



UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
MODENA E REGGIO EMILIA

Dipartimento di Scienze della Vita

Corso di Laurea Magistrale in
Controllo e sicurezza degli alimenti

Ottimizzazione della fermentazione del Salame Mantovano
mediante modulazione dell'apporto di destrosio: controllo del
pH e implicazioni tecnologiche e microbiologiche in un
contesto di riduzione di nitrati e nitriti.

Relatore

Prof. Andrea Pulvirenti

Tesi di Laurea di

Mattia Vanini

RIASSUNTO

Il salame mantovano è un prodotto tipico della tradizione salumiera italiana e rientra nella categoria dei salumi crudi fermentati e stagionati. La sicurezza microbiologica di questi prodotti si basa sulla combinazione di diversi fattori tecnologici, tra cui l'acidificazione, la riduzione dell'attività dell'acqua, la presenza di sale e l'utilizzo di nitrati e nitriti, che nel loro insieme costituiscono un sistema di barriere. Negli ultimi anni, tuttavia, l'attenzione scientifica e normativa si è concentrata sulla riduzione dell'uso di nitrati e nitriti nei prodotti carnei, a causa delle possibili criticità tossicologiche legate alla formazione di nitrosammine. In questo contesto, risulta fondamentale ottimizzare i processi di fermentazione al fine di garantire un rapido abbassamento del pH e una maggiore stabilità microbiologica del prodotto. Il presente studio ha avuto l'obiettivo di valutare l'effetto della modulazione della quantità di destrosio sulla cinetica di acidificazione del salame mantovano. Lo studio è stato condotto presso un salumificio della provincia di Mantova e ha previsto tre prove sperimentali: una produzione con l'impiego esclusivo di colture starter, una con starter associato a 50 g/100 kg di destrosio e una con starter associato a 100 g/100 kg di destrosio. Durante il processo produttivo sono stati monitorati diversi parametri microbiologici e chimico-fisici, tra cui pH, attività dell'acqua, carica batterica totale, batteri lattici mesofili, coliformi totali, clostridi solfito riduttori, lieviti e presenza dei principali patogeni alimentari. Il piano di campionamento ha previsto prelievi nelle diverse fasi del processo, dall'impasto fino alla stagionatura. Particolare attenzione è stata posta all'andamento del pH nelle prime 48 ore di fermentazione, considerato un parametro chiave per la sicurezza microbiologica dei salumi fermentati. I risultati ottenuti hanno evidenziato come l'aggiunta di destrosio influenzi significativamente la velocità di acidificazione, favorendo un più rapido abbassamento del pH nelle prime fasi del processo. In particolare, le prove con maggiore concentrazione di zucchero fermentescibile hanno mostrato una cinetica di acidificazione più rapida, consentendo il raggiungimento del pH target entro le prime 48 ore di fermentazione. Questo aspetto risulta particolarmente rilevante nel contesto della riduzione dei conservanti tradizionali, in quanto un abbassamento più rapido del pH rappresenta una barriera efficace nei confronti della crescita di microrganismi patogeni.

I risultati dello studio evidenziano come la modulazione dell'apporto di destrosio possa rappresentare uno strumento tecnologico utile per migliorare il controllo della fermentazione nel salame mantovano, contribuendo al mantenimento degli standard di sicurezza microbiologica e della qualità del prodotto.

Sommario

RIASSUNTO	i
INTRODUZIONE.....	1
1. Il salame fermentato nella tradizione italiana	1
Inquadramento storico e tecnologico del salame mantovano	1
Caratteristiche qualitative e parametri distintivi	1
Ruolo della fermentazione nei salumi crudi stagionati	2
2. Sicurezza microbiologica dei salumi fermentati	3
Rischi microbiologici principali.....	3
Concetto di hurdle technology	5
Interazione tra pH, aW, sale e flora microbica	6
3. Nitrati e nitriti nei prodotti carnei	7
Funzioni tecnologiche e microbiologiche	7
Meccanismo d'azione verso Clostridium botulinum	8
Criticità tossicologiche e formazione di nitrosammine.....	9
Evoluzione normativa e prospettive di riduzione	9
4. Colture starter nei salumi	10
LAB.....	11
Micrococcaceae.....	12
Effetti su acidificazione, sicurezza e qualità sensoriale	13
5. Ruolo degli zuccheri fermentescibili	14
Metabolismo del destrosio	14
Relazione tra concentrazione zuccherina e cinetica di acidificazione	15
Rischi di sovra-acidificazione.....	15
6. Razionale dello studio	16
Necessità di maggiore controllo del pH.....	16
Nuovo scenario di riduzione di nitrati/nitriti.....	16
Ipotesi sperimentale	17

OBIETTIVO DELLA TESI.....	18
MATERIALI E METODI.....	18
1. Disegno sperimentale.....	18
2. Processo produttivo.....	19
2.1 Materie prime.....	19
2.2 Preparazione impasto.....	20
2.3 Insacco e legatura.....	21
2.4 Fasi tecnologiche.....	21
3. Piano di campionamento.....	23
4. Analisi effettuate.....	23
4.1 Parametri microbiologici.....	24
4.2 Parametri chimici.....	24
4.3 Analisi sensoriale.....	25
5. Analisi statistica.....	26
RISULTATI.....	28
1. Andamento del pH nelle prime 48 ore.....	28
Analisi statistica dei valori di pH.....	30
2. Evoluzione microbiologica.....	32
Batteri lattici LAB.....	32
Andamento CBT.....	33
Microrganismi indicatori.....	34
Microrganismi patogeni.....	35
3. Evoluzione chimica.....	35
Andamento nitrati e nitriti.....	35
Andamento attività dell'acqua (aW).....	36
Stabilità ossidativa (Aldeide malonica).....	37
4. Confronto finale tra le prove.....	38
5. Analisi sensoriale.....	39

DISCUSSIONE.....	40
1. Effetto del destrosio sulla cinetica di acidificazione.....	40
2. Implicazioni per la sicurezza microbiologica	42
3. Impatto tecnologico.....	43
4. Applicabilità industriale.....	45
5. Limiti dello studio.....	47
CONCLUSIONI.....	48
POSSIBILI SVILUPPI FUTURI	49
BIBLIOGRAFIA	52

INTRODUZIONE

1. Il salame fermentato nella tradizione italiana

Inquadramento storico e tecnologico del salame mantovano

La produzione di salumi fermentati rappresenta una delle più antiche tecniche di trasformazione e conservazione della carne. Prima dell'avvento della refrigerazione industriale, la combinazione di salatura, fermentazione lattica ed asciugatura costituiva una strategia efficace per stabilizzare la carne suina, prolungarne la conservabilità e migliorarne le caratteristiche sensoriali. Nel corso dei secoli, tali pratiche si sono consolidate in numerose produzioni locali italiane, caratterizzate da una forte identità territoriale e da specificità tecnologiche legate alle materie prime, alle condizioni ambientali e al microbiota autoctono. In Italia, una parte significativa dei salumi fermentati è ancora oggi prodotta secondo metodi tradizionali che non prevedono necessariamente l'impiego di colture starter. In questi prodotti, la fermentazione è guidata dalla microflora autoctona nella carne, nel budello e nell'ambiente di lavorazione, le caratteristiche qualitative del prodotto finale risultano quindi strettamente dipendenti da queste condizioni.

Il Salame Mantovano si colloca in questo contesto come salume crudo fermentato a maturazione medio-lunga tipico della Lombardia. Dal punto di vista tecnologico, il processo produttivo prevede la miscelazione di carne magra e grasso suino con sale, spezie e additivi tecnologici, l'insacco in budello naturale, la legatura e una fase iniziale di fermentazione a temperatura controllata, seguita da un periodo di asciugatura e stagionatura prolungata. Queste tecniche consentono di avviare la fermentazione con conseguente abbassamento del pH, garantiscono inoltre una perdita di peso, riduzione dell'attività dell'acqua e maturazione aromatica.

Caratteristiche qualitative e parametri distintivi

La qualità dei salumi fermentati risulta dall'interazione tra parametri chimico-fisici, microbiologici e sensoriali. Tra i principali indicatori di qualità rientrano:

- pH
- Attività dell'acqua (aW)
- Stabilità ossidativa
- Contenuto di NaCl
- Colore
- Profilo aromatico

Il pH risulta uno dei punti chiave del processo di fermentazione. Nei salami fermentati, il pH finale si colloca generalmente tra 5,2 e 5,5. L'abbassamento del pH è dovuto principalmente alla produzione di acido lattico da parte dei batteri lattici e comporta modificazioni della struttura proteica, favorendo la formazione di un reticolo tridimensionale stabile responsabile della consistenza del prodotto. Parallelamente, la riduzione dell'attività dell'acqua (aW) grazie alla presenza di soluti e alle fasi asciugatura e stagionatura contribuisce in modo determinante alla stabilità microbiologica del salame. Dal punto di vista microbiologico, la comunità batterica dei salumi fermentati è dominata principalmente da batteri lattici e cocchi Gram-positivi catalasi-positivi, inizialmente è presente una elevata biodiversità della comunità microbica, a cui segue una progressiva dominanza di specie ben adattate all'ambiente del salame con l'avanzare della stagionatura.

Studi condotti su salumi tradizionali del Nord Italia hanno dimostrato che specie quali *Lactobacillus sakei* e *Lactobacillus curvatus* tendono a diventare dominanti nel corso della maturazione, mentre le *Micrococcaceae*, tra cui *Staphylococcus xylosus* e *Staphylococcus saprophyticus*, svolgono un ruolo rilevante nella stabilizzazione del colore e nello sviluppo aromatico (Cocolin L et al., 2009). La fermentazione, quindi, non è una semplice "acidificazione": è un processo in cui comunità microbiche diverse concorrono a costruire qualità e stabilità. L'impiego di starter può influenzare significativamente parametri microbiologici e chimico-fisici (pH, crescita LAB, controllo di gruppi indesiderati) e alcuni aspetti di qualità. L'aroma finale del salame è quindi il risultato di processi proteolitici e lipolitici mediati da enzimi: tissutali e microbici. La degradazione di amminoacidi e acidi grassi porta alla formazione di composti volatili che contribuiscono alla complessità sensoriale del prodotto.

Ruolo della fermentazione nei salumi crudi stagionati

La fermentazione è il punto centrale dei salumi crudi stagionati. I batteri lattici metabolizzano gli zuccheri fermentescibili presenti nell'impasto producendo acido lattico e determinando l'abbassamento del pH. Questo fenomeno non solo contribuisce alla stabilità microbiologica, ma influenza anche la struttura, la consistenza e la ritenzione idrica del prodotto. I batteri lattici svolgono un ruolo molto importante nella prevenzione della crescita di microrganismi patogeni e alterativi, attraverso competizione per nutrienti, produzione di metaboliti antimicrobici e riduzione del pH. Parallelamente, i cocchi Gram-positivi catalasi-positivi, in particolare le *Micrococcaceae*, contribuiscono alla riduzione dei nitrati, alla stabilizzazione del colore e alla prevenzione dell'ossidazione lipidica. Basandoci sulla "teoria degli ostacoli" la sicurezza dei salumi fermentati non dipende esclusivamente dalla fermentazione, ma dall'interazione tra più "ostacoli" quali: acidificazione, riduzione dell'aW, concentrazione salina e competizione microbica. Essa però svolge un ruolo di prima importanza affinché tutto funzioni, una buona acidificazione iniziale influenzerà

poi tutto il processo di stagionatura, portando ad una perdita di acqua controllata con conseguente aumento della concentrazione salina ed offrirà un terreno sfavorevole per lo sviluppo di microrganismi indesiderati.

2. Sicurezza microbiologica dei salumi fermentati

Rischi microbiologici principali

I salumi fermentati sono prodotti pronti all'uso a cui non viene applicato un trattamento termico durante la produzione, la sicurezza del prodotto deve essere garantita dal controllo di processo. Tuttavia sono considerati generalmente sicuri dal punto di vista microbiologico, ma diversi fattori legati alla microbiologia possono rappresentare potenziali rischi per il consumatore, in particolare se le condizioni di processo non sono adeguatamente controllate o in presenza di contaminazioni durante i processi di affettatura e confezionamento.

I rischi microbiologici principali sono dati da:

- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella* spp.
- Clostridi e *Clostridium botulinum*
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*

Di seguito vengono approfondite le caratteristiche microbiologiche e i principali aspetti di rischio associati ai microrganismi sopra elencati:

1) *Listeria monocytogenes*

È un bacillo Gram-positivo, non sporigeno, ha un optimum di crescita a temperatura di mesofilia (30-37°C), ma possiede una particolare capacità di sopravvivere a temperature di refrigerazione (a 5°C è vivo e vitale ed è in grado di crescere bene), è inoltre un microrganismo ubiquitario che può essere introdotto in ambienti di lavorazione e resistere a condizioni avverse, trovando rifugio su superfici e strumentazioni con la produzione di un biofilm. È alotollerante, in grado di moltiplicarsi fino a concentrazioni di NaCl del 10%, molto più alta delle concentrazioni che si raggiungono nei salumi fermentati. Nei salumi fermentati, *L. monocytogenes* non cresce rapidamente se il pH scende sotto soglie critiche e se l'attività dell'acqua (aW) si riduce; tuttavia, può persistere nelle fasi finali del processo se le condizioni di fermentazioni non sono state adeguate e, in particolare, può contaminare il prodotto finito durante le fasi di lavorazione come affettamento o confezionamento se l'igiene dei locali non è adeguata. Quest ultimo risulta un grosso problema perché essendo un microrganismo aereobio/anaerobio facoltativo e crescendo bene anche a temperature di 5°C trova buone condizioni di moltiplicazione all'interno delle confezioni.

La malattia causata da *Listeria monocytogenes* è la Listeriosi, una malattia alimentare che colpisce soprattutto soggetti fragili, ma è caratterizzata da un'elevata mortalità, per questo il Regolamento CE 2073/2005 stabilisce che nei prodotti alimentari la listeria deve essere assente.

2) Salmonella

Salmonella è un bacillo Gram-negativo appartenente alla famiglia Enterobacteriaceae. Le specie responsabili di tossinfezioni alimentari sono caratterizzate da motilità, hanno un range di temperatura compreso tra 5-45°C, che lo include tra i mesofili con una buona psicrotrofia mentre il pH tollerato è compreso tra 3.8-9.5. L'attività dell'acqua non è altissima ma resiste anche a valori di 0.94. Nei salumi fermentati, *Salmonella* è spesso associata a carni contaminate o a contaminazioni crociate durante la macellazione e la lavorazione. Sebbene la fermentazione e la riduzione dell'*a*W contrastino la crescita, un'alta presenza iniziale può portare alla sopravvivenza del microrganismo se la gestione del processo è inadeguata. Esperimenti su insacco di salame inoculato con *Salmonella* hanno mostrato che la rapidità di acidificazione e la successiva asciugatura sono cruciali per ridurre la carica iniziale a livelli non pericolosi (Nightingale et al., 2006). La malattia causata è la Salmonellosi, che causa gastroenteriti acute, è una malattia alimentare molto importante, collocandosi seconda per numero di casi a livello europeo ed è la prima causa di malattia alimentare per l'Italia.

3) Clostridi e Clostridium botulinum

Clostridium botulinum è un bacillo Gram +, sporigeno e anaerobio obbligato, è un mesofilo stretto e non cresce con $\text{pH} < 4.6$ e con una $\text{aW} < 0.93$. La problematica principale è proprio la produzione di spore, perché danno grande resistenza al batterio. Le spore di clostridi possono germinare e produrre tossina in condizioni anaerobiche favorevoli, come in sezioni interne di salumi poco acidificati o non sufficientemente disidratati. Sebbene la fermentazione lattica e la diminuzione dell'*a*W riducano tale rischio nei salumi tradizionali, la riduzione di nitriti rende essenziale un controllo rigoroso di pH e *a*W per prevenire la crescita clostridica e la conseguente produzione di tossina. La tossina botulinica colpisce il sistema nervoso, causando una paralisi flaccida con conseguente morte del soggetto colpito.

