mostrati sempre disponibili nel superamento di ogni dubbio e difficoltà.

Ringrazio la mia famiglia, per essermi stati sempre vicini, con costante impegno e pazienza, in questi anni di studio.

Un grazie al dottor Avagnina, per aver fornito le chioccioline utili alla realizzazione di questo esperimento.

Un grazie a chi amo.

BIBLIOGRAFIA

- Abiona, J. A.; Akinduti, A.; Osinowo, O.A.; and Onagbesan, O. M. (2013). Comparative evaluation of inhibitory activity of epiphgram from albino and normal skinned giant african land snail (*Archachatina marginata*) against selected bacteria isolates. *Ethiopian journal of environmental studies and management* pp. 177-181.
- Adebayo-Tayo, B. C.; Onilude, A.A. and Etuk, F.I. (2011). Studies on microbiological, proximate mineral and heavy metal composition of freshwater snails from Niger delta creek in Nigeria. *AU Journal of Technology* pp. 290-298.
- Ademolu, K. O.; Idowu, A.B.; Mafiana, C.F.; and Osinowo O.A.. (2004). Performance, proximate and mineral analyses of african giant land snail (*Archachatina marginata*) fed different nitrogen sources. *African Journal of Biotechnology* pp. 412-417 .
- Allah, A. T.; Wanas, M.Q.A.; and Thompson, S.N. (2003). Dissolved heavy metals, lead, cadmium and mercury, accumulate in the body of the schistosome vector, *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Pulmonata). *Journal of Molluscan Studies* pp. 35-41.
- Avagnina, G. (2013). *Elicicoltura, Giornale Di Elicicoltura*, I numero, febbraio.
- Avagnina, G. (2011). *Elicicoltura*. Edizioni istituto internazionale di elicicoltura di Cherasco.
- Avagnina, G. (1983). *Principi di elicicoltura*. Edagricole.
- Babalola, O. O.; and Akinsoyinu, A.O. (2009). Proximate composition and mineral profile of snail meat from different breeds of land snail in Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition* pp. 1842-1844.
- Bargagli, R. (1998). Trace elements in terrestrial plants: an ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. *Chemical elements and plants life* pp. 1-21.
- Barker, G. M. (2001). *The biology of terrestrial Molluscs* cap 2-8, cap 14. CABI publishing.
- Bonnemain, B. (2005). *Helix* and drugs: Snails for western health care from antiquity to the present. *The Journal and Oxford University Press* pp. 25-28.
- Boshoff, M.; Jordaens, K.; Backeljau, T.; Lettens, S.; Tack, P.; Vandecasteele, B.; De Jonge, M.; and Bervoets, L.(2013). Organ- and species-specific accumulation of metals in two land snail species (Gastropoda, Pulmonata). *Science of the Total Environment* pp. 470-481.
- Brieva, A.; Philips, N.; Tejedor, R.; Guerrero, A.; Pivel, J.P.; Alonso-Lebrero, J.S.; and Gonzalez, S. (2008). Molecular basis for the regenerative properties of a secretion of the mollusk *Cryptomphalus aspersa*. *Skin Pharmacology and Physiology* pp. 15-22.
- Çağiltay, F.; Erkan, N.; Tosun, D.; Selçuk, A. (2011). Amino acid, fatty acid, vitamin and mineral contents of the edible garden snail (*Helix aspersa*). *Journal of Fisheries Sciences* pp. 354-363.
- Caplan, M. E.; Mateescu, L.A.; Holban, A.M. (2012) Virulence features of *L. monocytogenes* strains isolated from meat products pp. 270-278.
- Coerezza, U.; Fontana, M; Fossati, P.; Ruffo, G.; Vitali, E. (2011). Proposta di Regolamento Europeo per l'elicicoltura. *Rassegna Di Diritto e Legislazione e Medicina Legale Veterinaria*.

