

PROGRAMMA DI SVILUPPO RURALE 2014-2020
Misura 16 Innovazione e Cooperazione
Operazione 16.1.1 Costituzione, Gestione, Operatività
dei Gruppi Operativi del Pei-Agri

PROGETTO SALUMI LIBERI

PROGETTO PER LA RIDUZIONE DEI NITRATI/NITRITI
NEI PRODOTTI DI SALUMERIA E NEL PROSCIUTTO COTTO



FEASR - Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale
l'Europa investe nelle zone rurali



SALUMI LIBERI

La riduzione dei conservanti nei prodotti di salumeria

Relazione sintetica

L'Italia si caratterizza per la sua capacità di trasformare e valorizzare le materie prime in prodotti agro- alimentari di eccellenza e anche nel campo delle carni trasformate i prodotti ottenuti presentano un profilo organolettico di alta gamma.

Ogni regione italiana inoltre declina le abilità nel campo della norcineria in una quantità eccezionale di prodotti, basta pensare che, oltre ai prodotti che vantano un marchio riconosciuto dall'UE, sul nostro territorio sono presenti migliaia di prodotti agroalimentari tradizionali, che valorizzano tutti i tipi di carne attraverso la trasformazione.

Le nostre eccellenze agroalimentari non solo raccontano la storia del territorio, ma anche quella di persone che sanno essere custodi di un patrimonio di conoscenze tecnologiche spesso tramandate di generazione in generazione.

Sempre più spesso infatti i percorsi gastronomici nel nostro Paese s'intrecciano con percorsi turistici e l'offerta di prodotti sicuri sotto il profilo igienico sanitario, nutrizionale e con peculiarità organolettiche di eccellenza risulta di vantaggio ad entrambi i comparti.

Di seguito vengono illustrati i risultati del progetto **“Salumi liberi”** finanziato dalla Regione Piemonte nel contesto del Bando 2018 - PSR 2014 - 2020 - Sostegno alla gestione dei GO e attuazione dei progetti (16.1.1, Azione 2) - AGRICOLTURA E AREE RURALI.

L'obiettivo del progetto è stato quello di valutare la possibilità di giungere ad una limitazione controllata dell'utilizzo di nitriti e nitrati nei prodotti di salumeria, nel rispetto dei criteri di igiene e di sicurezza alimentare per salvaguardare la salute del consumatore.

Tra i prodotti di salumeria l'attenzione è stata posta su due prodotti che rappresentano la tradizione salumiera italiana: il salame crudo e il prosciutto cotto. Il salame crudo rappresenta la categoria di prodotti a base di carne tritata, insaccata e fermentata.

Il prosciutto cotto rappresenta invece la categoria di prodotti derivati da taglio intero, cotti, dopo un trattamento con salamoia contenente tra gli altri ingredienti anche i nitriti. Il prosciutto cotto inoltre è un prodotto molto diffuso, apprezzato dal consumatore, spesso presente nell'alimentazione infantile, somministrato nell'alimentazione di persone ospedalizzate.

Il progetto ha come capofila **AgenForm** e coinvolge partners importanti: per la parte scientifica le Università **DISAFA** (Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari di Torino) e **UPO** (Università del Piemonte Orientale); per la parte tecnica **IZS** (Istituto Zooprofilattico di Torino) e **LABCHIM** (Laboratorio Chimico Camera Commercio di Torino), per la parte sperimentale il salumificio stesso di **AgenForm**, per l'applicazione quattro aziende del territorio (**La Granda** e le aziende agricole **Cascina Muretteisa**, **Casa Costa** e **La Rosa Bianca**) e la **Scuola Malva Arnaldi** e prevede un coinvolgimento dell'**Asl CN 1** come supervisore del progetto stesso. L'avvio ai lavori è avvenuto con un'attenta ricerca bibliografica, per conoscere le attività svolte da gruppi di ricerca internazionale sul tema. Le reviews sui parametri chimico-fisici, microbiologici e ingredienti necessari a garantire la sicurezza igienico sanitaria dei prodotti di salumeria sono stati pubblicati sui siti di AgenForm, DISAFA, UPO, IZS, LABCHIM e trasmessi alla RRN.

Guidati da DISAFA, un primo approccio microbiologico ha consentito di sfruttare le diversità naturali dei salami locali fermentati spontaneamente e selezionare microrganismi positivi in grado di produrre sostanze antimicrobiche di interesse.

Numerose ricerche scientifiche hanno infatti dimostrato che il microbiota autoctono, presente in diversi prodotti tradizionali a fermentazione spontanea, oltre a migliorare le caratteristiche tecnologiche e sensoriali finali, possiede attività inibenti verso i batteri alteranti e/o patogeni.

Tramite analisi microbiologiche di quattro salami a fermentazione spontanea (senza utilizzo di colture starter commerciali) selezionati da AgenForm si è proceduto all'isolamento e successiva identificazione e caratterizzazione di ceppi di batteri lattici autoctoni con capacità bioprotettive. La metodica scelta per poter effettuare lo screening di un elevato numero di colonie contemporaneamente è stata la tecnica del replica plates.

Tutte le colonie (trentadue colonie totali) che hanno evidenziato un potenziale effetto inibitore nella crescita dei microorganismi patogeni target (*Salmonella enterica*, *Staphilococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Clostridium sporigenus*) sono state isolate ed identificate.