4) Escherichia coli

Escherichia coli è un bacillo Gram -, appartenente alla famiglia Enterobacteriaceae, mobile, anaerobio facoltativo, mesofilo ma pur non essendo tra i più tolleranti sopravvive anche a temperature più basse, non tollera NaCl e ha un limite di *a*W molto elevato ($\text{aW} < 0.99$), con un pH ottimale vicino alla neutralità (6-7). Molte varietà di *E. coli* vivono normalmente nell'intestino umano e animale, ma specifici ceppi come EHEC: (*E. coli* Enteroemorragico), sierogruppo O157:H7, sono associati a malattie alimentari, di natura gastrointestinale. Nei salumi fermentati, *E. coli* proviene principalmente attraverso la carne cruda contaminata o tramite contaminazioni crociate durante la macinazione e la

manipolazione delle carni. Tuttavia, la fermentazione esercita un effetto inibente significativo: la produzione di acido lattico da parte dei batteri lattici determina una rapida diminuzione del pH, e la successiva riduzione dell'attività dell'acqua durante l'essiccamento crea condizioni sfavorevoli alla crescita di questo patogeno. È molto importante quindi controllare le fasi di fermentazione, perché il batterio potrebbe sopravvivere se è lenta o inefficace, in generale però la presenza di residui di E. coli in prodotti stagionati avviene più spesso per contaminazione post-processo (es. affettamento, confezionamento) piuttosto che una crescita durante la fermentazione stessa.

5) Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus è un cocco Gram +, disposto in grappoli (aspetto "a grappolo d'uva"), non sporigeno, anaerobio facoltativo, mesofilo ma riesce a vivere anche a temperature di psicrotrofia, ha un optimum di pH di 7-7.5 ed una aW minima di 0.86-0.87, che è anomalo per un batterio. È inoltre alofilo, quindi cresce bene anche con elevate concentrazioni di sale. È un microrganismo che da una intossicazione alimentare, la problematica principale è che queste tossine sono resistenti al calore e alla degradazione enzimatica, quindi anche se il microrganismo viene inattivato la tossina rimane poi nel prodotto finito. La contaminazione dei prodotti avviene principalmente tramite condizioni igieniche non adeguate e tramite il contatto con gli operatori. Nei salumi fermentati, il momento più critico è la fase iniziale di fermentazione, quando ancora le condizioni sono favorevoli allo sviluppo del microrganismo, se l'acidificazione è lenta, S. aureus può moltiplicarsi e produrre enterotossine prima che il sistema di barriera (pH basso + aW ridotta) diventi efficace.

Concetto di hurdle technology

La sicurezza microbiologica dei salumi fermentati crudi si basa sull'applicazione combinata di più fattori di controllo, secondo il principio della hurdle technology. Questo prevede che la stabilità microbiologica di un alimento non sia garantita da un singolo fattore, ma dalla sinergia tra più ostacoli (hurdles) che agiscono simultaneamente, ostacolando la crescita e la sopravvivenza dei microrganismi patogeni. Nei salumi fermentati, le principali barriere tecnologiche sono:

- Abbassamento del pH
- Riduzione dell'attività dell'acqua (aW)
- Concentrazione di NaCl
- Competizione della flora lattica
- Eventuale presenza di nitrati e nitriti

L'interazione tra le diverse barriere determina uno stress multiplo che supera la capacità adattativa dei patogeni, infatti, un microrganismo può adattarsi a uno specifico fattore di stress, ma difficilmente riesce a superare simultaneamente più condizioni sfavorevoli. Nel caso dei salumi fermentati,

l'assenza di un trattamento termico letale rende necessario il ricorso a un sistema multilivello di barriere. Nelle prime ore la barriera principale è il pH, nelle fasi successive si rafforza l'effetto combinato di pH e sale, infine, durante la stagionatura, la riduzione dell'aW diventa la principale barriera. Attualmente ci si sta muovendo verso una progressiva riduzione dei nitriti per ragioni tossicologiche e di percezione del consumatore, quindi, la hurdle technology assume un ruolo ancora più centrale. Tradizionalmente, i nitriti hanno rappresentato una barriera fondamentale contro *Clostridium botulinum*. La loro riduzione impone quindi un maggiore controllo delle barriere intrinseche del processo, in particolare della cinetica di acidificazione e della gestione dell'attività dell'acqua. In questa ottica, il controllo della fermentazione attraverso l'aggiunta di starter e la modulazione degli zuccheri fermentescibili può essere interpretato come uno strumento per rafforzare la barriera acida e ottimizzare l'efficacia del sistema di hurdle technology nel Salame Mantovano.

Interazione tra pH, aW, sale e flora microbica

Nei salumi fermentati crudi stagionati, pH, attività dell'acqua (aW), sale (NaCl) e flora microbica formano un sistema interconnesso tra loro: non agiscono in modo indipendente, ma come componenti di una rete di "barriere" che si rafforzano reciprocamente e che determinano sia l'evoluzione del processo fermentativo sia la stabilità microbiologica del prodotto finito.

1) pH

L'abbassamento del pH è il risultato della fermentazione lattica e rappresenta una barriera cruciale soprattutto nelle prime 24–48 ore, quando l'aW è ancora elevata e quindi le condizioni, in assenza di acidificazione, sarebbero potenzialmente permissive per diversi microrganismi. La velocità di acidificazione risulta quindi fondamentale, per dare subito un contrasto significativo allo sviluppo dei microrganismi indesiderati. L'effetto antimicrobico dell'acidificazione dipende anche dalla quota di acido lattico non dissociato (che aumenta a pH più basso): questa forma attraversa più facilmente le membrane cellulari e può perturbare il metabolismo microbico.

2) Attività dell'acqua (aW)

La riduzione dell'aW diventa progressivamente più importante con l'avanzare di asciugatura e stagionatura, a differenza del pH dove le fasi iniziali sono quelle fondamentali. La diminuzione dell'aW non deriva solo dalla perdita di acqua, ma è fortemente influenzata anche dalla formulazione (sale) e dalla struttura del prodotto (dimensione, budello). Nei salumi stagionati, l'aW tende a ridursi verso valori che rendono l'ambiente progressivamente meno permissivo, questo diventa quindi il punto più importante della stabilità nella fase finale, soprattutto quando si ha avuto una fermentazione efficace e controllata.

3) Sale

Il sale esercita 2 tipi di azione antimicrobica: una diretta tramite stress osmotico e una indiretta contribuendo alla riduzione dell'aW. L'effetto solo del sale può dare una inibizione moderata in microrganismi sensibili, ma risulta molto più efficace quando agisce insieme all'abbassamento di pH e aW. I microrganismi dovranno quindi affrontare più ostacoli e la presenza di NaCl aiuta a rafforzare questo susseguirsi di barriere.

4) Flora microbica

La flora microbica e in particolare i batteri lattici non agiscono solo abbassando il pH, ma creano una barriera biologica tramite la competizione per nutrienti e spazio e la produzione di metaboliti con attività antimicrobica. Questi rappresentano il punto centrale di tutta la "teoria degli ostacoli", risulta quindi di fondamentale importanza la qualità della flora microbica e il suo rapido sviluppo, per questo motivo l'utilizzo di colture starter selezionate e la modulazione degli zuccheri ricoprono un ruolo di primo ordine nell'intero processo produttivo. È stato dimostrato che starter diversi possono determinare velocità di acidificazione diverse e che un pH più basso, ottenuto più rapidamente, si associa a una minore sopravvivenza di microrganismi indesiderati.

3. Nitrati e nitriti nei prodotti carnei

Funzioni tecnologiche e microbiologiche

L'impiego di nitrati e nitriti nei prodotti carnei è considerata una pratica consolidata nella tecnologia dei salumi, con delle funzioni che sono oltre alla semplice conservazione. Questi, infatti, svolgono più ruoli nel processo di produzione dei salumi crudi stagionati: contribuiscono alla stabilità microbiologica, alla formazione del colore caratteristico e alla stabilità ossidativa del prodotto. Il nitrito è il vero il composto attivo, mentre il nitrato funge da riserva che, attraverso la riduzione microbica operata da batteri nitrato-riduttori (in particolare cocchi coagulasi-negativi), viene convertito progressivamente in nitrito durante la stagionatura.

Le principali funzioni che i nitriti svolgono sono:

Stabilizzazione del colore	Il nitrito reagisce con la mioglobina e si forma nitrosomioglobina, che è la componente che dà il tipico colore rosso dei salumi
Azione antiossidante	Riduce l'ossidazione lipidica e quindi la formazione di aldeidi secondarie
Azione antimicrobica	Soprattutto verso <i>Clostridium botulinum</i>

Tabella 1: Principali funzioni dei nitriti

L'aggiunta di nitrati e nitriti rafforza il sistema ad ostacoli, andando a posizionare un'ulteriore barriera per la crescita microbica e sommandosi alle altre caratteristiche che si sviluppano durante la fermentazione e la stagionatura.

Meccanismo d'azione verso *Clostridium botulinum*

Il controllo di *Clostridium botulinum* rappresenta storicamente la principale giustificazione dell'impiego dei nitrati e nitriti nei salumi stagionati. La difesa dal microrganismo non avviene solo quando questo si trova in forma vegetativa, ma il nitrito impedisce anche la germinazione delle spore, che rappresentano una delle fasi più critiche da controllare della vita del *Clostridium botulinum*, infatti queste possono rimanere dormienti a lungo e resistere a condizioni ambientali avverse, andando poi a germinare qualora l'ambiente risulti più permissivo, generando la forma vegetativa, che sarà poi quella che andrà a produrre la tossina botulinica. I nitriti agiscono a più livelli andando a contrastare sia la germinazione delle spore, che le forme vegetative:

1) Inibizione della germinazione delle spore:

Nell'ambiente dei salumi stagionati, le prime fasi della fermentazione risultano cruciali; infatti, un rapido abbassamento del pH consente al nitrito di essere convertito in composti chimici più reattivi come l'acido nitroso e l'ossido nitrico. È stato dimostrato che specie derivate dal nitrito possono reagire con proteine contenenti ferro, incluse strutture ferro-zolfo coinvolte nel metabolismo anaerobio del batterio, compromettendo la funzionalità di enzimi essenziali per l'avvio dell'attività metabolica. Se il metabolismo cellulare non riesce ad attivarsi correttamente, la germinazione viene rallentata o bloccata, quindi non è che il nitrito distrugge la spora, ma ne ostacola molto la sua germinazione in forma vegetativa. È molto importante quindi il controllo della fermentazione, soprattutto nelle prime fasi, perché un rapido abbassamento del pH consente di avere una maggiore conversione del nitrito in composti reattivi che all'inizio è fondamentale, perché la quantità di aW libera è ancora molto elevata e la percentuale di NaCl non è ancora ai massimi livelli e quindi non risultano ancora delle barriere efficaci al controllo delle spore. Quando poi si avanza con la stagionatura questi livelli tendono sempre a valori più ottimali ad impedirne la germinazione.

2) Inibizione della crescita vegetativa

I nitriti reagiscono, oltre che con le spore, anche con la forma vegetativa del *Clostridium botulinum*, che è quella che poi andrà a produrre la tossina botulinica. Come descritto prima durante la fermentazione e la riduzione del pH dai nitriti si formano delle forme reattive, saranno poi queste forme ad andare ad interagire con le cellule andando a compromettere il metabolismo batterico. Uno dei meccanismi più discussi in letteratura riguarda l'interazione con proteine contenenti ferro e cluster ferro-zolfo (Fe-S), che svolgono un ruolo fondamentale nel metabolismo energetico anaerobio di *C. botulinum* (Shen, Q. et al., 2023; Shakil et al., 2022). È stato dimostrato, inoltre, che non agiscono solo in questo modo, ma viene alterato l'equilibrio di ossidoriduzione della cellula, causando uno stress redox, questo comporta un aumento del costo metabolico necessario per il mantenimento delle funzioni

cellulari, sottraendo forza ai processi legati alla replicazione e alla divisione cellulare, questo si traduce in una minore velocità di crescita.

È comunque importante ricordare che nitrati e nitriti non agiscono come unica barriera contro il *C. botulinum*, ma è l'insieme più condizioni sfavorevoli al suo sviluppo a dare i veri effetti sulle produzioni di salumi fermentati, risulta quindi di fondamentale importanza il controllo di tutti i parametri nell'insieme.

Criticità tossicologiche e formazione di nitrosammine

I nitriti hanno ottime proprietà tecnologiche e il loro uso è consolidato nelle produzioni alimentari, ma vengono sempre più studiate le proprietà tossicologiche di questi additivi. Il principale rischio è legato alla formazione di N-nitrosammine, composti che si generano dalla reazione tra nitriti e ammine secondarie presenti nella matrice proteica, classificate da enti internazionali come potenzialmente cancerogene o genotossiche. La formazione di nitrosammine è un processo di nitrosazione, che avviene quando una specie nitrosante derivata dal nitrito reagisce con un'ammina secondaria, nei prodotti carnei le ammine si generano dalla naturale degradazione proteica che si verifica durante la maturazione e la stagionatura. La proteolisi, infatti, libera amminoacidi e ammine a basso peso molecolare che, in presenza di nitriti residui, possono fungere da precursori per la formazione di nitrosammine. La temperatura gioca un ruolo importante nella formazione di nitrosammine, perché accelera il processo di nitrosazione, nei salumi crudi fermentati, dove non vi è una fase di cottura, il rischio è generalmente inferiore, ma non nullo soprattutto in presenza di residui significativi di nitrito e di precursori amminici derivanti dalla proteolisi prolungata.

La formazione di nitrosammine può essere mitigata attraverso strategie tecnologiche adeguate, l'impiego di antiossidanti come, ad esempio, l'ascorbato (vitamina C), svolge anche la funzione di limitare la formazione di nitrosammine, poiché questi additivi possono reagire con specie nitrosanti prima che esse interagiscano con le ammine.

Evoluzione normativa e prospettive di riduzione

L'impiego di nitrati e nitriti nei prodotti carnei è da tempo oggetto di regolamentazione specifica a livello europeo, in quanto tali sostanze rappresentano additivi tecnologicamente utili ma potenzialmente associati a problemi tossicologiche. L'evoluzione normativa riflette il progressivo tentativo di bilanciare due esigenze fondamentali: garantire la sicurezza microbiologica, in particolare nei confronti di *Clostridium botulinum*, e ridurre l'esposizione del consumatore a possibili composti N-nitrosati. A livello Europeo, l'uso di nitrati e nitriti è disciplinato principalmente dal Regolamento (CE) n. 1333/2008 sugli additivi alimentari, che stabilisce le categorie di alimenti in cui tali sostanze sono autorizzate e ne definisce le quantità massime ammesse. Questo regolamento è stato

recentemente modificato dal Regolamento (UE) 2023/2108 (attivo dall'ottobre 2025), che ha introdotto nuovi limiti più restrittivi per alcune categorie di prodotti carnei, alla luce delle più recenti valutazioni scientifiche in materia di esposizione alimentare e formazione di nitrosammine.

La prospettiva di riduzione dei nitriti non può essere interpretata come una semplice eliminazione dell'additivo, ma come una riprogettazione dell'intero sistema di barriere; infatti, la loro attività contro il *C. botulinum* è fortemente documentata. Uno degli ambiti più promettenti riguarda il controllo della fermentazione nelle prime 24–48 ore, fase critica in cui il prodotto presenta ancora un'attività dell'acqua relativamente elevata e un pH ancora elevato. Un abbassamento rapido e controllato del pH, ottenuto attraverso colture starter selezionate e un uso mirato di zuccheri fermentescibili, può ridurre significativamente la finestra temporale di rischio microbiologico, compensando parzialmente la riduzione della barriera chimica fornita dal nitrito. La prospettiva futura non è verso una totale eliminazione dei nitriti, ma verso una loro ottimizzazione quantitativa, applicando il principio ALARA (As Low As Reasonably Achievable), già implicito nella normativa europea sugli additivi alimentari. L'obiettivo è ridurre l'esposizione del consumatore senza compromettere la funzione antimicrobica nei confronti di patogeni anaerobi sporigeni. In questo scenario, la ricerca assume un ruolo determinante: studi sperimentali mirati alla modellizzazione della cinetica di acidificazione, alla valutazione dell'interazione tra pH e aW e alla validazione microbiologica delle nuove formulazioni rappresentano strumenti fondamentali per accompagnare la transizione verso prodotti a ridotto contenuto di nitriti, garantendo un livello di sicurezza equivalente a quello delle formulazioni tradizionali.