- Coeurdassier M.; Gomot-de Vaufleury A.; Lovy, C.; Badot, P. (2002). Is the cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails? *Ecotoxicology and Environmental Safety* pp.425-431.
- Coeurdassier, M.; Gomot-de Vaufleury, A.; Badot, P.M. (2000). Dose-dependent growth inhibition and bioaccumulation of hexavalent chromium in land snail *Helix aspersa*. *Environmental Toxicology and Chemistry* pp. 2571-2578.
- Coeurdassier, M.; Scheifler, R.; Mench, M.; Crini, N.; Vangronsveld, J.; De Vaufleury, A. (2010). Arsenic transfer and impacts on snails exposed to stabilized and untreated as-contaminated soils. *Environmental Pollution* pp.2078-2083.
- De Vaufleury, A.; Coeurdassier, M.; Pandard, P.;Scheifler, R.; Lovy, C.; Crini, N.; Badot, P.M. (2006). How terrestrial snails can be used in risk assessment of soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* pp.797-806.
- Ebenso, I.; Ekwere, A.; Akpan,B.; Okon, B.; Inyang, U.; Ebenso, G. (2012). Occurrence of *Salmonella*, *Vibro* and *E. coli* in edible land snail in Niger delta, Nigeria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* pp. 610-618.
- Ebenso, I. E.; Ologhobo, A.D. (2007). Effects of lead pollution at industrial contaminated sites on sentinel juvenile *Achatina achatina*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* pp. 106-110.
- Engmann, F. N.; Afoakwah, N.A.; Darko, P.O.; Sefah, W. (2013). Proximate and mineral composition of snail (*Achatina achatina*) meat; any nutritional justification for acclaimed health benefits? *Journal of Basic and Applied Scientific Research* pp 8-15.
- Eybe, T.; Audinot, J.N.; Udelhoven, T.; Lentzen, E.; El Adib, B.; Ziebel, J.; Hoffmann, L.; Bohn, T. (2013). Determination of oral uptake and biodistribution of platinum and chromium by the garden snail (*Helix aspersa*) employing nano-secondary ion mass-spectrometry. *Chemosphere* pp 1829-1838.
- Fagbuaro, O.; Oso, J.A.; Edward, J.B.; Ogunleye, R.F. (2006). Nutritional status of four species of giant land snails in Nigeria. *Journal of Zhejiang University* pp. 686-689.
- Fisman, D.; Laupland, K. (2010). Guess who's coming to dinner? emerging foodborne zoonoses. *Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology* pp 8-10.
- Gallo, G. *Allevamento della chiocciola*. Guide pratiche Edagricole.
- Giaccone, V.; Catellani, P.; Alberghini, L. (2012). Food as cause of human salmonellosis. *A Dangerous Foodborne Pathogen* pp. 47-70.
- Gimbert, F.; De Vaufleury, A.; Douayb, F.; Coeurdassier, M.; Scheifler, R.; Badot, P.M. (2008). Long-term responses of snails exposed to cadmium-contaminated soils in a partial life-cycle experiment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* pp. 138-146.
- Golding, L. A.; Timperley, M.H.; Evans, C.W. (1997). Non-lethal responses of the freshwater snail *Potamopyrgus antipodarum* to dissolved arsenic . *Environmental Monitoring and Assessment* pp. 239-254.
- Gomot de Vaufleury, A.; Pihan, F. (2000). Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. *Chemosphere* pp. 275-284.

- Gomot, A. (1998). Biochemical composition of helix snails: influence of genetic and physiological factors. *Journal of Molluscan Studies* pp. 173-181.
- Gomot, A. (1997). Dose-dependent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* pp. 209-216.
- Gomot-de Vaufleury, A., Kerhoas, I. (2000). Effects of cadmium on the reproductive system of the land snail *Helix aspersa*. *Bullettin of Environmental Contamination and Toxicology* pp. 434-442.
- Gomot-de Vaufleury, A.; Pihan, F. (2002). Methods for toxicity assessment of contaminated soil by oral or dermal uptake in land snails: Metal bioavailability and bioaccumulation. *Environmental Toxicology and Chemistry* pp. 820-827.
- Hamzat, R. A.; Jaiyeola, C.O.; Longe, O.G. (2002). Nutritional qualities of snails (*Archachatina marginata*) fed solely with fresh Kola testa. *Nutrition & Food Science* pp. 134-136.
- Lemaire, M.; Chase, R. (1998). Twitching and quivering of the tentacles during snail olfactory orientation. *Journal of Comparative Physiology A Journal of Comparative Physiology A* pp 81-87.
- Marchiol, L.; Fellet, G.; Perosa, D.; Zaccheo, P.; Zerbi, G. (2008). Utilizzo di piante agrarie nel fitorisanamento di suoli contaminati da metalli pesanti e metalloidi: (II) primi risultati della sperimentazione in situ di Torviscosa (Udine). *Italian Journal of Agronomy* pp. 15-29.
- Maule, A. (2000). Survival of verocytotoxigenic *Escherichia coli* 0157 in soil, water and on surfaces. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement* pp. 71-78.
- Menta, C.; Parisi, V. (2001). Metal concentrations in *Helix pomatia*, *Helix aspersa* and *Arion rufus*: A comparative study. *Environmental Pollution* pp. 205-208.
- Novelli, E.; Giaccone, V.; Balzan, S.; Ghidini, S.; Bracchi, P.G. (2002). Indagine sul valore dietetico-nutrizionale della lumaca. confronto fra specie e fra soggetti raccolti in natura ed allevati. *Annali della facoltà di medicina veterinaria di Parma* pp. 49-56.
- Obi, S. K. C.; Nzeako, B.C. (1980). *Salmonella*, *Arizona*, *Shigella* and *Aeromonas* isolated from the snail *Achatina achatina* in Nigeria.
- Ozogul, Y.; Ozogul, F.; Olgunoglu, A.I. (2005). Fatty acid profile and mineral content of the wild snail (*Helix pomatia*) from the region of the south of the Turkey. *European Food Research and Technology*. pp. 547-549.
- Paoletti, M. G. (2005). Elmslie, L. per *Ecological implications of minilivestock: Potential of insects, rodents, frogs and snails* cap 6.
- Paoletti, M. G. (2005). Giaccone, V. per *Ecological implications of minilivestock: Potential of insects, rodents, frogs and snails* cap 29.
- Pignolo, G. (2010). *Studio su gasteropodi terrestri come potenziali bioaccumulatori per metalli pesanti ed idrocarburi policiclici aromatici nella provincia di Trieste*.