L'attività antimicrobica è stata poi successivamente confermata tramite la tecnica agar well diffusion. I ceppi per i quali è stato confermato il potenziale antimicrobico sono stati analizzati nel dettaglio per poter verificare che la natura di tale meccanismo di antagonismo fosse proteica (tramite neutralizzazione del pH ed impiego di enzimi) e quindi attribuibile alla produzione di batteriocine attive nei confronti di almeno uno dei patogeni alimentari target.

Tramite le analisi effettuata in vitro, il ceppo che ha mostrato la più interessante azione antagonista nei confronti dei cinque microorganismi target è stato: *Latilactobacillus curvatus 2C*. Esso ha infatti mostrato in vitro una spiccata attività inibitoria nei confronti di *L. monocytogenes* e meno marcata, ma presente, nei confronti di *C. sporigenes*.

Il suo impiego nei successivi challenge test è stato previsto in

combinazione con un ceppo di *Staphilococcus xylosus* (appartenente alla collezione TUC dell'università degli studi di Torino) in modo da garantire allo stesso tempo sia l'effetto bioprotettivo che una corretta fermentazione del prodotto. AgenForm ha testato con produzioni sperimentali i ceppi selezionati e proposti da DISAFA (Prova2 e Prova3) confrontandole con produzioni che utilizzano ceppi di fermenti commerciali (Prova1A).

AgenForm inoltre ha prodotto salami con gli starters commerciali anche utilizzando il dosaggio di conservante ammesso dal regolamento del Biologico (Prova1B). Nel salumificio sperimentale sono state condotte parallelamente 4 prove descritte nella tabella che segue.

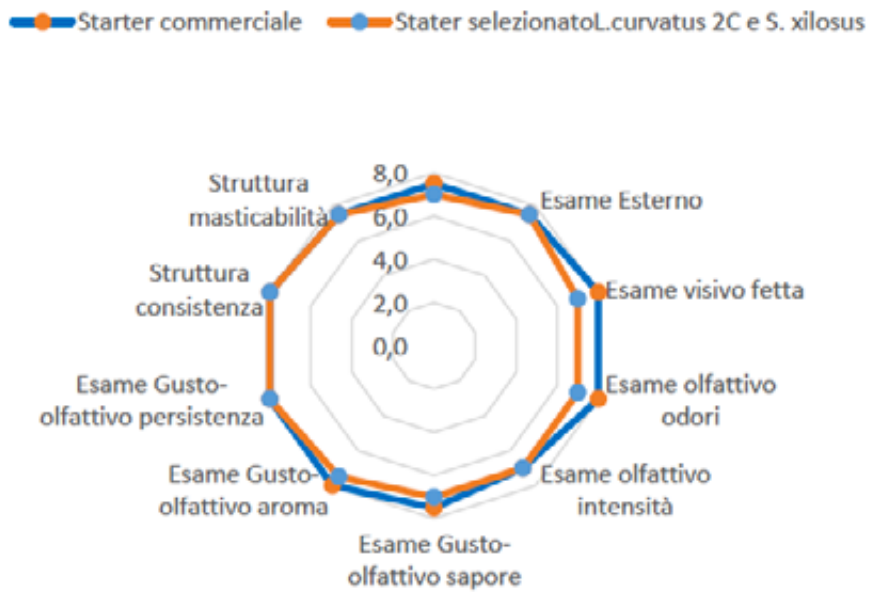
Legenda		
Prova 1A	Starter AgenForm + 150mg/kg di carne	E250 (100mg/kg) E252 (50mg/kg)
Prova 1B	Starter AgenForm + 80mg/Kg di carne	E250 (80mg/kg)
Prova 2	Starter AgenForm + L. lactis +150 mg/kg di carne	E250 (100mg/kg) E252 (50mg/kg)
Prova 3	Starter DISAFA (L. curvatus + S. xylosus)+150 mg/kg di carne	E250 (100mg/kg) E252 (50mg/kg)

È stato svolto un panel test con undici assaggiatori consumatori DISAFA (figura 2) e cinque assaggiatori esperti AgenForm (figura3) volto a confrontare il salame prodotto con lo starter selezionato con un salame prodotto con starter commerciale. I risultati hanno mostrato che l'apprezzamento complessivo dei due prodotti, da parte di potenziali consumatori, è molto simile. Anche il panel tecnico ha riconosciuto caratteristiche sovrapponibili nei due prodotti.

Figura 2: assaggiatori consumatori DISAFA



figura3: assaggiatori esperti AgenForm



L'approccio microbiologico adottato per la fermentazione del salame a basso contenuto di nitrati e nitriti si è focalizzato sulla selezione di ceppi autoctoni quindi già adattati all'ambiente nel quale devono essere impiegati. Il ceppo di interesse ha mostrato proprietà antimicrobiche ed un potenziale fermentativo idoneo al suo utilizzo per la produzione di salumi. Il principale meccanismo di antagonismo indagato è quello mediato dalle batteriocine. Le batteriocine costituiscono un gruppo diversificato di proteine antibatteriche che possono inibire la crescita e lo sviluppo di batteri indesiderati.

La S.C. Sicurezza e Qualità degli Alimenti dell'IZSPLV si è occupata di monitorare le tappe dell'approccio microbiologico e di effettuare, nell'ambito del progetto, analisi microbiologiche e di biologia molecolare a partire dai 4 campioni di salumi prodotti senza starter commerciali prodotti da 3 aziende diverse e prelevati dal partner AgenForm. Sono state effettuate prove preliminari con polpette di impasto e successivamente challenge test con salami di piccola pezzatura e stagionatura di circa 20 giorni, raccogliendo campioni a tempistiche regolari e monitorando l'andamento della carica dei microrganismi patogeni target tramite tecniche cultura dipendente.