4. Colture starter nei salumi

La fermentazione rappresenta uno dei passaggi chiave nella produzione dei salumi crudi stagionati e costituisce un processo microbiologico complesso, guidato dall'interazione tra microflora naturale e condizioni tecnologiche di processo. Storicamente, la fermentazione dei salumi avveniva in modo naturale, affidandosi ai microrganismi autoctoni nella carne, negli ambienti di lavorazione e nei budelli naturali. Tuttavia, la crescente esigenza di standardizzazione qualitativa e sicurezza microbiologica ha portato allo sviluppo e all'impiego di colture starter selezionate. Nei salumi fermentati le colture starter appartengono principalmente a 2 categorie:

- Batteri lattici (LAB)
- Micrococcaceae

Questi microrganismi svolgono funzioni complementari: i LAB sono responsabili principalmente dell'acidificazione e del controllo microbiologico, mentre i Micrococcaceae contribuiscono allo sviluppo del colore, dell'aroma e della stabilità ossidativa. In un'ottica di riduzione dei nitrati e nitriti

un controllo accurato della fermentazione risulta di fondamentale importanza per ridurre il rischio microbiologico e per cercare di compensare il più possibile la riduzione della barriera data dai nitriti.

LAB

I batteri lattici rappresentano il gruppo microbico tecnologicamente più importante nei salumi fermentati. Si tratta di microrganismi Gram-positivi, anaerobi facoltativi o microaerofili, caratterizzati dalla capacità di fermentare carboidrati producendo principalmente acido lattico. Nei prodotti carnei fermentati, i LAB svolgono una funzione centrale nella determinazione della sicurezza microbiologica, della stabilità e delle caratteristiche sensoriali del prodotto finale.

Le specie più frequentemente riscontrate nei salumi fermentati appartengono ai generi *Lactilactobacillus*, *Pediococcus* e, in alcuni casi, *Lactiplantibacillus*. Tra le specie più rilevanti si annoverano:

- *Lactilactobacillus sakei*
- *Lactilactobacillus curvatus*
- *Lactiplantibacillus plantarum*
- *Pediococcus pentosaceus*

Queste specie sono le più ritrovate e descritte nella fase fermentativa dei salumi, in particolare, *L. sakei* è tra quelli che più si trovano nella carne ed è meglio adattato, grazie alla sua capacità di crescere a basse temperature, in presenza di sale e in condizioni di ridotta attività dell'acqua.

La funzione primaria dei LAB nei salumi fermentati è la produzione di acido lattico a partire da zuccheri fermentescibili, come destrosio o saccarosio aggiunti in formulazione. La fermentazione lattica comporta una riduzione progressiva del pH, che rappresenta una delle barriere fondamentali per la sicurezza del prodotto. L'abbassamento del pH riduce la crescita di microrganismi indesiderati, favorisce la stabilizzazione del colore e contribuisce alla coagulazione delle proteine miofibrillari, influenzando la struttura del prodotto. È importante che questo abbassamento avvenga nelle prime 24-48 ore per limitare la crescita di microrganismi indesiderati, quindi, attraverso la modulazione della quantità di zuccheri fermentescibili noi dobbiamo riuscire a gestire questo processo, trovando le condizioni ottimali di fermentazione. Oltre alla acidificazione, i LAB svolgono anche una competizione microbica con la flora presente nei salumi stagionati, infatti la loro crescita nelle prime fasi del processo consente di: occupare nicchie ecologiche disponibili, consumare nutrienti e produrre metaboliti antimicrobici. Alcuni ceppi, infatti, sono in grado di produrre batteriocine e altri peptidi antimicrobici attivi contro i Gram +, tra cui *L. monocytogenes*, andando a contribuire attivamente alla sicurezza del prodotto. Contribuiscono inoltre allo sviluppo del profilo sensoriale tipico, metabolizzando proteine e zuccheri e tramite la produzione di composti aromatici (aldeidi, esteri, acidi organici), anche questa è una scelta importante nel definire le popolazioni microbiche che

andranno poi utilizzate nella produzione, in modo da combinare l'efficienza di acidificazione con la risposta aromatica.

In un contesto attuale di riduzione dei nitrati e nitriti il ruolo dei LAB diventa ancora più importante, avere una rapida riduzione del pH riduce le tempistiche in cui i microrganismi patogeni possono sviluppare, andando a mettere una barriera più forte nella produzione dei salumi stagionati e cercando di compensare la parte di barriera persa da parte dei nitriti.

Micrococcaceae

Oltre ai LAB un'altra famiglia di microrganismi importanti nel processo produttivo sono le Micrococcaceae, questi microrganismi sono meno rilevanti per quanto riguarda l'acidificazione, ma sono più coinvolti nella stabilità del colore, nella protezione dall'ossidazione e nello sviluppo dell'aroma tipico dei salumi stagionati. Le specie più frequentemente associate ai salumi fermentati appartengono a *Staphylococcus* (ad es. *S. xylosus*, *S. carnosus*, *S. equorum*, *S. saprophyticus*), come per i LAB anche questo gruppo è ben adattato all'ambiente dei salumi stagionati; infatti, è in grado di tollerare sale, basse temperature e riduzione dell'*a*_w, che sono le condizioni che si verificano durante la stagionatura. Questi microrganismi sono molto coinvolti nella stabilizzazione del colore, molti ceppi hanno un'attività nitrato-reduttasica, formando nitrito a partire dal nitrato, questo andrà poi a formare ossido nitrico, che legandosi con la mioglobina andrà a formare nitrosomioglobina, che è responsabile della tipica colorazione rossa dei salumi stagionati. Possiedono anche un'attività catalasica, sono in grado di limitare l'ossidazione, nei salumi l'ossidazione lipidica può generare composti responsabili di irrancidimento e note aromatiche sgradevoli, i processi ossidativi possono influenzare anche la stabilità del colore. La presenza di cocchi catalasi-positivi aiuta a degradare perossidi e specie ossidanti, contribuendo quindi alla stabilità ossidativa del prodotto durante la maturazione. Sono inoltre molto coinvolti nello sviluppo aromatico del prodotto durante la fermentazione, i LAB sono più coinvolti nella fase di acidificazione, dando un contributo minore alla parte sensoriale, mentre questi microrganismi hanno una produzione di enzimi, come proteolisi e lipolisi, che sono in grado di andare a scomporre proteine e lipidi liberando peptidi/amminoacidi nel primo caso e acidi grassi nel secondo, gli amminoacidi verranno poi metabolizzati andando a produrre aldeidi, acidi, alcoli e composti solforati, che sono composti aromatici.

È importante ricordare che a questa famiglia di microrganismi appartengono anche ceppi patogeni, *Staphylococcus aureus* sicuramente ne fa da capostipite, ma alcuni ceppi, pur essendo generalmente considerati meno pericolosi, possono presentare geni di resistenza agli antibiotici, potenziale produzione di amine biogene, e in casi specifici anche la presenza di geni associati a fattori di virulenza. Risulta quindi fondamentale un'importante analisi e selezione di questi microrganismi,

prima di tutto sul livello della loro sicurezza e passato questo step si possono selezionare quelli con migliori proprietà tecnologiche.

Effetti su acidificazione, sicurezza e qualità sensoriale

Parlando di effetti sull'acidificazione, nei salumi fermentati, l'impiego di colture starter consente soprattutto di rendere più prevedibile la cinetica fermentativa. I batteri lattici metabolizzano gli zuccheri fermentescibili producendo acidi organici, il principale è acido lattico, con conseguente abbassamento del pH. Questo andamento è tecnologicamente cruciale perché il pH influenza direttamente la velocità di trasformazione della matrice (coagulazione delle proteine miofibrillari, trattenimento idrico, struttura) e, soprattutto, l'assetto microbiologico delle prime fasi di processo. Dall'altra parte, la famiglia delle Micrococcaceae, non ha come obiettivo principale l'acidificazione, ma contribuiscono alla stabilità del processo perché si adattano bene alle condizioni di stagionatura e cooperano con i LAB nel guidare una maturazione più controllata. La loro presenza come parte di consorzi starter (LAB + stafilococchi) è finalizzata a evitare squilibri tecnologici: da un lato si ottiene acidificazione "in tempo", dall'altro si mantiene un profilo sensoriale più armonico e tipico.

Sul lato della sicurezza microbiologica gli starter agiscono come barriera e attuano la loro funzione attraverso più meccanismi, che poi nel complesso si sommano tra di loro. Il primo è la barriera acida: un pH che scende rapidamente rende la matrice meno favorevole alla crescita di diversi patogeni e alteranti e potenzia l'efficacia di altre barriere (sale, aW, nitrito quando presente), è molto importante che questa avvenga rapidamente, quando il prodotto risulta ancora permissivo alla crescita di microrganismi indesiderati, per ridurre la finestra temporale di sviluppo. Oltre all'acidità, molte colture lattiche esercitano un effetto di competizione ecologica (consumo di nutrienti e occupazione di nicchie) e, in alcuni casi, producono metaboliti antimicrobici (ad es. batteriocine). La sicurezza, però, non finisce nella fase fermentativa, ma dobbiamo portarla avanti fino alla fine del processo produttivo. In uno scenario di riduzione dei nitriti, le colture starter diventano ancora più "centrali" perché aiutano a mantenere sicuro il sistema di barriere nel suo complesso: un pH controllato, un profilo microbiologico dominato da microrganismi tecnologici e una gestione corretta di asciugatura/stagionatura (aW) sono requisiti indispensabili sicuri.

Sul piano della qualità sensoriale questa è molto influenzata dai microrganismi, è quindi importante scegliere colture che siano molto sicure, questa è una prerogativa, ma che abbiano ottime performance a livello sensoriale, bisogna quindi cercare di bilanciare le diverse famiglie microbiche tenendo conto anche di questo aspetto. I LAB determinano principalmente il livello di acidità percepita (e quindi la freschezza gustativa) e contribuiscono, direttamente o indirettamente, alla texture tramite le modificazioni proteiche indotte dal pH. Inoltre, partecipano alla generazione di precursori aromatici

lungo la maturazione (attraverso il rilascio di peptidi/amminoacidi e la trasformazione di substrati disponibili), influenzando l'equilibrio tra note lattiche, carnee e fermentative.

Le Micrococcaceae sono invece spesso associate alle componenti più tipiche dell'aroma dei salumi: attraverso attività enzimatiche e metaboliche contribuiscono alla formazione di composti volatili legati a degradazione amminoacidica e trasformazioni dei lipidi, e possono sostenere la qualità aromatica anche limitando fenomeni di ossidazione e irrancidimento grazie alla loro attività catalasica/antiossidante. Questi inoltre possono contribuire, in presenza di nitrato/nitrito e in funzione delle condizioni di processo, alla dinamica dei composti azotati e alla stabilità cromatica. Questo risulta molto importante in ottica di riduzione dei nitrati e nitriti, perché uno dei parametri qualitativi più rilevanti da parte del consumatore è la colorazione rossa tipica, che è garantita appunto dai nitriti, ottimizzare questo processo garantisce un prodotto più appetibile e ne facilita le vendite.

5. Ruolo degli zuccheri fermentescibili

Gli zuccheri fermentescibili (in particolare destrosio/glucosio, ma anche saccarosio e lattosio a seconda delle tradizioni) sono ingredienti tecnologici che si utilizzano in piccola quantità, ma decisivi per il successo della fermentazione. Nei salumi crudi stagionati, la carne contiene naturalmente quantità limitate di carboidrati disponibili, per questo motivo, l'aggiunta di zuccheri ha lo scopo di fornire un substrato immediatamente utilizzabile dai batteri lattici, così da ottenere una acidificazione rapida e riproducibile.

Metabolismo del destrosio

Il destrosio è uno zucchero semplice, facilmente trasportato e metabolizzato dai LAB. Una volta disponibile nella matrice, il destrosio viene convogliato nelle vie glicolitiche e trasformato principalmente in acido lattico (fermentazione omolattica) oppure in una miscela di prodotti (lattato + acetato/etanolo + CO₂) in funzione del ceppo e delle condizioni (fermentazione eterolattica). Il risultato tecnologico rilevante è comunque la produzione di acidi organici e quindi la riduzione del pH. La produzione di acido lattico è importante per due motivi principali:

1. Stabilizzazione microbiologica: abbassando il pH crea un ambiente meno permissivo alla crescita di microrganismi indesiderati.
2. Aspetto tecnologico: la diminuzione del pH influisce sulla struttura dell'impasto (coagulazione/agggregazione proteica), sulla capacità di trattenere acqua e sul profilo sensoriale finale (acidità percepita).

È importante sottolineare che la variazione del pH non dipende solamente dalla quantità di destrosio, perché i microrganismi che attuano questo processo, come *Lactobacillus sakei*, sono ben adattati all'ambiente delle carni e sono in grado di procedere con la fermentazione anche quando le quantità

di zuccheri si riducono, attivando altre vie metaboliche. La selezione quindi delle colture starter da usare deve tenere conto anche di queste considerazioni, per avere un adattamento completo al processo produttivo e all'ingredientistica che si vuole usare.

Relazione tra concentrazione zuccherina e cinetica di acidificazione

La concentrazione di zucchero fermentescibile incide direttamente sulla cinetica di acidificazione, cioè quanto velocemente e fino a che punto il pH scende nelle prime 24–48 ore. Zuccheri semplici come il destrosio determinano un calo di pH più rapido ad opera dei LAB, perché a differenza di zuccheri più complessi sono pronti per essere metabolizzati. Aumentando il dosaggio si fornisce più substrato ai batteri lattici andando ad influenzare, fino ad un certo punto, la produzione di acido lattico e quindi la velocità di acidificazione. La relazione tra calo di pH e concentrazione di zuccheri non è automatica, perché la velocità di acidificazione è modulata anche da fattori di processo e formulazione: temperatura di fermentazione, sale, diametro del budello, inoculo e combinazione di starter. In base al calibro si avrà una diversa trasmissione di calore e anche l' a_w tenderà a calare in maniera differente andando indirettamente anche ad influire sulla fermentazione, di maggiore rilievo è sicuramente la quantità e il tipo di starter che andremo ad utilizzare, perché avranno un'efficienza diversa e queste scelte dovranno essere effettuate in base alla tipologia di prodotto che vogliamo realizzare e agli obiettivi fermentativi che ci siamo prefissati. La concentrazione zuccherina è quindi sicuramente correlata con la cinetica di acidificazione, ma dobbiamo valutare tutti i parametri nell'insieme, la quantità deve essere calcolata correttamente, in modo da essere sufficiente per la fermentazione che stiamo cercando senza rischiare di avere una sovra-acidificazione o compromettere il profilo sensoriale del prodotto a fine stagionatura.

Rischi di sovra-acidificazione

Focalizzandoci solo sulla parte della sicurezza avere un pH più basso è sempre positivo, ma dovendo produrre un prodotto che poi dovrà essere consumato e venduto è sicuramente molto importante l'aspetto sensoriale, considerando quindi il prodotto nel suo insieme ci imbattiamo, nel rischio di sovra-acidificazione. Una acidificazione troppo aggressiva da problematiche che possono essere spiegate in 3 punti principali:

- Qualità sensoriale: un pH troppo basso può portare a un'acidità percepita eccessiva, squilibrando il profilo aromatico tipico e rendendo il prodotto più "aspro".
- Texture e resa: una acidificazione troppo spinta può modificare la struttura proteica e la trattenuta idrica, ottenendo così un prodotto non idoneo (es. tendenza a texture più asciutte o, al contrario, difetti strutturali se la dinamica di asciugatura non è ben sincronizzata con la

dinamica di acidificazione). Bisogna cercare di equilibrare il calo di pH con quello dell'aW per ottenere un prodotto finale che soddisfi le aspettative.

- Effetti indiretti sulla maturazione microbica: se l'acidificazione è troppo aggressiva, può penalizzare microrganismi tecnologici utili (ad esempio alcuni cocchi catalasi-positivi coinvolti in aroma/colore) e alterare l'equilibrio fermentativo, con possibili ripercussioni su stabilità ossidativa e complessità aromatica, non dando il tempo a questi microrganismi di adattarsi e svilupparsi a quelle condizioni.

La sovra-acidificazione non è quindi considerata solo come risultato del pH finale, ma è importante controllare la velocità con cui questo pH target viene raggiunto, per non risultare troppo aggressiva.