- Radwan, M. A.; Essawy, A.E.; Abdelmeguid, N.E.; Hamed, S.S.; Ahmed, A.E. (2008). Biochemical and histochemical studies on the digestive gland of *Eobania vermiculata* snails treated with carbamate pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* pp. 154-167.
- Sawasdee, B.; Köhler, H.; Triebkorn, R. (2011). Histopathological effects of copper and lithium in the ramshorn snail, *Marisa cornuarietis* (gastropoda, prosobranchia). *Chemosphere* pp. 1033-1039.
- Scheifler, R.; Brahim, M.B.; Gomot-de Vaufleury, A.; Carnus, J.M.; Badot, P.M. (2003). A field method using microcosms to evaluate transfer of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn from sewage sludge amended forest soils to *Helix aspersa* snails. *Environmental Pollution* pp. 343-350.
- Song, X.; Hu, X.; Ji, P.; Li, P.; Chi, G.; Song, Y. (2012). Phytoremediation of cadmium-contaminated farmland soil by the hyperaccumulator *Beta vulgaris* L. var. cicla. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* pp. 623-626.
- Spellberg, B.; Guidos, R.; Gilbert, D.; Bradley, J.; Boucher, H.W.; Scheld, W.M.; Bartlett, J.G.; Edwards, J. (2008). The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the infectious diseases society of America. *Clinical Infectious Diseases* pp.155-164.
- Storelli, M. M.; Marcotrigiano, G.O. (2001). Heavy metals (Hg, Pb, Cd and Cr) in edible snails. *Italian Journal of Food Science* pp. 399-404.
- Tedde, T.; Virgilio, S.; Chessa, G.; Fiori, G.; Terrosu, G.; Rosa, M.N.; Pinna, C.; Piras, G. (2009). Rilievi microbiologici e chimici in gasteropodi terrestri commercializzati nella regione Sardegna. *Associazione Italiana Veterinari Igienisti* pp. 23-27.
- Temelli, S.; Dokuzlu, C.; Kurtulus Cem, M. (2006). Determination of microbiological contamination sources during frozen snail meat processing stages. *Food Control* pp 22-29.
- Turci, R.; Sturchio, E.; Businaro, J.; Casorri, L.; Imbriani, M.; Minoia, C. (2011). Interferenti endocrini: Clorpirifos e clorpirifos-metile. *Giornale Italiano Di Medicina Del Lavoro Ed Ergonomia* pp. 149-184.
- Udoh, A. P.; Akpanyung, E.O.; Igiran, I.E. (1994). Nutrients and anti-nutrients in small snails (*Limicolaria aurora*). *Food Chemistry* pp 239-241.
- Zarai, Z.; Balti, R.; Mejdoub, H.; Gargouri, Y.; Sayari, A. (2012). Process for extracting gelatin from marine snail (*Hexaplex trunculus*): chemical composition and functional properties. *Process Biochemistry*.
- Zheng, R. L.; Li, H.F.; Jiang, R.F.; Zhang, F.S. (2008). Cadmium accumulation in the edible parts of different cultivars of Radish, *Raphanus sativus* L., and carrot, *Daucus carota* var. *sativa*, grown in a Cd-contaminated soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* pp. 75-79.

SITIGRAFIA

http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/index_en.html

<http://www.efsa.europa.eu/it/>

<http://eur-lex.europa.eu/it/index.htm>

<http://www.fao.org/home/en/>

<http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/en/>

<http://www.inran.it/>

<http://www.iom.edu/About-IOM/Leadership-Staff/Boards/Food-and-Nutrition-Board.aspx>

<http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd23/3/mali23060.htm>

<http://www.who.int/en/>

Ultima consultazione della sitigrafia: *Maggio 2013*