Guidati da UPO sono stati selezionati alcuni estratti botanici, oli essenziali e molecole caratterizzati da attività antimicrobica, funzionali alla riduzione di nitriti e nitrati.

DISAFA ha condotto uno screening preliminare in vitro delle proprietà antimicrobiche degli ingredienti forniti da UPO ed ha verificato, tramite tecnica agar well diffusion, la loro potenziale azione inibente nei confronti dei microrganismi patogeni target (*Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Clostridium sporigenus*). Sono quattro gli estratti botanici (noce moscata, timo, salvia, chiodi di garofano) che hanno mostrato l'attività inibente più interessante.

L'attenzione si è focalizzata su timo e salvia. Le Università in collaborazione con IZS hanno testato gli estratti e stabilito la minima concentrazione inibente (MIC) verso i patogeni, ma non nociva verso gli starter utilizzati; la ricerca ha evidenziato nel timo l'ingrediente più performante.

Presso il salumificio di AgenForm sono state condotte prove sperimentali di produzione per verificare l'applicabilità dei nuovi ingredienti sul prodotto salame crudo.

La valutazione della MIC nei confronti dei microrganismi patogeni e del ceppo bioprotettivo selezionato è stata effettuata per decidere la quantità di utilizzo dell'estratto nei challenge test (IZS). (Fig.4)

ID	Molecole/Estratto/Olio	mg	ul DMSO	ul Acqua	SA	SE	EC	LM	CS	LI	Lc	Sx	Legenda:
1B	Noce Moscata	333	100	230	*		*	*					20 ul per prova
2B	Timo	421	100	320									No attività
3B	Salvia	582	100	480									Leggera attività
4B	Chiodi di Garofano	650	100	550									Si attività
6B	Vinaccioli	75	100	600									
7B	Riso nero	73	100	600									
2E	Polvere di Bergamotto	130	60	260	*			*					SE <i>S. enterica</i>
FALCON	Succo di Bergamotto	TQ	\	\									SA <i>S. aureus</i>
4E	Catechina	12	60	60		*		*					LM <i>L. monocytogenes</i>
5E	Acido Caffeico	43	100	330									EC <i>E. coli</i>
6E	Acido Ferulico	32	100	420									CS <i>C. sporigenus</i>
2I	Tea Tree	100	100	800		*							LI <i>L. lactics</i>
3I	Artemisia	100	100	800									Lc <i>L. curvatus</i>
4I	Salvia	100	100	800									Sx <i>S. xylosus</i>
5I	Rosmarino	100	100	800									* Betteriostatico
6I	Elicrisio	100	100	800									
	Bianco	\	100	200									

Successivamente sulla base dei risultati, si è deciso di selezionare solo l'estratto di timo al 3,2% di concentrazione e di formulare cinque ricette, partendo da una base di carne, sale, pepe e destrosio.

RICETTA 1	Carne, sale, pepe, destrosio + <u>TIMO 3,2%</u> + Nitriti 80 mg/kg + microrganismo patogeno + <i>L. curvatus</i> + <i>S. xylosus</i>
RICETTA 2	Carne, sale, pepe, destrosio + <u>TIMO 3,2%</u> + Nitriti 40 mg/kg + microrganismo patogeno + <i>L. curvatus</i> + <i>S. xylosus</i>
RICETTA 3	Carne, sale, pepe, destrosio + microrganismo patogeno + <i>L. curvatus</i> + <i>S. xylosus</i>
RICETTA 4	Carne, sale, pepe, destrosio + <i>L. curvatus</i> + <i>S. xylosus</i>
RICETTA 5	Carne, sale, pepe, destrosio + <u>TIMO 3,2%</u> + microrganismo patogeno + <i>L. curvatus</i> + <i>S. xylosus</i>

I microrganismi della flora lattica/caratterizzante selezionati per le successive fasi di ricerca sono stati *L.curvatus* e *S.xylosus* e *L.lactis*.

Nella ricetta n. 1 e n. 2 si è deciso di aggiungere oltre al timo, una dose molto bassa di Nitriti pari a 80 mg/kg, dose consentita nei prodotti a base di carne biologici (ricetta 1) e 40 mg/kg, dose inferiore a quanto concesso nel biologico (ricetta 2). Parallelamente a queste prove si è deciso di misurare l'andamento del pH all'interno del substrato carneo.

Nelle analisi eseguite è risultato che *L. monocytogenes* è rimasta stabile, mantenendo la concentrazione rilevata al tempo 0, di 10⁴ UFC/g, in tutti i tempi di analisi. *S. aureus* ha subito una diminuzione di 1 log nel corso delle 96 ore, passando da una concentrazione di 10⁵ UFC/g rilevata al tempo 0 fino a raggiungere 10⁴ UFC/g a 48 ore. *C.sporogenes* ha invece fatto rilevare un aumento esponenziale della concentrazione, passando da 10³ UFC/g al tempo 0 a 10⁸ UFC/g a 96 ore. *L. curvatus* e *S. xylosus* hanno continuato a non essere influenzati nella loro crescita, anche nei campioni di carne contenenti nitriti ed estratto di timo.