6. Razionale dello studio

Necessità di maggiore controllo del pH

Nei salumi fermentati, come il Salame Mantovano, la fase iniziale del processo (le prime 24-48 ore), rappresenta una fase critica per il prodotto, perché si trova in una fase ancora particolarmente permissiva, infatti: l'attività dell'acqua è elevata, il pH è ancora alto, la matrice è ricca di nutrienti e la microflora non si è ancora stabilizzata; è quindi presente un possibile sviluppo di microrganismi indesiderati. Storicamente la fermentazione è sempre avvenuta in maniera "naturale", cioè senza l'aggiunta di starter microbici, attraverso i microrganismi naturalmente presenti in: carne, budello e ambienti di lavorazione, dando una maggiore variabilità nei tempi e nelle modalità di fermentazione. Questo, pur dando una maggiore tipicità al prodotto, può comportare differenze nella cinetica di acidificazione nelle prime 24-48 ore, che risulta una fase fondamentale del processo, una vera barriera di sicurezza in grado di limitare la crescita di microrganismi indesiderati e un parametro tecnologico di processo, influenzando: la strutturazione proteica, la capacità di trattenere acqua, la velocità di asciugatura e l'equilibrio sensoriale (acidità percepita e sviluppo aromatico). In un contesto di un prodotto tradizionale come il Salame Mantovano, oggi, emerge la necessità di controllare la cinetica di acidificazione, tenendo sempre conto della tipicità, cercando di rendere più prevedibile la fermentazione ottenendo un prodotto compatibile con le esigenze moderne di sicurezza e standardizzazione qualitativa.

Nuovo scenario di riduzione di nitrati/nitriti

L'uso di nitrati e nitriti nei salumi tradizionali, incluso il Salame Mantovano, ha storicamente garantito protezione nei confronti di patogeni anaerobi sporigeni. Tuttavia, le recenti valutazioni scientifiche hanno evidenziato la necessità di monitorare attentamente l'esposizione complessiva a tali additivi e ai possibili composti N-nitrosati (in particolare nitrosammine) che possono derivarne,

sottolineandone la pericolosità. Questo ha portato ad una revisione normativa sull'uso di questi additivi e ad un adattamento da parte delle aziende, con la riduzione dei livelli impiegati, per far fronte alle nuove analisi e ai nuovi dati a disposizione, mantenendo comunque la sicurezza microbiologica del prodotto. Bisogna tenere a mente che la riduzione dei nitriti non può essere affrontata come una semplice sottrazione di un ingrediente, la funzione antimicrobica del nitrito è parte integrante del sistema di barriere complessivo. Di conseguenza la diminuzione di questa barriera chimica richiede un rafforzamento delle altre barriere (pH, sale, aW, gestione del processo e microflora tecnologica), validato con un approccio scientifico e, quando necessario, con challenge test. Nel Salame Mantovano, non subendo trattamenti termici, la sua sicurezza e qualità finale, si basa su un equilibrio tra fermentazione e stagionatura, la capacità di ottenere un rapido raggiungimento del pH target nelle prime fasi potrebbe rappresentare un elemento chiave per compensare eventuali riduzioni future di nitriti, senza alterare la tipicità del prodotto. Bisogna tenere a mente che i nitriti hanno anche una funzione tecnologica, mantengono il colore rosso tipico del Salame Mantovano, a livello commerciale è punto molto importante per la commercializzazione del mio prodotto, perché è la prima cosa che viene notata dal consumatore, in un'ottica di standardizzazione anche questo aspetto è da tenere in considerazione, oltre al profilo aromatico anche come si presenta il prodotto ha la sua rilevanza e aiuta a fidelizzare il cliente.

Ipotesi sperimentale

Il presente lavoro si fonda sull'ipotesi che un maggiore controllo della cinetica di acidificazione possa rappresentare una strategia tecnologica concreta per sostenere la sicurezza e la stabilità del salume in uno scenario di progressiva riduzione di nitrati/nitriti. In particolare, si ipotizza che la modulazione dell'apporto di destrosio, fornendo quantità differenti di substrato fermentescibile agli starter, consenta di regolare la velocità di produzione di acido lattico e quindi il tempo necessario per raggiungere un pH target nelle prime fasi di fermentazione.

L'ipotesi sperimentale può essere sintetizzata in tre punti:

1. Aumentare la quota di destrosio aumenta la disponibilità di substrato per i LAB e determina una acidificazione più rapida nelle prime 24–48 ore, riducendo la finestra temporale favorevole allo sviluppo di microflora indesiderata.
2. Esiste un intervallo ottimale di acidificazione: un pH che raggiunge il target in tempi compatibili con la sicurezza senza provocare sovra-acidificazione e penalizzare qualità sensoriale e maturazione aromatica.
3. In un quadro di riduzione di nitrati/nitriti, una fermentazione più prevedibile e un controllo più marcato del pH possono contribuire a compensare parzialmente la minore barriera chimica, rafforzando il sistema di hurdle technology complessivo.

OBIETTIVO DELLA TESI

La presente tesi si propone di valutare l'efficacia della modulazione dell'apporto di destrosio nel controllo della cinetica di acidificazione del Salame Mantovano durante le prime fasi di fermentazione, in un contesto produttivo orientato alla progressiva riduzione di nitrati e nitriti secondo le recenti indicazioni normative. In particolare, lo studio mira a confrontare tre differenti condizioni produttive — utilizzo di sole colture starter, starter associato a 50 g/100 kg di destrosio e starter associato a 100 g/100 kg di destrosio — al fine di verificare il raggiungimento del pH target (5,2–5,3) entro le prime 48 ore di processo. L'obiettivo è analizzare l'influenza della concentrazione di zuccheri fermentescibili sulla velocità di acidificazione, sulla stabilità microbiologica e sui principali parametri chimico-fisici del prodotto, valutandone le implicazioni in termini di sicurezza alimentare, qualità tecnologica e potenziale compensazione alla riduzione degli additivi conservanti tradizionalmente impiegati nei salumi fermentati.

MATERIALI E METODI

1. Disegno sperimentale

Lo studio è stato effettuato per avere un maggior controllo sulla cinetica di acidificazione per adattarsi alla riduzione di nitrati e nitriti previsti dal Regolamento (UE) 2023/2108, attraverso l'aggiunta di colture starter all'impasto e modulando la quantità di destrosio per venire incontro agli obiettivi di pH prefissati.

Sono state effettuate 3 prove così suddivise:

1. Impasto con solo l'aggiunta di starter senza destrosio
2. Impasto con l'aggiunta di starter + 50g/100kg di destrosio
3. Impasto con l'aggiunta di starter + 100g/100kg di destrosio

Le tre prove sono state effettuate in maniera indipendente, per ognuna delle 3 prove è stato effettuato anche un impasto senza l'aggiunta di starter per il confronto, la quantità di starter utilizzata è stata mantenuta sempre costante secondo le dosi fornite dal fornitore.

Prova	Starter	Destrosio
Prova 0	No	No
Prova 1	Si	No
Prova 2	Si	50g/100kg di impasto
Prova 3	Si	100g/100kg di impasto

Tabella 2: Schema riassuntivo prove

Le variabili di processo (temperatura, umidità, tempi di asciugatura e stagionatura) sono state mantenute costanti secondo i parametri previsti dal protocollo produttivo validato nello stabilimento.

2. Processo produttivo

Il processo produttivo adottato riproduce il diagramma di flusso ufficiale per la produzione del salame riportato nel Piano HACCP aziendale.

Le fasi considerate sono:

1. Approvvigionamento carni
2. Stoccaggio in cella refrigerata
3. Approvvigionamento sussidiarie
4. Macinatura
5. Dosaggio ingredienti e additivi
6. Impasto
7. Insacco e legatura
8. Sgocciolamento e asciugatura
9. Stagionatura
10. Etichettatura ed eventuale confezionamento
11. Stoccaggio prodotto confezionato
12. Spedizione

2.1 Materie prime

Le materie prime impiegate per la produzione del Salame Mantovano comprendono carni suine, ingredienti tecnologici, additivi e materiali di insacco.

La componente carnea deriva esclusivamente da lavorazione aziendale interna effettuata presso lo stesso stabilimento. In particolare, le linee produttive dedicate alla rifilatura di coppe e pancette forniscono al reparto salumificio triti e “carnette” ottenuti dalle operazioni di rifilatura e sagomatura dei tagli anatomici. Tali frazioni carnee vengono raccolte per lotto omogeneo, identificate e trasferite al reparto salumificio nel rispetto delle procedure aziendali di tracciabilità. Le carni sono mantenute in cella refrigerata ($\leq +7$ °C) fino al momento della macinatura, al fine di contenere la proliferazione microbica e preservare le caratteristiche tecnologiche della materia prima, in conformità alle procedure di autocontrollo aziendali.

Gli ingredienti tecnologici comprendono sale (NaCl), spezie e destrosio, utilizzati secondo ricetta aziendale. Gli additivi impiegati sono nitrito di sodio (E250) e nitrato di potassio (E252), dosati nel rispetto dei limiti normativi vigenti e delle procedure di controllo interne, con particolare riferimento al CCP relativo al dosaggio degli additivi. Tutti gli ingredienti e additivi sono sottoposti a controllo documentale in accettazione (schede tecniche, dichiarazioni di conformità, eventuali certificazioni analitiche) e gestiti secondo sistema di qualifica fornitori.

Per l'insacco sono stati utilizzati budelli naturali suini, preventivamente sottoposti a trattamento di ammollo in acqua e aceto per almeno 12 ore e successivo risciacquo, al fine di garantire idratazione, elasticità e riduzione della carica superficiale. I budelli sono gestiti come materiale a diretto contatto con l'alimento e, pertanto, rientrano tra le materie prime soggette a controllo di idoneità e tracciabilità. L'insieme delle materie prime è stato gestito nel rispetto delle procedure di prerequisito (GMP, SSOP, controllo temperature, qualifica fornitori, tracciabilità interna), assicurando coerenza con il sistema HACCP aziendale e garantendo la riproducibilità delle condizioni di processo tra le tre prove sperimentali.

2.2 Preparazione impasto

La preparazione dell'impasto è stata effettuata secondo il processo produttivo aziendale, mantenendo costanti tutte le variabili tecnologiche ad eccezione della concentrazione di destrosio prevista dal disegno sperimentale. Gli ingredienti sono stati pesati mediante l'utilizzo di bilance tarate secondo le procedure aziendali; la formulazione dell'impasto prevede:

- Trito di pancetta, proveniente dalla linea interna di rifilatura di pancettoni
- Sale
- Spezie e aromi
- Additivi: nitrato di potassio (E252) e nitrito di sodio (E250)
- Starter
- Destrosio

Gli ingredienti secchi sono stati pesati mediante bilance tarate e successivamente aggiunti all'impasto durante la fase di trasferimento del trito dal tritacarne all'impastatrice. La distribuzione degli ingredienti è avvenuta in modo uniforme lungo il nastro trasportatore che collega le due attrezzature, al fine di garantire una corretta omogeneizzazione della concia all'interno dell'impasto prima della fase di miscelazione.

È stata misurata temperatura e pH di tutti e 3 gli impasti all'uscita dall'impastatrice, prima della fase di insacco:

Prove	Temperatura	pH
Prova 1 (solo starter)	+ 1.5°C	5.83
Prova 2 (starter+50g/100kg destrosio)	+ 1.8°C	5.80
Prova 3(starter+100g/100kg destrosio)	+ 1.4°C	5.82

Tabella 3: Valori di temperatura e pH degli impasti rilevati all'uscita dall'impastatrice.

Le carni utilizzate per la preparazione dell'impasto provenivano dalla lavorazione interna della giornata precedente nella linea di rifilatura delle pancette e sono state mantenute in cella di

refrigerazione fino al momento della trasformazione. L'impiego di materia prima a bassa temperatura rappresenta una pratica tecnologica consolidata nella produzione dei salumi insaccati, in quanto consente di mantenere una maggiore compattezza della matrice carnea, in particolare della frazione lipidica. Temperature più elevate durante la lavorazione possono infatti favorire un ammorbidimento del grasso, che tende a diventare più plastico e pastoso, con possibili problematiche operative, quali maggiore adesione alle superfici delle attrezzature, accumulo di residui nei macchinari e minore efficienza delle operazioni di macinatura e impasto. Il mantenimento di temperature prossime a 0–2 °C consente quindi di migliorare la lavorabilità della materia prima e di garantire una migliore struttura dell'impasto.

I valori di pH iniziale degli impasti risultano comparabili tra le tre prove, indicando condizioni di partenza sostanzialmente omogenee prima dell'avvio della fermentazione e consentendo quindi di attribuire eventuali differenze osservate durante il processo alla diversa concentrazione di destrosio prevista dal piano sperimentale.

2.3 Insacco e legatura

Al termine della fase di impasto, il prodotto è stato trasferito all'insacatrice e insaccato in budelli naturali suini precedentemente preparati mediante ammollo in acqua e aceto con successivo risciacquo, al fine di garantirne l'idratazione e l'elasticità necessarie alla fase di riempimento. L'insacco è stato effettuato mediante insacatrice automatica, assicurando un riempimento uniforme del budello. Successivamente i salami sono stati sottoposti a legatura manuale, foratura e posizionati su appositi telai, dove sono stati mantenuti sospesi per le successive fasi di sgocciolamento, asciugatura e stagionatura.

2.4 Fasi tecnologiche

Dopo la fase di insacco e legatura, i salami sono stati trasferiti nelle celle di maturazione per l'avvio delle successive fasi tecnologiche del processo produttivo, costituite da:

- tempera,
- sgocciolamento,
- asciugatura,
- stagionatura.

Il controllo delle condizioni ambientali di temperatura e umidità è stato effettuato mediante il sistema di monitoraggio delle celle previsto dalle procedure aziendali di controllo delle temperature, che consente la registrazione continua dei parametri ambientali e l'attivazione di eventuali sistemi di allarme in caso di superamento delle soglie impostate.

1. **Tempera:** subito dopo l'insacco, i salami sono stati sottoposti ad una breve fase di tempera, durante la quale i prodotti sono stati mantenuti per circa 12 ore a una temperatura di circa +2 °C con umidità relativa del 75–80%. Questa fase consente di mantenere il prodotto a bassa temperatura nelle prime ore successive all'insacco, favorendo una stabilizzazione iniziale dell'impasto e una distribuzione uniforme dell'umidità all'interno del salame.
2. **Sgocciolamento:** successivamente i salami sono passati alla fase di sgocciolamento, mantenendo i prodotti sospesi su appositi telai all'interno della cella di asciugatura. In questa fase il prodotto è stato mantenuto a una temperatura di circa 18–19 °C con umidità relativa compresa tra 85 e 88% per circa 12 ore, condizioni che favoriscono la fuoriuscita di eventuali liquidi residui e l'avvio dell'attività fermentativa dei batteri lattici presenti nell'impasto.
3. **Asciugatura:** dopo lo sgocciolamento ha avuto inizio la fase di asciugatura, caratterizzata da una progressiva riduzione della temperatura e da una regolazione dell'umidità relativa. L'asciugatura è stata condotta mediante un programma graduale che ha previsto temperature comprese tra 18 °C e 10–12 °C e umidità relativa variabile tra 65% e 85%, per una durata complessiva di circa 5–6 giorni. Durante questa fase si verifica una progressiva perdita di umidità dalla superficie del prodotto, con conseguente formazione della crosta superficiale e stabilizzazione della struttura dell'impasto. Parallelamente prosegue l'attività metabolica dei batteri lattici, con progressiva diminuzione del pH.
4. **Stagionatura:** al termine dell'asciugatura i salami sono stati trasferiti nelle celle di stagionatura, dove sono stati mantenuti a temperatura controllata compresa tra 10 e 13 °C e con umidità relativa tra 70 e 80% per un periodo complessivo di circa 60-70 giorni.

I valori di tempo, temperatura e umidità delle celle di asciugatura sono regolati tramite un programma automatico di asciugatura suddiviso in sette fasi successive, gestito dal sistema informatico aziendale. Tale programma consente di controllare in modo progressivo le condizioni ambientali della cella, favorendo una corretta perdita di umidità del prodotto e il regolare andamento della fermentazione.

Fase	Tempo	Temperatura	Umidità
1 Tempera	12 h	+2 °C	75-80 %
2 Sgocciolatura	12 h	+19 °C	85-88 %
3 Asciugatura	12 h	+18 °C	65-70 %
4 Asciugatura	24 h	+16 °C	70-75 %
5 Asciugatura	24 h	+12 °C	72-78 %
6 Asciugatura	24 h	+14 °C	75-85 %
7 Asciugatura	48 h	+10 °C	70-85 %

Tabella 4: Programma di asciugatura applicato nelle celle.

Il programma di asciugatura è stato impostato in modo da favorire una progressiva riduzione dell'umidità superficiale del prodotto, evitando fenomeni di crosta precoce e garantendo condizioni idonee allo sviluppo della fermentazione lattica nelle prime fasi del processo.

3. Piano di campionamento

Al fine di monitorare l'evoluzione microbiologica e chimico-fisica del prodotto durante il processo produttivo del salame mantovano, è stato definito un piano di campionamento basato sul protocollo di convalida aziendale del processo produttivo. Il piano ha previsto il prelievo di campioni in differenti fasi della lavorazione, dalla preparazione dell'impasto fino alle fasi iniziali di stagionatura, al fine di valutare l'andamento dei principali parametri microbiologici e chimico-fisici durante il processo di maturazione. In fase di insacco sono stati inoltre effettuati tre campionamenti dell'impasto direttamente all'uscita dell'insacatrice, rispettivamente all'inizio, a metà e al termine della produzione, al fine di verificare l'omogeneità dell'impasto e la corretta distribuzione degli ingredienti.

Piano di campionamento adottato:

Tempo di campionamento	Fase del processo	Analisi effettuate
T0	Post-tritacarne	Analisi microbiologiche e chimico/fisiche
T0	Post-impasto	Analisi microbiologiche e chimico/fisiche
24 h	Fermentazione	Misurazione pH
48 h	Fermentazione	Misurazione pH
Fine asciugatura	Fine asciugatura	Analisi microbiologiche e chimico/fisiche
30 giorni	Stagionatura	Analisi microbiologiche e chimico/fisiche
60 giorni	Stagionatura	Analisi microbiologiche e chimico/fisiche

Tabella 5: Piano di campionamento adottato durante il processo produttivo del salame mantovano.

4. Analisi effettuate

I campioni prelevati nei diversi punti del processo produttivo sono stati sottoposti ad analisi microbiologiche e chimico-fisiche al fine di monitorare l'evoluzione delle caratteristiche microbiologiche e tecnologiche del prodotto durante le fasi di fermentazione, asciugatura e stagionatura. Le analisi sono state effettuate presso un laboratorio esterno accreditato Accredia secondo metodi standardizzati. I metodi analitici utilizzati sono riportati nei seguenti 2 sottoparagrafi..

4.1 Parametri microbiologici

Le analisi microbiologiche sono state effettuate al fine di valutare l'evoluzione della flora microbica durante il processo di fermentazione e maturazione del salame mantovano.

Parametro	Metodologia utilizzata
Microrganismi aerobi a 20 °C (CBT)	NMKL No. 86 (5th Ed., 2013)
Batteri lattici mesofili	ISO 15214:1998
Clostridi solfito-riduttori	ISO 15213-1:2023
Coliformi totali	ISO 4832:2006
Lieviti	ISO 21527-2:2008
Pseudomonas spp.	ISO 13720:2010
Listeria monocytogenes	MPI-060-R08.21 (qPCR)
Listeria monocytogenes	AFNOR AES 10/05-09/06
Salmonella spp	AFNOR UNI 03/06-12/07

Tabella 6: Metodi analitici utilizzati nello studio per analisi microbiologica

4.2 Parametri chimici

Oltre alle analisi microbiologiche sono stati determinati diversi parametri chimico-fisici al fine di monitorare l'evoluzione delle caratteristiche tecnologiche del prodotto.

Parametro	Metodologia utilizzata
pH	NMKL No. 179 (2005)
Attività dell'acqua (aW)	ISO 18787:2017
Sodio (Na)	NMKL No. 186 (2007)
Sale (NaCl)	Metodo di calcolo
Nitriti (NO ₂ ⁻)	MPI-018-R05.23
Nitrati (NO ₃ ⁻)	MPI-018-R05.23
Aldeide malonica (TBA)	MPI-114-R01.21

Tabella 7: Metodi analitici utilizzati nello studio per analisi chimico/fisica

Le analisi microbiologiche e chimico-fisiche sono state effettuate sui campioni previsti dal piano di campionamento nelle diverse fasi del processo produttivo. La ricerca di *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. è stata eseguita esclusivamente nelle fasi iniziali della produzione, fino al termine della fase di asciugatura, in quanto tali microrganismi rappresentano i principali patogeni di interesse nelle prime fasi di lavorazione dei prodotti carnei fermentati.

Nelle fasi successive della stagionatura, la crescita e la sopravvivenza di microrganismi patogeni risultano progressivamente limitate dalla combinazione di diversi fattori tecnologici tipici dei salumi fermentati, tra cui la riduzione del pH dovuta all'attività dei batteri lattici, la diminuzione dell'attività dell'acqua (aW) conseguente alla perdita di umidità durante la maturazione, la presenza di sale e di nitriti/nitrati e la competizione microbica esercitata dalla flora lattica dominante. Nelle fasi più avanzate della maturazione l'attenzione analitica si concentra principalmente sull'evoluzione della flora microbica tecnologica e sui parametri chimico-fisici del prodotto, quali pH e attività dell'acqua,

che rappresentano indicatori fondamentali del corretto andamento del processo fermentativo e della stabilità microbiologica dei salumi stagionati.

4.3 Analisi sensoriale

Al fine di valutare eventuali differenze nelle caratteristiche organolettiche del prodotto, è stata effettuata una valutazione sensoriale comparativa tra salami prodotti con l'aggiunta di colture starter e salami prodotti senza l'impiego di starter. La valutazione è stata effettuata mediante osservazione diretta e degustazione del prodotto stagionato. L'analisi non è stata condotta mediante un panel sensoriale addestrato, ma ha avuto carattere comparativo, con l'obiettivo di evidenziare eventuali differenze percepibili tra le due tipologie di prodotto. Sono stati presi in considerazione i principali parametri sensoriali tipici dei salumi fermentati stagionati: aspetto visivo, caratteristiche olfattive e caratteristiche gustative.

Il panel ha utilizzato la seguente scheda di valutazione, i campioni sono stati codificati come A (salame con colture starter) e B (salame senza colture starter) al fine di evitare il riconoscimento diretto dei prodotti durante la degustazione. Tra un assaggio e il successivo ai valutatori è stato richiesto di bere un piccolo quantitativo di acqua, con lo scopo di detergere il palato e ridurre eventuali interferenze sensoriali tra i campioni.

Scheda di valutazione sensoriale comparativa – Salame Mantovano

Prodotto: Salame Mantovano

Data di valutazione:.....

Valutatore:.....

Stagionatura (giorni):

Parametro sensoriale	Differenze percepite	Note
Aspetto esterno	<input type="checkbox"/>	
Colore della fetta	<input type="checkbox"/>	
Aroma	<input type="checkbox"/>	
Presenza di odori anomali	<input type="checkbox"/>	
Sapore	<input type="checkbox"/>	
Sapidità	<input type="checkbox"/>	
Consistenza-masticabilità	<input type="checkbox"/>	
Valutazione generale		
Parametro	Campione A	Campione B
Qualità complessiva percepita	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tipicità del prodotto	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Preferenza complessiva	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Osservazioni generali:

Figura 1: Scheda di valutazione sensoriale del salame mantovano

5. Analisi statistica

I dati ottenuti dalle analisi sono stati elaborati mediante analisi statistica al fine di valutare eventuali differenze tra le diverse condizioni sperimentali e descrivere l'evoluzione dei parametri analizzati durante le diverse fasi del processo produttivo. È stata posta una particolare attenzione ai valori di pH, parametro fondamentale per la valutazione della cinetica di acidificazione dell'impasto durante le prime fasi di fermentazione. I valori di pH sono stati ottenuti con due differenti modalità di misura: registrazione continua tramite pHmetro fisso inserito nell'impasto durante la fase di fermentazione e misurazioni puntuali effettuate mediante pHmetro portatile direttamente sul prodotto. In quest'ultimo caso le determinazioni sono state effettuate in tre punti del salame (testa, porzione centrale e parte terminale) al fine di valutare eventuali variazioni del pH all'interno del prodotto. Per

ogni tempo di campionamento il valore di pH è stato espresso come media delle tre determinazioni effettuate sui diversi punti del campione.

È stato fatto un confronto tra le medie dei valori di pH dei vari campioni previsti dal piano sperimentale:

1. Campione con ricetta standard senza starter e destrosio
2. Campione con aggiunta di starter
3. Campione con aggiunta di starter + destrosio (50g/100kg di carne)
4. Campione con aggiunta di starter + destrosio (100g/100kg di carne)

Per i valori di pH è stata anche applicata l'analisi della varianza (ANOVA) a una via, al fine di verificare la presenza di differenze statisticamente significative tra le diverse condizioni sperimentali, la valutazione è stata effettuata considerando esclusivamente i campioni contenenti coltura starter, tenendo come variabile la concentrazione di destrosio.

L'andamento della fermentazione è stato inoltre valutato attraverso la rappresentazione grafica della cinetica di acidificazione, riportando i valori di pH in funzione del tempo di fermentazione (0, 24 e 48 ore) per ciascuna prova sperimentale. Le elaborazioni statistiche sono state effettuate utilizzando il software Microsoft Excel, considerando un livello di significatività pari a $\alpha < 0,05$. Le misurazioni di pH effettuate nei tre punti del prodotto (testa, centro e fondo) sono state considerate repliche tecniche, rappresentative della variabilità all'interno di uno stesso salame, per le diverse condizioni sperimentali, non repliche indipendenti di produzione.

Per quanto riguarda gli altri parametri microbiologici e chimico-fisici determinati mediante analisi di laboratorio, in considerazione della diversa numerosità dei campioni disponibili nelle varie fasi del processo, è stata adottata prevalentemente un'analisi descrittiva dei dati. Le analisi di laboratorio sono state effettuate solo su due tipologie di prodotto: il campione standard ottenuto senza l'impiego di colture starter e il campione ottenuto con l'aggiunta di colture starter e 100 g/100 kg di destrosio. I risultati sono stati quindi confrontati tra queste due condizioni sperimentali al fine di evidenziare eventuali differenze microbiologiche e chimico-fisiche durante le diverse fasi di maturazione del prodotto. L'analisi dei dati ha consentito di descrivere l'evoluzione dei principali parametri microbiologici e chimico-fisici durante il processo di fermentazione e stagionatura, evidenziando l'influenza delle colture starter e dell'aggiunta di zuccheri fermentescibili sul controllo della fermentazione e sulla stabilità microbiologica del prodotto.

RISULTATI

1. Andamento del pH nelle prime 48 ore

L'andamento del pH durante le prime fasi della fermentazione rappresenta un parametro importante per valutare la cinetica di acidificazione dell'impasto e l'efficacia delle colture starter. Una rapida diminuzione del pH nelle prime ore di fermentazione contribuisce infatti alla stabilizzazione microbiologica del prodotto, limitando lo sviluppo di microrganismi indesiderati.

Nel presente studio l'evoluzione del pH è stata monitorata nelle prime 48 ore di fermentazione in quattro diverse condizioni produttive:

- Produzione standard senza aggiunta di starter e destrosio
- Prova 1, con aggiunta di starter
- Prova 2, con aggiunta di starter + destrosio (50g/100kg)
- Prova 3, con aggiunta di starter + destrosio (100g/100kg)

I valori di pH misurati nelle 48 ore sono riportati nella Tabella 8, mentre la Figura 2 mostra il grafico comparativo della cinetica di acidificazione nelle diverse prove.

Andamento del pH delle 3 prove nelle prime 48 ore di fermentazione				
Tempo (h)	Controllo (senza starter)	Prova 1 (Starter)	Prova 2 (starter + destrosio 50g)	Prova 3 (starter + destrosio 100g)
0	5,83	5,85	5,80	5,82
24	5,77	5,58	5,60	5,43
48	5,71	5,42	5,41	5,22

Tabella 8: Andamento del pH nelle prime 48 ore di fermentazione

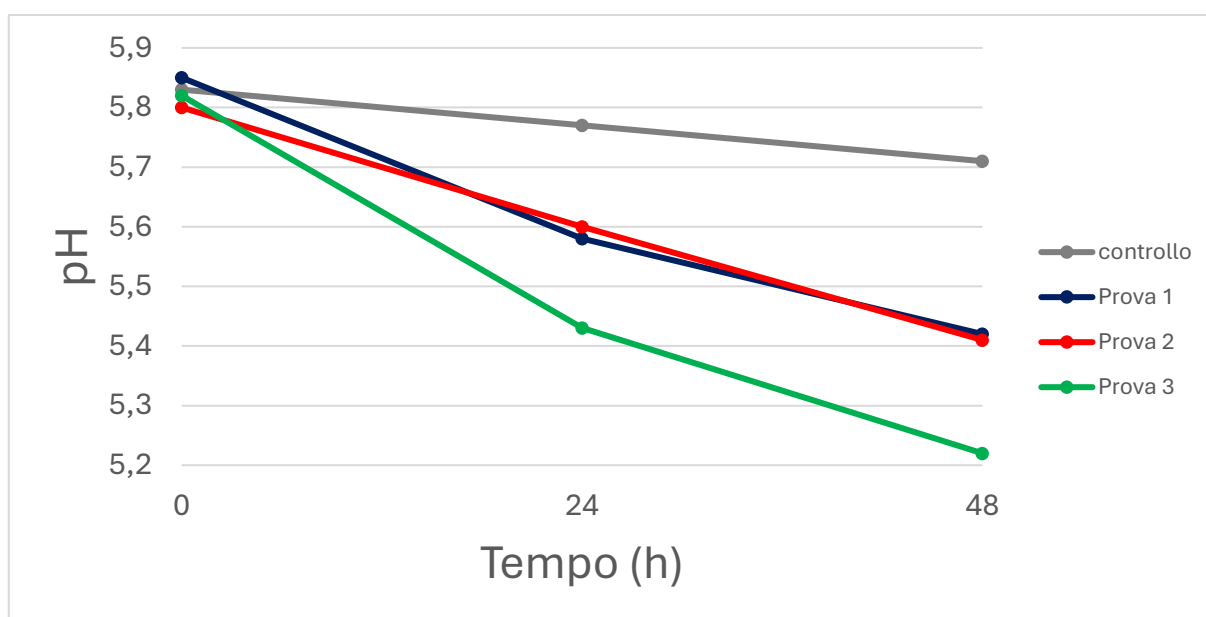


Figura 2: Andamento del pH nelle diverse prove sperimentali durante le prime 48 ore di fermentazione

Dal confronto delle medie emerge come l'aggiunta delle colture starter e la disponibilità di zuccheri fermentescibili influenzino significativamente la velocità di acidificazione dell'impasto. Nel campione di controllo, ottenuto senza l'impiego di colture starter, l'abbassamento del pH risulta più lento e meno pronunciato, passando da valori iniziali di circa 5,8 a valori di circa 5,7 dopo 48 ore, indicando una fermentazione più graduale dovuta esclusivamente all'attività della microflora naturale presente nelle materie prime e nell'ambiente di lavorazione. Nelle prove con aggiunta di colture starter si osserva invece una riduzione più marcata del pH già nelle prime 24 ore di fermentazione, segno di una maggiore attività dei batteri lattici. In particolare, la prova con aggiunta di 100 g/100 kg di destrosio (Prova 3) ha mostrato una acidificazione più rapida, con una riduzione del pH fino a valori prossimi a 5,2 dopo 48 ore. Questo risultato evidenzia come una maggiore disponibilità di zuccheri fermentescibili favorisca la produzione di acido lattico da parte dei batteri lattici, accelerando il processo di acidificazione dell'impasto. Le prove con sola aggiunta di starter (Prova 1) e con starter associato a 50 g/100 kg di destrosio (Prova 2) mostrano un andamento intermedio, con valori di pH finali intorno a 5,4 dopo 48 ore, indicando una fermentazione efficace ma meno rapida rispetto alla prova con maggiore concentrazione di destrosio. I risultati evidenziano come la combinazione tra colture starter e disponibilità di zuccheri fermentescibili rappresenti un fattore determinante per il controllo della fermentazione nei salumi crudi stagionati, favorendo il raggiungimento del pH target (circa 5,2–5,3) nelle prime fasi del processo e contribuendo alla stabilità microbiologica del prodotto.

Analisi statistica dei valori di pH

I valori di pH ottenuti nelle prime 48 ore di fermentazione sono stati confrontati tra le diverse condizioni sperimentali mediante analisi della varianza (ANOVA) a una via. In questa fase è stato escluso il campione standard, privo di colture starter e destrosio, al fine di valutare esclusivamente l'eventuale presenza di differenze nella fermentazione in funzione della diversa concentrazione di destrosio, mantenendo costanti gli altri parametri di processo. I valori di pH utilizzati per l'analisi statistica sono riportati nella Tabella 9 e corrispondono alle misurazioni effettuate nei tre punti di campionamento del salame (testa, centro e fondo) ai diversi tempi di fermentazione (0, 24 e 48 ore).