Per quanto concerne i valori di pH rilevati durante i tempi di analisi, si è registrato un abbassamento drastico dell'acidità, passando da valori compresi tra 6-5,74 al tempo 0, a 5,32-4,67 al termine delle 96 ore di incubazione previste. Questo risultato è in linea con quanto avviene nelle primissime fasi di stagionatura dei salami, durante l'asciugatura, dove i salami sono lasciati circa una settimana nelle camere condizionate d'asciugamento. In questi primissimi giorni ha luogo il processo di fermentazione lattica da parte degli starter, pertanto, si assiste ad un sensibile abbassamento del pH (valori <= 5,0).

Sulla base dei risultati ottenuti, nella fase successiva del progetto, presso il laboratorio sperimentale della S.C Sicurezza e Qualità degli alimenti sito a Madonna dell'Olmo (CN), sono stati contaminati sperimentalmente 20 salami (4 ricette con differente composizione) attraverso l'inoculo (1 mL) di concentrazioni note di microrganismi quali *Listeria monocytogenes* (10⁵), *Clostridium sporogenes* (10⁷), *Staphylococcus aureus* (10⁵).

RICETTA 1	Carne, sale, pepe, destrosio + TIMO 3,2% + Nitriti 40 mg/kg + nitriai 20 mg/kg + starter commerciali + <i>L. monocytogenes</i> + <i>C. sporogenes</i> + <i>S. aureus</i>
RICETTA 2	Carne, sale, pepe, destrosio + Nitriti 40 mg/kg + nitrati 20 mg/kg + starter DISAFA + <i>L. monocytogenes</i> + <i>C. sporogenes</i> + <i>S. aureus</i>
RICETTA 3	Carne, sale, pepe, destrosio + Nitriti 40 mg/kg + nitrati 20 mg/kg + <i>L. monocytogenes</i> + <i>C. sporogenes</i> + <i>S. aureus</i>
RICETTA 4	Carne, sale, pepe, destrosio + Nitriti 40 mg/kg + nitrati 20 mg/kg + starter DISAFA + coltura bioprotettiva DISAFA + <i>L. monocytogenes</i> + <i>C. sporogenes</i> + <i>S. aureus</i>

Altre due ricette incluse nello studio sono state preparate per valutare l'andamento della flora microbica presente all'interno della preparazione a base di carne, e le variazioni di pH e aw nei diversi timing.

RICETTA 5	Carne, sale, pepe, destrosio + Nitriti 40 mg/kg + nitrati 20 mg/kg + starter commerciali
RICETTA 6	Carne, sale, pepe, destrosio + Nitriti 40 mg/kg + nitrati 20 mg/kg + starter commerciale + coltura bioprotettiva DISAFA

Le analisi eseguite hanno messo in evidenza la capacità dei microrganismi quali *Staphylococcus aureus* e

Listeria monocytogenes di resistere, ma non di svilupparsi in presenza di concentrazioni pari al 3,2% di timo.

Le concentrazioni di *L. monocytogenes* a T21 si attestano intorno al valore di 10³ UFC/g come a T0. Per *S. aureus*, nella ricetta 1, a T0 si rileva un valore di 10⁵ UFC/g mentre a T21 una riduzione di 1 log con valore pari a 10⁴ UFC/g.

Per quanto riguarda *C. sporogenes*, la produzione degli insaccati conferma le difficoltà riscontrate da altri gruppi di lavoro nella gestione delle colture di forme vegetative o spore di *Clostridium spp* in laboratorio. L'inoculo di microrganismi anaerobi in produzioni di impianti pilota può risultare difficile per le particolari esigenze del microrganismo. I risultati ottenuti durante le prove sperimentali non hanno permesso di confermare in vivo l'efficacia degli estratti botanici ottenuta in vitro.

In sintesi possiamo concludere che l'estratto di timo è efficace, ma la principale criticità mostrata dall'estratto è la marcata alterazione a livello di colore e odore dei salami trattati. Per quanto riguarda il ceppo bioprotettivo selezionato (*L. curvatus 2C*) ha mostrato una più lieve capacità antagonista in vivo rispetto a quella mostrata in vitro. Inoltre UPO segnala che sono necessari lunghi tempi di produzione dell'estratto di timo in relazione all'evaporazione del solvente organico (etanolo) prima del passaggio di spray-drying e che sono necessarie dosi elevate in relazione alla MIC.

Date le difficoltà riscontrate, il gruppo di lavoro ha provato a ragionare sull'utilizzo di un ingrediente utile per ridurre l'acqua libera nell'impasto del salame. L'ingrediente selezionato è stato la farina di carrube, utilizzato come addensante in molte preparazioni alimentari per la capacità di legare acqua, non segnalato come allergene (naturalmente privo di glutine) e ben tollerato a livello nutrizionale.

Questa sperimentazione è stata condotta nella fase conclusiva del progetto e pertanto presso il salumificio di AgenForm sono ancora in corso alcune prove sperimentali per verificarne l'applicabilità a livello tecnologico e sensoriale. Se le prove avranno esito positivo, questo nuovo ingrediente potrà essere oggetto di maggiore studio in futuri progetti di ricerca.

PROSCIUTTO COTTO

Il primo approccio, anche nel caso del prosciutto cotto, è stato di tipo microbiologico per valutare l'impatto sulle caratteristiche igienico - sanitarie, in quanto una riduzione del nitrito nelle salamoie avrebbe potuto aumentare la vulnerabilità del prodotto e limitare la conservabilità.