Punto di campionamento	Tempo (h)	Prova 1 (Starter)	Prova 2 (Starter+ destrosio 50g)	Prova 3 (Starter+ destrosio 100g)
testa	0	5,87	5,81	5,82
centro	0	5,85	5,77	5,84
fondo	0	5,86	5,83	5,79
testa	24	5,55	5,6	5,45
centro	24	5,6	5,58	5,41
fondo	24	5,58	5,61	5,42
testa	48	5,41	5,38	5,22
centro	48	5,4	5,43	5,21
fondo	48	5,45	5,42	5,24

Tabella 9: Valori di pH misurati nelle diverse prove sperimentali durante le prime 48 ore di fermentazione del salame mantovano.

L'analisi statistica è stata applicata ai valori di pH riportati nella Tabella 9. I dati sono stati analizzati separatamente per ciascun tempo di campionamento (0, 24 e 48 ore), al fine di verificare la presenza di eventuali differenze statisticamente significative tra le diverse prove sperimentali caratterizzate da differente concentrazione di destrosio. Per ogni tempo di fermentazione è stata quindi eseguita un'analisi della varianza (ANOVA) a una via sui valori misurati nei tre punti di campionamento del salame (testa, centro e fondo).

Tempo	F	Valore di significatività	F crit
0	4,74	0,058229208	5,143253
24	59,76923	0,000109175	5,143253
48	45,71429	0,005662742	9,552094

Tabella 10: Risultati dell'ANOVA a una via sui valori di pH ai diversi tempi di fermentazione.

Al tempo 0 l'analisi statistica non evidenzia differenze statisticamente significative tra le tre prove sperimentali ($p = 0,058$). Il valore di F ottenuto (4,74) risulta infatti inferiore al valore critico ($F_{crit} = 5,14$), indicando che i valori di pH dei diversi impasti risultano sostanzialmente comparabili prima dell'avvio della fermentazione. Questo risultato è coerente con il fatto che gli impasti presentano composizione e condizioni iniziali simili e che la fermentazione non ha ancora avuto luogo. Dopo 24

ore di fermentazione emergono invece differenze significative tra le diverse condizioni sperimentali ($p < 0,001$). In questo caso il valore di F (59,77) risulta ampiamente superiore al valore critico ($F_{crit} = 5,14$), evidenziando un effetto marcato della concentrazione di destrosio sulla cinetica di acidificazione dell'impasto. Anche a 48 ore di fermentazione le differenze tra le prove risultano statisticamente significative ($p = 0,0056$). Il valore di F (45,71) è infatti superiore al valore critico ($F_{crit} = 9,55$), confermando che la concentrazione di destrosio continua a influenzare l'andamento dell'acidificazione nelle fasi successive della fermentazione. Nel complesso, i risultati dell'analisi statistica confermano che la concentrazione di destrosio rappresenta un fattore determinante nel modulare la velocità di acidificazione nelle prime fasi della fermentazione del salame mantovano. Al fine di valutare in maniera più diretta l'entità dell'acidificazione dell'impasto durante le prime fasi della fermentazione, è stata inoltre calcolata la variazione di pH (ΔpH) tra il tempo iniziale e 48 ore di fermentazione.

Prova	pH medio 0h	pH medio 48h	ΔpH
Prova 1	5,86	5,42	0,44
Prova 2	5,80	5,41	0,39
Prova 3	5,82	5,22	0,60

Tabella 11: Variazione di pH (ΔpH) tra 0 e 48 ore nelle diverse prove sperimentali.

La variazione complessiva di pH tra 0 e 48 ore evidenzia come la prova caratterizzata dalla maggiore concentrazione di destrosio (100 g/100 kg) mostri la più elevata riduzione del pH ($\Delta pH = 0,60$), indicando una più rapida acidificazione dell'impasto. Le prove con concentrazione inferiore di destrosio presentano invece una variazione di pH più contenuta. Questi risultati confermano che la disponibilità di zuccheri fermentescibili rappresenta un fattore determinante nel modulare la velocità di acidificazione durante le prime fasi della fermentazione del salame mantovano.

Le analisi microbiologiche e chimico-fisiche sono state effettuate esclusivamente su due tipologie di prodotto: il campione di controllo ottenuto senza l'impiego di colture starter e il campione ottenuto con l'aggiunta di colture starter e 100 g/100 kg di destrosio. La scelta è stata effettuata sulla base dei risultati preliminari relativi alla cinetica di acidificazione, che hanno evidenziato come questa condizione sperimentale fosse l'unica in grado di raggiungere il pH target (5,2–5,3) entro le prime 48 ore di fermentazione, considerato parametro fondamentale per garantire la sicurezza e la stabilità microbiologica del prodotto. Le altre prove sperimentali, non avendo raggiunto tale valore di pH nel tempo previsto, non sono state ulteriormente sottoposte alle analisi microbiologiche e chimico-fisiche di laboratorio.

2. Evoluzione microbiologica

L'evoluzione microbica durante il processo di fermentazione e stagionatura è stata monitorata mediante analisi microbiologiche effettuate sui campioni prelevati nelle diverse fasi del processo produttivo. In particolare, sono stati valutati i principali gruppi microbici coinvolti nella fermentazione dei salumi, quali batteri lattici e carica batterica totale, oltre alla presenza di microrganismi indicatori e patogeni.

Batteri lattici LAB

L'andamento della popolazione dei LAB nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano è riportato nella Tabella 12, confrontando i campioni ottenuti con e senza l'impiego di colture starter.

Batteri lattici (UFC/g)		
Tempo	Con starter	Senza starter
Impasto in uscita dal tritacarne	$4,60 \cdot 10^2$	$5,00E \cdot 10^1$
Impasto in uscita dall'insacatrice	$2,80 \cdot 10^6$	$1,03 \cdot 10^2$
Salame Mantovano in uscita dall'asciugatura	$1,22 \cdot 10^8$	$1,64 \cdot 10^7$
Salame Mantovano a 30 giorni di stagionatura	$8,00 \cdot 10^7$	$6,30 \cdot 10^6$
Salame Mantovano a 60 giorni di stagionatura	$1,90 \cdot 10^7$	$6,20 \cdot 10^6$

Tabella 12: Andamento della popolazione dei batteri lattici (UFC/g) nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano.

I risultati relativi alla popolazione di LAB evidenziano una differenza marcata tra i campioni prodotti con l'aggiunta di colture starter e quelli ottenuti senza inoculo. Nei campioni con starter la concentrazione di LAB risulta già elevata in uscita dall'insacatrice, con valori pari a $2,80 \cdot 10^6$ UFC/g, mentre nei campioni senza starter i valori risultano significativamente inferiori ($1,03 \cdot 10^2$ UFC/g). Durante la fase di asciugatura si osserva un ulteriore incremento della popolazione di LAB, che nei campioni con starter raggiunge valori pari a $1,22 \cdot 10^8$ UFC/g, mentre nei campioni senza starter si registrano valori pari a $1,64 \cdot 10^7$ UFC/g. Nel corso della stagionatura la popolazione di LAB tende progressivamente a stabilizzarsi, dopo 30 giorni di stagionatura i valori risultano pari a $8,00 \cdot 10^7$ UFC/g nei campioni con starter e $6,30 \cdot 10^6$ UFC/g nei campioni senza starter. Dopo 60 giorni di stagionatura si osservano valori pari a $1,90 \cdot 10^7$ UFC/g nei campioni con starter e $6,20 \cdot 10^6$ UFC/g nei campioni senza starter.

Nel complesso, i risultati evidenziano come l'inoculo delle colture starter favorisca una rapida crescita della microflora lattica nelle prime fasi del processo, contribuendo alla dominanza dei batteri lattici durante la fermentazione del prodotto.

Andamento CBT

L'andamento della carica batterica totale, determinata come microrganismi aerobi a 20 °C, nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano è riportato nella Tabella 13.

Microrganismi aerobi a 20 °C (UFC/g)		
Tempo	Con starter	Senza starter
Impasto in uscita dal tritacarne	$4,80 \cdot 10^3$	$1,30 \cdot 10^4$
Impasto in uscita dall'insacatrice	$4,80 \cdot 10^6$	$7,73 \cdot 10^3$
Salame Mantovano in uscita dall'asciugatura	$1,88 \cdot 10^8$	$7,30 \cdot 10^7$
Salame Mantovano a 30 giorni di stagionatura	$9,00 \cdot 10^7$	$1,30 \cdot 10^7$
Salame Mantovano a 60 giorni di stagionatura	$2,60 \cdot 10^7$	$3,30 \cdot 10^7$

Tabella 13: Andamento della popolazione dei microrganismi aerobi (UFC/g) nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano.

I risultati relativi alla carica batterica totale evidenziano un aumento significativo della popolazione microbica nelle prime fasi del processo, in particolare nei campioni inoculati con colture starter. Nei campioni con starter, infatti, si osserva un incremento della carica microbica già all'insacatrice, con valori pari a $4,80 \cdot 10^6$ UFC/g, mentre nei campioni senza starter i valori risultano inferiori ($7,73 \cdot 10^3$ UFC/g). Durante la fase di asciugatura si osserva un ulteriore incremento della popolazione microbica, con valori pari a $1,88 \cdot 10^8$ UFC/g nei campioni con starter e $7,30 \cdot 10^7$ UFC/g nei campioni senza starter. Nel corso della stagionatura la carica batterica totale tende progressivamente a stabilizzarsi, con valori pari a $9,00 \cdot 10^7$ UFC/g dopo 30 giorni e $2,60 \cdot 10^7$ UFC/g dopo 60 giorni nei campioni con starter, nei campioni senza starter si osservano valori pari a $1,30 \cdot 10^7$ UFC/g dopo 30 giorni e $3,30 \cdot 10^7$ UFC/g dopo 60 giorni di stagionatura.

Nel complesso, l'andamento della carica batterica totale risulta coerente con lo sviluppo della microflora fermentativa tipica dei salumi crudi stagionati. L'incremento osservato nelle prime fasi del processo è principalmente attribuibile alla crescita dei batteri lattici, che diventano progressivamente il gruppo microbico dominante durante la fermentazione.

Microrganismi indicatori

I microrganismi indicatori rappresentano un parametro utile per valutare le condizioni igienico-sanitarie del processo produttivo e l'eventuale presenza di contaminazioni durante le diverse fasi di lavorazione. In particolare, sono stati analizzati clostridi solfito riduttori, lieviti, *Pseudomonas* spp. e coliformi totali. I risultati relativi a tali microrganismi nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano sono riportati nella Tabella 14.

Microrganismi indicatori					
Tempo	Tipologia	Clostridi solfito riduttori UFC/g	Lieviti UFC/g	<i>Pseudomonas</i> spp UFC/g	Coliformi totali UFC/g
Impasto in uscita dal tritacarne	Con starter	<10	<10	<10	<10
	Senza starter	<10	<10	<10	<10
Impasto in uscita dall'insacatrice	Con starter	<10	presenti ma <40	<10	<10
	Senza starter	<10	presenti ma <40	<10	Stimate 90
Salame Mantovano in uscita dall'asciugatura	Con starter	<10	stimate 90	<10	presenti ma <40
	Senza starter	<10	7500	<10	350
Salame Mantovano a 30 giorni di stagionatura	Con starter	<10	9700	<10	<10
	Senza starter	<10	1,40E+04	<10	stimate 50
Salame Mantovano a 60 giorni di stagionatura	Con starter	<10	1,90E+04	<10	presenti ma <40
	Senza starter	<10	1,10E+04	<10	presenti ma <40

Tabella 14: Andamento dei principali microrganismi indicatori nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano.

I risultati evidenziano valori generalmente molto bassi per i microrganismi indicatori analizzati durante le diverse fasi del processo produttivo. In particolare, i clostridi solfito riduttori risultano inferiori ai limiti di rilevabilità (<10 UFC/g) in tutti i campioni analizzati. Anche per quanto riguarda *Pseudomonas* spp. i valori risultano inferiori ai limiti di rilevabilità nelle diverse fasi del processo produttivo. Per i coliformi totali si osservano valori generalmente molto bassi o prossimi ai limiti di rilevabilità. Alcuni campioni mostrano valori stimati o presenza in concentrazioni limitate, in particolare nelle prime fasi del processo o nei campioni senza starter. Per quanto riguarda i lieviti, si osserva una presenza limitata nelle prime fasi del processo, con un incremento nelle fasi successive di stagionatura, fenomeno tipico dei salumi crudi stagionati e associato allo sviluppo della microflora superficiale del prodotto.

Nel complesso, i risultati evidenziano buone condizioni igienico-sanitarie durante le diverse fasi di lavorazione del prodotto.

Microrganismi patogeni

La presenza di microrganismi patogeni è stata valutata nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano. Le analisi effettuate per la ricerca di *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* non hanno evidenziato la presenza di tali microrganismi nei campioni analizzati nelle diverse fasi del processo produttivo. L'assenza di microrganismi patogeni nei campioni analizzati conferma l'idoneità delle condizioni igienico-sanitarie del processo produttivo e l'efficacia delle barriere tecnologiche presenti nel prodotto.

3. Evoluzione chimica

Andamento nitrati e nitriti

L'andamento della concentrazione di nitrati e nitriti nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano è riportato nella Tabella 15

Nitrati e Nitriti			
Tempo	Tipologia	Nitrati mg/kg	Nitriti mg/kg
Impasto in uscita dal tritacarne	Con starter	Tracce	NR
	Senza starter	Tracce	NR
Impasto in uscita dall'insacchire	Con starter	71,9	42,3
	Senza starter	83,2	46,8
Salame Mantovano in uscita dall'asciugatura	Con starter	45,5	NR
	Senza starter	103	tracce
Salame Mantovano a 30 giorni di stagionatura	Con starter	5,1	NR
	Senza starter	64,7	NR
Salame Mantovano a 60 giorni di stagionatura	Con starter	tracce	NR
	Senza starter	tracce	NR

Tabella 15: Andamento della concentrazione di nitrati e nitriti nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano.

I risultati evidenziano una progressiva riduzione della concentrazione di nitrati nel corso del processo produttivo. Nei campioni con starter si osserva un valore pari a 71,9 mg/kg nella fase di uscita dall'insacchire, che diminuisce progressivamente fino a 5,1 mg/kg dopo 30 giorni di stagionatura e risulta successivamente presente solo in tracce dopo 60 giorni. Nei campioni senza starter si osservano valori iniziali più elevati (83,2 mg/kg), con una riduzione progressiva durante il processo fino a 64,7

mg/kg dopo 30 giorni di stagionatura e valori in tracce dopo 60 giorni. Per quanto riguarda i nitriti, questi risultano rilevabili principalmente nelle fasi iniziali del processo, con valori pari a 42,3 mg/kg nei campioni con starter e 46,8 mg/kg nei campioni senza starter nella fase di impasto in uscita dall'insacchiera. Nelle fasi successive i nitriti risultano inferiori ai limiti di rilevabilità o presenti solo in tracce.

Nel complesso, i risultati evidenziano una progressiva riduzione dei nitrati e dei nitriti durante il processo di fermentazione e stagionatura del prodotto.

Andamento attività dell'acqua (aW)

I valori di attività dell'acqua (aW) misurati nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano sono riportati nella Tabella 16.

Attività dell'acqua aW		
Tempo	Con starter	Senza starter
Impasto in uscita dal tritacarne	0,987	0,978
Impasto in uscita dall'insacchiera	0,973	0,982
Salame Mantovano in uscita dall'asciugatura	0,958	0,960
Salame Mantovano a 30 giorni di stagionatura	0,938	0,933
Salame Mantovano a 60 giorni di stagionatura	0,928	0,941

Tabella 16: Andamento dell'attività dell'acqua (aW) nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano.

I risultati evidenziano una progressiva riduzione dell'attività dell'acqua nel corso del processo produttivo. Nei campioni con starter si osserva un valore iniziale pari a 0,987 nella fase di impasto in uscita dal tritacarne, che diminuisce progressivamente fino a 0,928 dopo 60 giorni di stagionatura.

Un andamento analogo si osserva nei campioni senza starter, con valori pari a 0,978 nella fase iniziale e 0,941 dopo 60 giorni di stagionatura. La riduzione dell'attività dell'acqua nel corso della stagionatura è attribuibile alla progressiva perdita di umidità del prodotto durante le fasi di asciugatura e maturazione.

Nel complesso, i risultati evidenziano una progressiva diminuzione dell'attività dell'acqua durante la stagionatura del prodotto.

Stabilità ossidativa (Aldeide malonica)

La stabilità ossidativa del prodotto è stata valutata mediante la determinazione dell'aldeide malonica, uno dei principali prodotti secondari della ossidazione lipidica.

I valori di aldeide malonica rilevati nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano sono riportati nella Tabella 17.

Aldeide malonica mg/kg		
Tempo	Con starter	Senza starter
Impasto in uscita dal tritacarne	0,174	0,150
Impasto in uscita dall'insacatrice	0,068	0,090
Salame Mantovano in uscita dall'asciugatura	0,072	0,085
Salame Mantovano a 30 giorni di stagionatura	0,111	0,117
Salame Mantovano a 60 giorni di stagionatura	0,284	0,262

Tabella 17: Andamento della quantità di aldeide malonica nelle diverse fasi del processo produttivo del salame mantovano.

I risultati mostrano valori relativamente contenuti di aldeide malonica nelle fasi iniziali del processo produttivo. Nei campioni con starter si osserva un valore pari a 0,174 mg/kg nell'impasto in uscita dal tritacarne, un andamento simile si osserva anche nei campioni senza starter, con valori iniziali pari a 0,150 mg/kg e una progressiva variazione nel corso della maturazione del prodotto. Dopo 30 giorni di stagionatura i valori risultano simili tra le due tipologie di campione (0,111 mg/kg con starter e 0,117 mg/kg senza starter), mentre a 60 giorni si osserva un incremento dei valori, con concentrazioni pari a 0,284 mg/kg nei campioni con starter e 0,262 mg/kg nei campioni senza starter. L'incremento osservato durante la stagionatura può essere attribuito ai processi di ossidazione lipidica che avvengono nel corso della maturazione del prodotto. Tuttavia, i valori rilevati risultano complessivamente contenuti e indicano una buona stabilità ossidativa del salame mantovano durante il periodo di stagionatura considerato.

4. Confronto finale tra le prove

Al termine delle analisi è stato effettuato un confronto complessivo tra le diverse condizioni sperimentali al fine di valutare l'influenza dell'impiego delle colture starter e della concentrazione di destrosio sul processo di fermentazione del salame mantovano.

L'analisi dell'andamento del pH nelle prime 48 ore ha evidenziato differenze rilevanti tra le prove. In particolare, il campione con 100 g/100 kg di destrosio ha mostrato la riduzione più marcata del pH ($\Delta\text{pH} \approx 0,60$), indicando una fermentazione più rapida rispetto alle altre condizioni, mentre il controllo ha evidenziato un abbassamento più lento. Dal punto di vista microbiologico, l'impiego delle colture starter ha determinato una più rapida crescita dei batteri lattici mesofili, favorendo una più veloce acidificazione e una maggiore stabilità del processo. Nei campioni senza starter, la crescita della microflora lattica è risultata più lenta e meno uniforme. La carica batterica totale ha mostrato un incremento nelle fasi iniziali, seguito da una progressiva stabilizzazione durante la stagionatura. I microrganismi indicatori sono risultati complessivamente contenuti durante tutto il processo. In particolare, clostridi solfito-riduttori e *Pseudomonas* spp. sono risultati inferiori al limite di rilevabilità, mentre i coliformi sono stati rilevati solo nelle fasi iniziali, con successiva riduzione durante la maturazione. Per quanto riguarda i parametri chimico-fisici, si osserva una progressiva riduzione di nitrati e nitriti durante la stagionatura, una diminuzione dell'attività dell'acqua fino a valori tipici dei salumi stagionati ($\approx 0,93-0,94$) e valori contenuti di aldeide malonica, indicativi di una buona stabilità ossidativa del prodotto.

I principali risultati ottenuti sono sintetizzati nella Tabella 18, in cui viene riportato il confronto tra il campione di controllo e il campione con colture starter e 100 g/100 kg di destrosio, risultato tecnologicamente più idoneo.

Parametro analizzato	Controllo (senza starter)	Starter + destrosio 100 g/100 kg	Significato tecnologico
Riduzione pH (0–48 h)	Riduzione limitata ($\Delta\text{pH} \approx 0,11$)	Riduzione più marcata ($\Delta\text{pH} \approx 0,60$)	Fermentazione più rapida e acidificazione più efficace
Batteri lattici mesofili	Crescita più lenta e valori inferiori	Crescita più rapida e valori più elevati	Dominanza della microflora lattica
Carica batterica totale	Incremento progressivo durante il processo	Incremento più marcato nelle prime fasi	Sviluppo della microflora fermentativa
Microrganismi indicatori	Valori generalmente bassi	Valori generalmente bassi	Buone condizioni igienico-sanitarie
Attività dell'acqua (aW)	Riduzione progressiva durante la stagionatura	Riduzione simile	Evoluzione tecnologica tipica dei salumi stagionati
Stabilità ossidativa (aldeide malonica)	Valori contenuti durante la maturazione	Valori contenuti durante la maturazione	Buona stabilità ossidativa del prodotto

Tabella 18: Confronto sintetico dei principali risultati ottenuti tra il campione di controllo e il campione con colture starter e 100 g/100 kg di destrosio.

Il confronto riassuntivo evidenzia come l'impiego delle colture starter associato all'aggiunta di destrosio determini una fermentazione più rapida e controllata, favorendo una più marcata riduzione del pH nelle prime fasi e una più rapida crescita della microflora lattica. Gli altri parametri microbiologici e chimico-fisici risultano invece complessivamente simili tra le due condizioni, confermando la stabilità tecnologica del prodotto durante la stagionatura.

5. Analisi sensoriale

Al fine di valutare eventuali differenze tra i prodotti ottenuti nelle diverse condizioni tecnologiche, è stata effettuata una valutazione sensoriale comparativa tra il salame mantovano prodotto senza l'impiego di colture starter e quello ottenuto con colture starter e aggiunta di 100 g/100 kg di destrosio. La prova di assaggio è stata effettuata su campioni prelevati a 30 e 60 giorni di stagionatura, in concomitanza con i prelievi per le analisi microbiologiche e chimico-fisiche, per valutare l'evoluzione delle caratteristiche sensoriali durante il processo di maturazione del prodotto. I campioni sono stati preparati e presentati agli assaggiatori in forma anonima, identificati come Campione A e Campione B, in modo da evitare il riconoscimento della tipologia di prodotto. La valutazione è stata effettuata utilizzando una scheda di valutazione sensoriale comparativa (Figura 1), che prendeva in

considerazione diversi parametri qualitativi, tra cui aspetto esterno, colore della fetta, aroma, presenza di eventuali odori anomali, sapore, sapidità e consistenza/masticabilità, oltre a una valutazione complessiva del prodotto.

Dalla prova di assaggio non sono emerse differenze marcate tra i due prodotti per quanto riguarda l'aspetto esterno e il colore della fetta, che sono risultati complessivamente simili. Anche per quanto riguarda la presenza di eventuali odori anomali non sono state rilevate criticità nei campioni analizzati. Per quanto riguarda la consistenza, il campione ottenuto con colture starter ha mostrato una struttura leggermente più compatta e uniforme, risultando più coeso al taglio e alla masticazione rispetto al campione senza starter. Dal punto di vista aromatico, è stata percepita una lieve differenza nell'intensità dell'aroma, che è risultato leggermente più pronunciato nel campione con starter, tuttavia, questa differenza non si è tradotta in una maggiore complessità del profilo gustativo, in quanto il sapore complessivo dei due prodotti è risultato simile. A livello gustativo è stata inoltre percepita nel campione con starter una leggera sensazione di freschezza, che tendeva a lasciare il palato più pulito dopo la degustazione rispetto al campione senza starter. Le differenze percepite tra i due campioni sono risultate sostanzialmente simili sia nei campioni a 30 giorni sia in quelli a 60 giorni di stagionatura. La valutazione sensoriale ha evidenziato caratteristiche organolettiche comparabili tra i due prodotti, con differenze percepite limitate principalmente alla consistenza e all'intensità aromatica.

DISCUSSIONE

I risultati ottenuti permettono di valutare l'influenza dell'impiego di colture starter e della concentrazione di zuccheri fermentescibili sulla cinetica di fermentazione e sull'evoluzione microbiologica e chimico-fisica del salame mantovano. In particolare, l'attenzione è stata rivolta alla velocità di acidificazione dell'impasto nelle prime fasi di fermentazione, parametro considerato fondamentale per garantire la sicurezza microbiologica dei salumi crudi stagionati e per favorire lo sviluppo della microflora lattica tipica del processo fermentativo.

1. Effetto del destrosio sulla cinetica di acidificazione

I risultati ottenuti evidenziano come la concentrazione di destrosio abbia influenzato la cinetica di acidificazione del salame mantovano nelle prime 48 ore di fermentazione. In particolare, la prova con l'aggiunta di 100 g/100 kg di destrosio ha mostrato la riduzione di pH più marcata, risultando l'unica condizione sperimentale in grado di raggiungere il pH target di circa 5,2–5,3 entro 48 ore. Le prove con concentrazioni inferiori di destrosio hanno invece evidenziato una diminuzione del pH più contenuta, mentre il campione di controllo, privo sia di starter sia di zuccheri aggiunti, ha mostrato

una cinetica di acidificazione molto più lenta. Questi risultati suggeriscono l'esistenza di una relazione di tipo dose-risposta tra disponibilità di substrato fermentescibile e velocità di acidificazione dell'impasto. Dal punto di vista tecnologico, questo andamento è coerente con quanto riportato in letteratura per i salumi fermentati (Leroy et al., 2006; Toldrá, 2014). Gli zuccheri aggiunti, svolgono il ruolo di substrato fermentescibile subito disponibile per i batteri lattici, che li metabolizzano durante la fermentazione producendo principalmente acido lattico. La conseguente riduzione del pH rappresenta uno degli elementi chiave del processo, perché contribuisce sia alla stabilizzazione microbiologica sia allo sviluppo delle caratteristiche tecnologiche del prodotto. Osservando i risultati è possibile interpretarli anche metabolicamente, in presenza di una maggiore quantità di destrosio, i batteri lattici inoculati dispongono di una quota più elevata di substrato energetico, che viene rapidamente convogliato nella glicolisi e nella successiva produzione di acido lattico, questo si traduce in una più rapida acidificazione dell'impasto, come osservato nella prova con 100 g/100 kg di destrosio. Al contrario, quando la quantità di zucchero è più limitata, la produzione di acido lattico procede più lentamente e la riduzione del pH risulta meno marcata nelle prime fasi della fermentazione. Confrontando i risultati dell'ANOVA un elemento rilevante che è emerso è che al tempo iniziale (0 h) non sono state osservate differenze statisticamente significative tra le tre prove con starter, mentre a 24 e 48 ore le differenze sono risultate significative. Questo dato rafforza l'ipotesi che il destrosio non abbia semplicemente modificato il valore iniziale di pH dell'impasto, ma abbia agito come fattore in grado di modulare la velocità della fermentazione nel tempo. I risultati non sono, quindi, dati da una differenza di partenza tra gli impasti, ma da una reale differenza nell'attività fermentativa sviluppata durante le prime ore di processo. Quindi, l'inoculo di starter e la disponibilità di carboidrati fermentescibili determinano cinetiche di acidificazione differenti e quindi traiettorie di fermentazione diverse tra le varie prove. Diversi studi hanno evidenziato come la presenza di zuccheri aggiunti favorisca una fermentazione più rapida e stabile, mentre una loro disponibilità limitata può determinare una riduzione del pH più lenta e meno controllata (Aquilanti et al., 2007; Leroy et al., 2013). Nel presente studio, il comportamento osservato nella prova con 100 g/100 kg di destrosio può essere interpretato come l'effetto di una maggiore disponibilità di substrato fermentescibile per i batteri lattici, che ha favorito una più rapida attivazione della fermentazione lattica e una conseguente riduzione del pH nelle prime fasi del processo.

Nel complesso, i risultati confermano che il destrosio non rappresenta semplicemente un ingrediente tecnologico, ma un vero e proprio fattore regolatore della cinetica di fermentazione nei salumi fermentati. In presenza di colture starter, l'aumento della concentrazione di destrosio ha favorito una più rapida attivazione del metabolismo lattico e una conseguente riduzione più marcata del pH nelle prime fasi del processo. La prova caratterizzata dall'aggiunta di 100 g/100 kg di destrosio è risultata

l'unica in grado di raggiungere il pH target entro 48 ore, evidenziando come la disponibilità di substrato fermentescibile possa rappresentare un fattore determinante per il controllo della fermentazione. Questo risultato assume particolare rilevanza dal punto di vista tecnologico e della sicurezza alimentare, poiché una più rapida acidificazione dell'impasto contribuisce a stabilizzare prima i microrganismi all'interno del prodotto e a limitare lo sviluppo di microrganismi indesiderati nelle fasi iniziali del processo produttivo.

2. Implicazioni per la sicurezza microbiologica

Nei salumi crudi fermentati la riduzione del pH nelle prime fasi della fermentazione rappresenta una delle principali barriere tecnologiche in grado di ostacolare lo sviluppo di microrganismi indesiderati e di contribuire alla stabilizzazione dell'ecosistema microbico del prodotto. La letteratura evidenzia che l'acidificazione iniziale, insieme alla riduzione dell'attività dell'acqua, alla presenza di sale e alla competizione esercitata dalla microflora lattica, costituisce un elemento chiave del sistema di hurdle technology tipico dei salumi fermentati (Leroy et al., 2013). La prova con 100 g/100 kg di destrosio è risultata l'unica in grado di raggiungere il pH target entro 48 ore, evidenziando quindi una cinetica di acidificazione più favorevole rispetto alle altre condizioni sperimentali. Questo risultato è importante perché le prime ore di fermentazione rappresentano una fase critica del processo, è proprio in questa finestra temporale che un abbassamento rapido del pH può contribuire a limitare la crescita di batteri competitivi, flora alterante e microrganismi potenzialmente patogeni. Studi recenti sui salumi fermentati confermano infatti che l'impiego di colture starter acidificanti e una rapida riduzione del pH migliorano il controllo microbiologico del processo e rendono più rapida la stabilizzazione del prodotto (Hwang J et al., 2023; Bertuci et al., 2025). Questo risulta coerente anche con i dati microbiologici ottenuti nel presente lavoro, nei campioni con colture starter e 100 g/100 kg di destrosio si è osservata una più rapida crescita dei batteri lattici mesofili, accompagnata da una più marcata riduzione del pH, mentre i microrganismi indicatori sono rimasti generalmente bassi e i patogeni ricercati non sono stati rilevati. Sebbene il presente studio non comprenda un challenge test su microrganismi inoculati artificialmente, il quadro complessivo osservato è compatibile con quanto riportato in letteratura: una fermentazione più rapida e guidata favorisce infatti la dominanza della flora lattica e contribuisce a creare un ambiente meno favorevole alla sopravvivenza e alla crescita di microrganismi indesiderati (Hwang J et al., 2023; Bertuci et al., 2025). La rapidità di acidificazione assume inoltre un significato ancora più rilevante nel contesto attuale di riduzione dei nitriti nei prodotti carnei. Come discusso nei capitoli precedenti, i nitriti svolgono un ruolo importante nel controllo microbiologico dei salumi fermentati, in particolare nelle fasi iniziali della trasformazione. Le recenti evoluzioni normative e tecnologiche spingono verso formulazioni a minor contenuto di

nitriti, questo rende necessario rafforzare altri fattori di stabilizzazione del prodotto. In questo contesto, una fermentazione più rapida e controllata, ottenuta mediante adeguata inoculazione starter e disponibilità di zuccheri fermentescibili, può rappresentare una strategia utile per compensare almeno in parte la riduzione dell'effetto conservante dei nitriti, soprattutto nelle prime fasi del processo. È importante precisare che la rapida riduzione del pH non può essere considerata da sola un sostituto completo dei nitriti, perché la sicurezza dei salumi fermentati dipende dall'azione combinata di più barriere. Tuttavia, i risultati ottenuti suggeriscono che il raggiungimento rapido del pH target possa rafforzare in modo concreto il sistema di hurdle technology del prodotto e migliorare la robustezza microbiologica del processo. Il destrosio pur non avendo una funzione antimicrobica diretta, agisce indirettamente come fattore di sicurezza, in quanto favorisce l'attività dei batteri lattici, ottenendo una riduzione del pH più veloce con conseguente formazione di un ambiente acido meno favorevole alla crescita microbica.

I risultati del presente studio indicano che l'impiego di una corretta quantità di destrosio, insieme alla presenza di colture starter, non ha semplicemente accelerato la fermentazione dal punto di vista tecnologico, ma ha probabilmente contribuito a migliorare le condizioni di sicurezza microbiologica del prodotto nelle prime fasi del processo. Questo rende tale condizione interessante in una prospettiva applicativa, soprattutto per sistemi produttivi orientati a un maggiore controllo della fermentazione e ad una progressiva riduzione dell'impiego di nitrati e nitriti.