La S.C. Sicurezza e Qualità degli Alimenti dell'IZSPLV si è occupata della valutazione della shelf-life dei prosciutti prodotti da AgenForm per la validazione del processo. UPO ha gestito la selezione di estratti capaci di mantenere il colore caratteristico del prosciutto ed utili per stabilizzare il prodotto sotto il profilo ossidativo. Le matrici botaniche prese in considerazione sono state: mirtilli viola e mirtilli blu, barbabietola, patata viola, carota nera. Sono stati scelti gli estratti che presentavano una miglior solubilità, nello specifico gli estratti di mirtillo e la barbabietola. Dopo una valutazione della composizione chimica (LABCHIM) e dell'applicabilità tecnologica, l'ingrediente scelto è stato l'estratto di mirtillo viola, in quanto non presentava residui di nitrati e nitriti.

L'estratto di mirtillo è stato prodotto da UPO utilizzando come solvente di estrazione l'etanolo su frutti di mirtillo viola (*Vaccinium myrtillus*). Successivamente l'estratto è stato trasformato in polvere, tramite spray-dryer, utilizzando le maltodestrine come carrier di supporto. La polvere è stata verificata ad un tenore di antociani totali prossimo al 25% e caratterizzata in alcune sue componenti (polifenoli totali, flavonoidi e dettaglio dei singoli antociani).

AgenForm ha quindi condotto una serie di prove sperimentali nel proprio salumificio didattico per valutare il dosaggio e l'impatto organolettico della nuova salina. Le attività sperimentali utili a stabilire il dosaggio dei nuovi ingredienti sono state condotte su tagli di carne provenienti dalla zona dorsale del suino (lonza). La scelta del taglio di carne per le prove preliminari è motivata dal fatto che il taglio anatomico selezionato è formato

da fasci muscolari uniformi. Questa caratteristica ha consentito di esaminare l'effetto cromatico sulla preparazione di carne siringata e cotta e di stabilire il dosaggio. L'attenzione è stata focalizzata su due salamoie preparate con due diverse concentrazioni di estratto di mirtillo (0.004% e 0.006%). Le prove sono quindi proseguite sulla coscia suina per la preparazione del prosciutto. La migrazione del nuovo ingrediente introdotto nei diversi fasci muscolari e nella componente grassa della coscia hanno dato esiti soddisfacenti sotto il profilo tecnologico.

La S.C. Sicurezza e Qualità degli Alimenti dell'IZSPLV ha monitorato le cariche batteriche dei microrganismi indicatori di igiene (Carica batterica mesofila, Anaerobi solfito riduttori, Batteri lattici, Enterobacteriaceae, lieviti e muffe) in vari punti di campionamento fino allo scadere del termine minimo di conservazione. In quest'ultima fase si è valutato il rispetto dei criteri di sicurezza dei prodotti attraverso la ricerca di microrganismi patogeni quali *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.*

Sono state eseguite analisi su lotti di prosciutti prodotti tra settembre 2022 e luglio 2023. Ogni produzione è stata sottoposta alle analisi riassunte in tabella, eseguite rispettivamente al giorno 0, giorno 7, giorno 60, giorno 120. La ricerca di batteri patogeni (*L. monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Yersinia enterocolitica*) è stata effettuata esclusivamente al tempo 120.

Parametro	Tecnica analitica	Norma di riferimento
Carica mesofila totale 30°C	Microbiologico	UNI EN ISO 4833:2013
Batteri lattici	Microbiologico	UNI EN ISO 15214:1998
Enterobacteriaceae	Microbiologico	UNI EN ISO 21528-2:2017
Anaerobi solfito-riduttori	Microbiologico	UNI EN ISO 15213-1:2023
Lieviti e muffe in alimenti	Microbiologico	UNI EN ISO 21527:2008
<i>Listeria monocytogenes</i>	Biologia molecolare	UNI EN ISO 11290-1:2017
<i>Salmonella spp.</i>	Biologia molecolare	UNI EN ISO 6579-1:2017
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Microbiologico	UNI EN ISO 10273:2017

Le ricette della prima produzione di settembre 2022 sono riassunte in tabella.

PRODUZIONE DI SETTEMBRE	
RICETTA 1	Prosciutto cotto con 0.004% di estratto di mirtillo
RICETTA 2	Prosciutto cotto con 0.006% di estratto di mirtillo

Le analisi eseguite hanno messo in evidenza, nella ricetta con 0.006% di estratto di mirtillo (R2) nei vari tempi di analisi, che le cariche batteriche indice di igiene di processo hanno avuto un rallentamento nella crescita. Per le successive prove di produzione dei prosciutti si è deciso di utilizzare l'estratto di mirtillo alla concentrazione del 0.006%.

Sono state messe a punto 4 differenti ricette con lo scopo di:

- Verificare l'efficacia dell'estratto di mirtillo nella concentrazione selezionata
- Verificare il beneficio dell'ascorbato in ricetta
- Verificare se il basso dosaggio di conservante utilizzato è sufficiente a garantire una buona conservabilità
- Verificare il confronto con ricetta standard

PRODUZIONE DI NOVEMBRE	
RICETTA 1	Prosciutto cotto con estratto di mirtillo e ascorbato
RICETTA 2	Prosciutto cotto con estratto di mirtillo, ascorbato, E250 basso dosaggio 20 mg/kg
RICETTA 3	Prosciutto cotto con estratto di mirtillo, E250 basso dosaggio 20 mg/kg NO ascorbato
RICETTA 4	Prosciutto cotto con E250 (80mg/kg), ascorbato NO estratto di mirtillo

Le analisi eseguite hanno confermato, nella ricetta R1 nei vari tempi di analisi, come le cariche batteriche indice di igiene di processo hanno avuto un rallentamento. Questo evidenzia l'efficacia dell'estratto di mirtillo non solo per le proprietà cromatiche. Allo scadere dei termini minimi di conservazione (T120) in tutte le ricette non è stata riscontrata la presenza di microrganismi patogeni.

Le ricette della terza produzione di aprile 2023 sono riassunte in tabella. Allo scadere dei termini minimi di conservazione (T120) in tutte le ricette non sono stati rilevati microrganismi patogeni

PRODUZIONE DI APRILE	
RICETTA 1	Prosciutto cotto con estratto di mirtillo 0,006% e ascorbato (20% siringatura)
RICETTA 2	Prosciutto cotto con estratto di mirtillo 0,006%, ascorbato, E250 basso dosaggio (20mg/Kg)

Con questi dati AgenForm ha avuto gli elementi per definire una scheda di processo da applicare poi in produzione. Passo successivo è stato testare la formulazione della nuova salamoia presso le aziende partner del progetto.

Le ricette produzione di luglio 2023 sono riassunte in tabella.

PRODUZIONE DI LUGLIO	
RICETTA 1	Prosciutto cotto con estratto di mirtillo 0,006%, ascorbato, E250 basso dosaggio (20mg/Kg) (20% siringatura) ANGENFORM
RICETTA 2	Prosciutto cotto con estratto di mirtillo 0,006%, ascorbato, E250 basso dosaggio (20mg/Kg) (20% siringatura) MARGARIA
RICETTA 3	Prosciutto cotto con estratto di mirtillo 0,006%, ascorbato, E250 basso dosaggio (20mg/Kg) (20% siringatura) LA GRANDA

Le ricette sono uguali tra di loro ma i prosciutti provengono da tre stabilimenti diversi. Le ultime analisi, mettendo a confronto la produzione di tre prosciuttifici diversi con stessa ricetta, hanno confermato i dati già rilevati nelle precedenti sessioni analitiche. Allo scadere dei 60 giorni in tutte e tre le produzioni non sono stati rilevati microrganismi patogeni.

Il Laboratorio Chimico della Camera di commercio ha dato il suo contributo al progetto andando ad analizzare le caratteristiche dell'estratto di mirtillo per aver evidenza che non ci fosse un apporto in nitrito nella nuova salamoia formulata e che non ci fossero significative differenze alle due concentrazioni individuate 0.004% e 0.006%, vedi tabella seguente:

	Peso (g)	A1 misurata	Concentrazione nitriti	Concentrazione NaNO ₂	Media		
			mg/l	mg/kg			
Prova con estratto di mirtillo 0,004%	A	10,1077	0,086	0,21	4,2	6,2	6,1
	B	10,3098	0,085	0,21	4,0	6,0	
	C	10,3288	0,513	2,23	43,2	64,8	
Prova con estratto di mirtillo 0,006%	A	10,2959	0,087	0,22	4,2	6,3	6,4
	B	10,4335	0,089	0,22	4,3	6,5	
	C	10,2617	0,514	2,23	43,5	65,4	

Tabella 1

Media dei nitriti quantificati in campioni di prosciutto cotto analizzati in triplo, dove per la prova C è stata fatta un'aggiunta di 400 µL di una soluzione NO₂- 1000 mg/L

Dai risultati ottenuti (Tabella 1), i nitriti residui dei due campioni risultano differire di soli 0,3 mg/kg; quindi, una maggiore concentrazione di estratto non sembra contribuire a incrementare le concentrazioni di nitriti residui presenti nel prosciutto cotto.

Presso il Laboratorio Chimico della Camera di Commercio sono state fatte le determinazioni delle principali caratteristiche chimico - fisiche del prosciutto cotto realizzato con la nuova ricetta. Di seguito sono riportate e riassunte in tabella le attività svolte.

VALUTAZIONE NITRITI NEI CAMPIONI DI PROSCIUTTO

La determinazione dei nitriti è stata fatta a diversi tempi di conservazione con un campionamento effettuato ai giorni 0, 7 e 60 dalla loro produzione (T0, T7, T60), in modo da poter disporre anche di informazioni sull'evoluzione dei nitriti aggiunti.

Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4
	E250 20 mg/kg	E250 20 mg/kg	E250 80 mg/kg
Estratto di mirtillo 0,006%	Estratto di mirtillo 0,006%	Estratto di mirtillo 0,006%	
Ascorbato	Ascorbato		Ascorbato

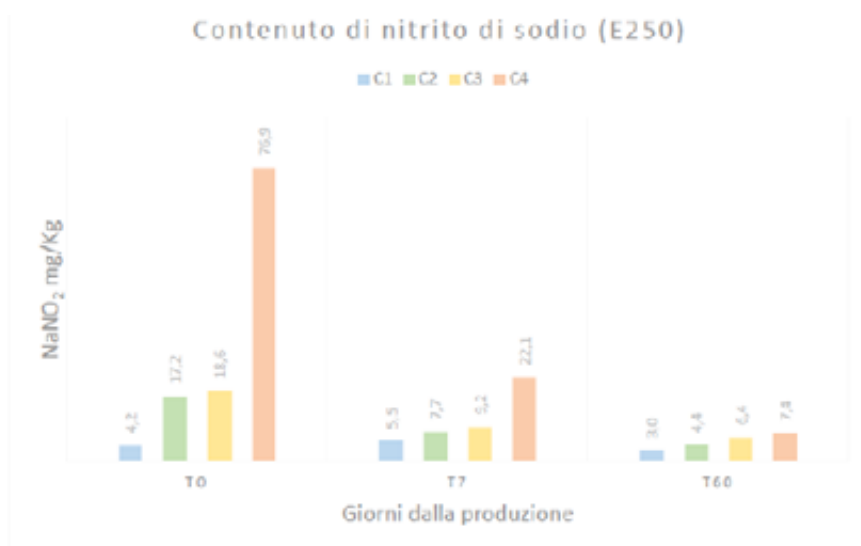


Gráfico 6.2 Nitriti espressi in mg/kg quantificati in prosciutti cotti trattati con 4 diverse ricette di salamoia (C1: no nitriti, C2: ricetta completa, C3: no ascorbato, C4: no estratto di mirilli e 80 mg/Kg di nitriti)

Nel grafico 6.2 viene mostrato il contenuto di nitrito di sodio ai vari tempi di campionamento nei diversi campioni di prosciutto ottenuti, con diverse ricette di salamoia, come riportate in Tabella 1.

Al tempo T0 tutti i campioni rispecchiano il quantitativo di nitriti aggiunti alla salamoia nelle rispettive ricette. L'andamento nel tempo è simile per tutti e quattro i campioni con valori che tendono a stabilizzarsi a T60, non riscontrando più le rilevanti differenze tra i campioni evidenti a T0 e T7.

A T60, comunque, i campioni continuano ad avere un quantitativo di nitriti residui crescente, in base alla quantità di nitriti aggiunti al tempo T0. C1, come ci aspetteremmo, a T0, T7, T60 rimane costante e a concentrazioni decrescenti nel tempo rispetto ad altri campioni; infatti, nel campione C1 non sono stati aggiunti nitriti (Tabella 6.5).

		Peso (g)	A1 misurata	Concentrazione nitriti		Concentrazione NaNO ₂ (mg/Kg)	Media
				(mg/L)	(mg/Kg)		
Campione1 T0	A	10,195	0,068	0,12	2,4	3,7	4,2
	B	10,1952	0,075	0,16	3,1	4,7	
	C	10,1936	0,533	2,35	46,2	69,4	
Campione1 T7	A	10,034	0,080	0,18	3,6	5,5	5,5
	B	10,0252	0,081	0,19	3,7	5,6	
	C	10,0392	0,434	1,88	37,4	56,2	
Campione1 T60	A	10,3416	0,063	0,10	1,9	2,9	3,0
	B	10,2498	0,064	0,11	2,1	3,1	
	C	10,1512	0,501	2,17	42,8	64,2	

Tabella 6.5 Media dei nitriti quantificati nel campione 1 a T0, T7, T60 analizzati in triplo, dove per la prova C è stata fatta un'aggiunta di 400 µL di una soluzione NO₂⁻ 1000 mg/L

to ed E250 a due concentrazioni diverse (20 mg/Kg e 80 mg/Kg), ma in C4 non è stato aggiunto l'estratto di mirtillo. L'aggiunta dell'estratto non dovrebbe contribuire al quantitativo dei nitriti aggiunti, in quanto trattasi di un estratto ricco di polifenoli.

		Peso (g)	A1 misurata	Concentrazione nitriti		Concentrazione NaNO ₂ (mg/Kg)	Media
				(mg/L)	(mg/Kg)		
Campione 2 T0	A	10,2154	0,170	0,61	12,0	18,0	17,2
	B	10,0695	0,157	0,55	11,0	16,4	
	C	10,0396	0,393	1,68	33,5	50,3	
Campione 2 T7	A	10,2964	0,099	0,27	5,3	8,0	7,7
	B	10,2392	0,095	0,25	5,0	7,5	
	C	10,1905	0,562	2,49	48,9	73,5	
Campione 2 T60	A	10,0265	0,080	0,16	3,1	4,7	4,4
	B	10,0365	0,076	0,14	2,7	4,1	
	C	10,0163	0,504	2,18	43,6	65,5	

Tabella 6.6 Media dei nitriti quantificati nel campione 2 a T0, T7, T60 analizzati in triplo, dove per la prova C è stata fatta un'aggiunta di 400µL di una soluzione NO₂ 1000 mg/L

kg di nitriti, si nota che la quantità rilevata analiticamente a T0 ri-specchia in entrambi questo valore. C2 (Tabella 6.6) sembra avere una perdita di nitriti leggermente più rapida rispetto a C3 (Tabella 6.7) nel tempo, tale fenomeno potrebbe essere dovuto al contenuto di ascorbato presente nel campione. Infatti l'EFSA nel 2003 ha segnalato come i prodotti a base di carne contenenti ascorbato presentino una più rapida riduzione di nitriti, a volte scendendo sotto il limite di rilevanza (EFSA, 2003).

		Peso (g)	A1 misurata	Concentrazione nitriti		Concentrazione NaNO ₂ (mg/Kg)	Media
				(mg/L)	(mg/Kg)		
Campione 3 T0	A	10,1539	0,179	0,66	12,9	19,4	18,6
	B	10,155	0,168	0,60	11,9	17,9	
	C	10,0048	0,506	2,22	44,5	66,8	
Campione 3 T7	A	10,099	0,111	0,33	6,6	9,8	9,2
	B	10,1	0,102	0,29	5,7	8,6	
	C	10,051	0,493	2,16	43,0	64,6	
Campione 3 T60	A	10,1921	0,087	0,19	3,7	5,6	6,4
	B	10,1709	0,099	0,25	4,8	7,3	
	C	10,1695	0,535	2,33	45,9	68,9	

Tabella 6.7 Media dei nitriti quantificati nel campione 3 a T0, T7, T60 analizzati in triplo, dove per la prova C è stata fatta un'aggiunta di 400 µL di una soluzione NO₂ 1000 mg/L

ascorbato, da T0 a T7 è rispettivamente del 55,2% e del 71,3%, ma C2 al T7 ha già raggiunto un valore che rimane costante anche a T60, mentre C4 presenta una perdita consistente sia tra T0 e T7 (54,8 mg/Kg) sia tra T7 e T60, anche se minore (14,7 mg/Kg).

Questa differenza è da attribuire al maggior quantitativo di nitriti introdotto in C4 rispetto agli altri campioni. Con questi dati possiamo dire che la quantità di nitriti residui a T7 sembra essere dipendente dal livello iniziale aggiunto, con una relazione tra il livello residuo e il livello aggiunto. Invece a 60 giorni dalla produzione non c'è più correlazione tra livello aggiunto di nitriti e livello residuo, con un minimo di nitriti compresi tra 3 e 7 mg/Kg.

Queste osservazioni e analisi sono in accordo con gli studi svolti da Jantawat nel 1992 che ha osservato come livelli iniziali di nitriti pari a 50 e 106 mg/Kg nei prodotti a base di carne, dopo una conservazione di 21 giorni presentavano entrambi un contenuto rilevabile di nitriti pari a 5 mg/kg, evidenziando una perdita significativamente più alta nei primi 6 giorni (Jantawat et al., 1992).

Sui campioni ottenuti con la ricetta definitiva e prodotti nelle tre differenti aziende il Laboratorio Chimico della Camera di Commercio si è occupato di valutare la composizione nutrizionale con riferimento ai parametri definiti nel Reg. UE n. 1169/2011: sostanza grassa totale, zuccheri e proteine, in modo da poter successivamente condurre un confronto con i valori del prosciutto cotto riportati nei dati bibliografici e nelle banche dati. Le analisi sono state svolte secondo le metodiche contenute nel rapporto ISTISAN 1996/34.

In conclusione i campioni trattati con quattro differenti ricette di salamoia contenenti 20 mg/Kg di E250, 80 mg/Kg di E250 e in assenza di E250, analizzati a tre tempi differenti dalla loro produzione (T0, T7, T60) mostrano che i nitriti residui al tempo T0 rispecchiano la concentrazione di nitriti aggiunti nella salamoia. La riduzione dei nitriti residui risulta importante nei primi 7 giorni, successivi alla produzione del prosciutto cotto (T7), per poi stabilizzarsi col tempo. Inoltre, il tasso di riduzione del nitrito è appar-

so maggiore quando è presente l'ascorbato nella salina.

Infine, la valutazione di tre voci dell'etichetta nutrizionale (lipidi, zuccheri, proteine) sui campioni, ottenuti da 3 differenti aziende partner di progetto, ha evidenziato come esse siano comparabili alle quantità indicate nelle tabelle nutrizionali dell'INRAN (Istituto nazionale di ricerca per gli alimenti e la nutrizione, 2011), eccetto che per un quantitativo di proteine e maggiore.

Il prosciutto cotto preparato con la nuova ricetta è stato oggetto di analisi sensoriale. Le sessioni di assaggio dei prodotti hanno coinvolto operatori di settore, assaggiatori esperti e consumatori. Il prodotto è stato apprezzato ed il consumatore lo riconosce come un buon prodotto.

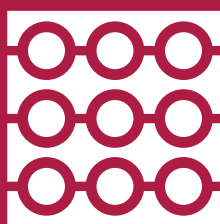
AgenForm in collaborazione con il Laboratorio Chimico della Camera di Commercio di Torino e gli altri partners organizza il 22 novembre un webinar gratuito dedicato al progetto "Salumi liberi". In questa occasione sarà possibile approfondire le tematiche riassunte ed incontrare i partners del progetto. Di seguito il link per trovare tutte le informazioni per l'iscrizione e la partecipazione.

<https://www.lab-to.camcom.it/eventi/2023/11/22/webinar-salumi-liberi-la-riduzione-dei-conservanti/>

Il 5 novembre a Cavour, durante la manifestazione **Tutto Mele**, presso lo stand della **Fondazione Malva Arnaldi** tra le ore 16 e le ore 18 sarà possibile degustare il prosciutto cotto preparato con la nuova ricetta.

Il giorno 7 novembre, sempre a Tutto Mele presso la Pagoda Eventi, AgenForm presenterà i risultati raggiunti all'interno del progetto, con focus particolare sul prosciutto cotto, e anche il giorno 7 sarà possibile degustare il prosciutto prodotto con la nuova ricetta.





AgenForm

#saperenelletuemani

agenform.it

Piazza Torino, 3 - 12100 Cuneo (CN)
Tel.: +39.0171.696147 - Fax: +39.0171.649792
E-mail: info@agenform.it - agenform@legalmail.it
Iscr. C.C.I.A.A. di Cuneo - C.F. e P.IVA 02526600040
Iscr. REA n. 184447