3. Impatto tecnologico

Dal punto di vista tecnologico, l'aumento della concentrazione di destrosio ha mostrato un effetto favorevole sulla rapidità di acidificazione dell'impasto; tuttavia, questo aspetto deve essere valutato anche in relazione al possibile rischio di sovra-acidificazione. Nei salumi fermentati, infatti, una riduzione troppo rapida o troppo marcata del pH può avere conseguenze non solo microbiologiche, ma anche strutturali e sensoriali. L'acidificazione contribuisce allo sviluppo della consistenza, al processo di asciugatura e alla formazione del tipico profilo sensoriale del prodotto; tuttavia, valori di pH eccessivamente bassi possono determinare un'eccessiva denaturazione proteica, una tessitura meno equilibrata e note gustative troppo acide o pungenti. Diversi studi sui salumi fermentati evidenziano come la velocità e l'entità dell'acidificazione rappresentino parametri tecnologici critici per l'equilibrio finale del prodotto (Zdolec et al., 2022). In particolare, una fermentazione eccessivamente rapida o la presenza di elevate concentrazioni di zuccheri fermentescibili possono determinare una riduzione del pH troppo marcata, con possibili effetti negativi sulla tessitura e sulle caratteristiche sensoriali del prodotto. In questi casi, un'eccessiva acidificazione può portare a una maggiore denaturazione delle proteine miofibrillari e a una struttura più compatta o friabile del

salame, oltre a generare note gustative eccessivamente acide che possono risultare poco equilibrate dal punto di vista sensoriale. Per questo motivo, nella formulazione è necessario trovare un equilibrio tra la disponibilità di carboidrati fermentescibili e l'attività delle colture starter, al fine di garantire una fermentazione sufficientemente rapida da assicurare la sicurezza microbiologica del prodotto, ma allo stesso tempo non eccessivamente intensa da compromettere la qualità tecnologica e sensoriale del salame. Nel presente studio, tuttavia, i risultati non suggeriscono la presenza di un vero fenomeno di sovra-acidificazione, la prova con 100 g/100 kg di destrosio, pur essendo risultata quella con la cinetica di acidificazione più rapida, ha raggiunto un valore di pH di circa 5,2 a 48 ore, cioè un livello coerente con quello comunemente considerato tecnologicamente adeguato per i salumi fermentati e non eccessivamente basso. Anche la valutazione sensoriale effettuata sui campioni a 30 e 60 giorni di stagionatura non ha evidenziato difetti riconducibili a un'acidificazione eccessiva. Questo suggerisce che, nelle condizioni sperimentali adottate, l'aggiunta di 100 g/100 kg di destrosio sia stata sufficiente a favorire una fermentazione più rapida senza compromettere l'equilibrio complessivo del prodotto.

Dal punto di vista strutturale, i risultati sensoriali indicano che il campione con starter e destrosio ha mostrato una consistenza leggermente più compatta e uniforme rispetto al campione senza starter. Questo dato è coerente con il ruolo tecnologico dell'acidificazione nelle prime fasi del processo. La riduzione del pH, infatti, favorisce la coagulazione delle proteine miofibrillari e contribuisce alla definizione della struttura dell'impasto, influenzando la coesione della fetta e la tessitura finale del prodotto. In letteratura è riportato che l'acidificazione ha un'influenza diretta sulla qualità sensoriale e strutturale del salame, non solo per il gusto leggermente acidulo, ma anche perché supporta il processo di asciugatura e la formazione della struttura tipica del prodotto (González-Fernández et al., 2006; Zdolec et al., 2022). Sotto il profilo sensoriale, le differenze osservate risultano nel complesso contenute. Il campione con starter ha mostrato un aroma leggermente più pronunciato, ma questa differenza non si è tradotta in una maggiore complessità gustativa. È stata inoltre percepita una lieve sensazione di freschezza, con una bocca più pulita nel campione con starter, mentre il profilo complessivo dei due prodotti è risultato sostanzialmente comparabile. L'assenza di differenze sensoriali marcate tra i campioni può essere interpretata positivamente sia dal punto di vista applicativo sia in relazione alla tradizionalità del prodotto. Quindi, l'impiego di colture starter associato a una maggiore concentrazione di destrosio ha consentito di migliorare la rapidità e il controllo della fermentazione senza determinare modificazioni sensoriali rilevanti. Questo aspetto risulta particolarmente importante in una prospettiva di produzione industriale di un prodotto tradizionale, poiché permette di intervenire sul controllo tecnologico del processo senza alterare in modo significativo la riconoscibilità del salame mantovano. È quindi fondamentale trovare un

equilibrio tra gli aspetti tecnologici e microbiologici del processo e il mantenimento delle caratteristiche sensoriali del prodotto. Da un lato è necessario garantire condizioni di processo che assicurino un adeguato livello di sicurezza alimentare, mentre dall'altro è altrettanto importante preservare la qualità organolettica del salame, evitando modifiche percepibili che possano compromettere la tradizionalità del prodotto dal punto di vista del consumatore.

Nel complesso, quindi, i risultati ottenuti indicano che l'utilizzo di 100 g/100 kg di destrosio, in presenza di colture starter, rappresenta una condizione tecnologicamente favorevole: da un lato migliora la rapidità di acidificazione e la controllabilità della fermentazione, dall'altro non sembra comportare, nelle condizioni considerate, effetti negativi evidenti sulla struttura e sulle caratteristiche sensoriali del prodotto. Questo suggerisce che il rischio di sovra-acidificazione, pur teoricamente possibile in presenza di livelli elevati di zuccheri fermentescibili, non si sia manifestato nel presente studio.

4. Applicabilità industriale

I risultati ottenuti nel presente studio suggeriscono che l'impiego di colture starter associato all'aggiunta di 100 g/100 kg di destrosio possa rappresentare una soluzione concretamente applicabile in ambito industriale per il controllo della fermentazione del salame mantovano. Dal punto di vista tecnologico, infatti, questa condizione è risultata l'unica in grado di raggiungere il pH target entro 48 ore, mostrando quindi una cinetica di acidificazione più rapida e più controllata rispetto alle altre prove. Questo aspetto è particolarmente rilevante in ambito produttivo, dove la gestione delle prime fasi della fermentazione rappresenta uno dei punti più critici per la sicurezza e per l'uniformità qualitativa del prodotto finito. L'impiego di colture starter nell'industria dei salumi fermentati è finalizzato a ottenere processi più affidabili, riproducibili e uniformi, oltre che più sicuri dal punto di vista microbiologico. Un primo aspetto da considerare è la sostenibilità dal punto di vista tecnologico dell'aggiunta di nuovi ingredienti nella ricetta. Nel contesto dei salumi fermentati, una tecnologia può essere considerata sostenibile non solo quando è economicamente praticabile, ma anche quando si integra facilmente nel processo produttivo esistente senza richiedere modifiche strutturali importanti. Nel caso del presente studio, l'aggiunta di starter e destrosio rappresentano un intervento tecnologico molto semplice, compatibile con le normali fasi di formulazione dell'impasto e già coerente con le pratiche produttive comunemente adottate nei salumifici. Un secondo elemento particolarmente importante riguarda la riproducibilità del processo. Nei prodotti fermentati tradizionali, la fermentazione spontanea può determinare una maggiore variabilità tra i lotti, in funzione della microflora iniziale delle carni, delle condizioni ambientali e delle caratteristiche della materia prima. Nel presente studio, il confronto con il campione di controllo ha mostrato proprio questa differenza:

in assenza di starter e di una quota adeguata di zuccheri fermentescibili, l'abbassamento del pH risulta più lento e meno controllato. Al contrario, la combinazione tra starter e destrosio ha favorito una fermentazione più rapida e meglio indirizzata, con una crescita lattica più marcata e un raggiungimento più affidabile del pH target. L'impiego di colture starter è uno strumento utile per migliorare la riproducibilità delle cinetiche fermentative e la costanza delle caratteristiche igieniche e organolettiche dei salumi fermentati. In questo contesto, il concetto di standardizzazione non deve essere interpretato in senso negativo, ma come un indicatore di qualità del processo. Non si tratta infatti di uniformare il prodotto rispetto al mercato, bensì di definire uno standard produttivo interno all'azienda, capace di garantire nel tempo caratteristiche costanti e riconoscibili dal consumatore, mantenendo al contempo la tipicità e la tradizionalità del prodotto. Dal punto di vista industriale, questa maggiore riproducibilità ha un impatto pratico rilevante. Un processo fermentativo più controllato significa minore rischio di deviazioni di processo, maggiore prevedibilità dei tempi di asciugatura e maturazione e, potenzialmente, migliore standardizzazione del prodotto finito. In altre parole, l'adozione di una formulazione che favorisca una rapida acidificazione non ha soltanto un valore microbiologico, ma contribuisce anche a rendere il processo produttivo più solido. In un'azienda salumiera questo può tradursi in una riduzione dell'incertezza tecnologica e in una migliore gestione della produzione, soprattutto quando si lavora su larga scala o con lotti ripetuti nel tempo. Per quanto riguarda i costi, l'impatto economico dell'aggiunta di 100 g/100 kg di destrosio è limitato, sia perché la quantità utilizzata è modesta, sia perché il destrosio rappresenta un ingrediente di uso comune nelle formulazioni dei salumi fermentati. Anche l'impiego di colture starter selezionate, pur comportando un costo aggiuntivo rispetto alla fermentazione spontanea, è generalmente giustificato dal miglioramento del controllo microbiologico, della costanza qualitativa e della sicurezza del processo. In questo senso, il costo della tecnologia non deve essere valutato soltanto come costo diretto dell'ingrediente o della coltura, ma anche in rapporto ai vantaggi ottenuti in termini di maggiore affidabilità del processo. Questo aspetto si traduce in una riduzione del rischio di ottenere produzioni non conformi agli standard qualitativi prefissati, le quali possono comportare un deprezzamento del prodotto o, nei casi più critici, la necessità di scarto. Tali situazioni determinano perdite economiche potenzialmente rilevanti e possono incidere negativamente anche sull'affidabilità e sull'immagine aziendale. Un ulteriore elemento che rafforza l'applicabilità industriale della soluzione proposta è il fatto che, il miglioramento della rapidità di fermentazione non è stato accompagnato da effetti negativi evidenti sulla qualità sensoriale del prodotto. Questo punto è fondamentale, perché in ambito industriale non è sufficiente ottenere una fermentazione più rapida o più sicura: è necessario che il prodotto finale mantenga caratteristiche coerenti con le aspettative del consumatore e con l'identità del salame mantovano. I risultati sensoriali ottenuti indicano che il

campione con starter e destrosio ha mostrato una consistenza leggermente più compatta e un aroma un po' più pronunciato, ma senza differenze drastiche o penalizzanti. Questo suggerisce che la soluzione testata sia non solo efficace dal punto di vista tecnologico, ma anche compatibile con la tipicità del prodotto, aspetto essenziale per una reale applicazione in salumificio.

Nel complesso, quindi, i risultati del presente studio indicano che l'impiego di colture starter associate a 100 g/100 kg di destrosio rappresenta una soluzione industrialmente interessante perché unisce semplicità applicativa, maggiore riproducibilità del processo, controllo più efficace della fermentazione e assenza di effetti sensoriali negativi evidenti. In una prospettiva produttiva, questa strategia appare quindi sostenibile e concretamente trasferibile, soprattutto in contesti in cui sia richiesto un maggiore controllo della fermentazione senza rinunciare alla riconoscibilità sensoriale del prodotto finale.

5. Limiti dello studio

Nonostante i risultati ottenuti forniscano indicazioni interessanti sull'effetto del destrosio e delle colture starter nella fermentazione del salame mantovano, è necessario evidenziare alcuni limiti dello studio che devono essere considerati nell'interpretazione complessiva dei dati. Un primo aspetto riguarda il numero di repliche sperimentali. Nel presente lavoro, le valutazioni sulla cinetica di acidificazione sono state effettuate utilizzando repliche tecniche rappresentate dalle misurazioni di pH in diversi punti del salame (testa, centro e fondo), mentre non sono state effettuate repliche indipendenti di produzione su lotti distinti. Questo implica che la variabilità osservata riflette principalmente la distribuzione interna del parametro all'interno del prodotto, ma non consente di stimare in modo completo la variabilità tra produzioni diverse. Un secondo limite è rappresentato dalla variabilità stagionale e delle materie prime. Le prove sono state condotte utilizzando carne proveniente da una specifica giornata di lavorazione e in condizioni ambientali definite; tuttavia, nei salumi fermentati la qualità della materia prima, la composizione della microflora iniziale e le condizioni ambientali possono variare in funzione della stagione, della filiera di approvvigionamento e delle condizioni di lavorazione. Questa variabilità può influenzare in modo significativo l'andamento della fermentazione e la crescita microbica. Le fermentazioni spontanee e, in parte, anche quelle guidate da starter possono risentire delle condizioni iniziali dell'impasto e dell'ambiente produttivo, influenzando la cinetica di acidificazione e le caratteristiche finali del prodotto. Un ulteriore elemento da considerare riguarda il fatto che le analisi microbiologiche e chimico-fisiche di laboratorio sono state effettuate esclusivamente su due condizioni sperimentali, ovvero il campione standard senza starter e il campione con starter e 100 g/100 kg di destrosio. Questa scelta è stata motivata dai risultati preliminari sulla cinetica di acidificazione, che hanno evidenziato come solo

quest'ultima condizione fosse in grado di raggiungere il pH target nelle prime 48 ore. Tuttavia, ciò limita la possibilità di effettuare un confronto completo tra tutte le condizioni sperimentali anche nelle fasi successive del processo, riducendo la significatività dell'analisi comparativa. Infine, un limite importante è rappresentato dall'assenza di challenge test specifici, in particolare nei confronti di microrganismi patogeni di interesse per i salumi fermentati, come *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. Nel presente studio, la sicurezza microbiologica è stata valutata indirettamente attraverso parametri tecnologici e microbiologici (come pH, crescita dei batteri lattici e assenza di patogeni nelle analisi di routine), ma non è stata verificata mediante prove sperimentali mirate a valutare il comportamento dei patogeni in condizioni controllate.

Considerando questi limiti, risulta opportuno prevedere, in studi futuri, un ampliamento del disegno sperimentale, includendo più lotti indipendenti, diverse condizioni stagionali e l'applicazione di challenge test mirati. Tali approfondimenti permetterebbero di confermare i risultati ottenuti e di consolidarne l'applicabilità in contesti produttivi reali.

CONCLUSIONI

Il presente studio ha permesso di valutare l'effetto dell'aggiunta di diverse concentrazioni di destrosio sulla cinetica di acidificazione del salame mantovano, con particolare attenzione al raggiungimento di un pH tecnologicamente e microbiologicamente favorevole nelle prime fasi della fermentazione. I risultati ottenuti hanno evidenziato in modo chiaro che la disponibilità di zuccheri fermentescibili rappresenta un fattore determinante nel modulare la velocità di acidificazione dell'impasto, confermando il ruolo del destrosio come substrato fondamentale per l'attività metabolica dei batteri lattici nei salumi fermentati. Tra le condizioni sperimentali valutate, la prova 3, caratterizzata dall'impiego di colture starter e dall'aggiunta di 100 g/100 kg di destrosio, è risultata la più efficace dal punto di vista tecnologico. Questa prova è stata infatti l'unica in grado di raggiungere il pH target di circa 5,2–5,3 entro 48 ore di fermentazione, evidenziando una cinetica di acidificazione più rapida rispetto sia alla prova con solo starter sia a quella con starter e 50 g/100 kg di destrosio. Tale risultato risulta particolarmente rilevante perché il rapido abbassamento del pH nelle prime fasi del processo costituisce una delle principali barriere della hurdle technology applicata ai salumi fermentati, contribuendo alla stabilizzazione microbiologica del prodotto. Anche i risultati microbiologici e chimico-fisici ottenuti nel confronto tra il campione di controllo e il campione con starter e 100 g/100 kg di destrosio hanno confermato la validità della strategia tecnologica adottata. In particolare, nei campioni con starter si è osservata una più rapida crescita dei batteri lattici mesofili, una riduzione più marcata del pH, una progressiva diminuzione dell'attività dell'acqua durante la stagionatura e l'assenza di criticità microbiologiche rilevanti. I parametri chimici analizzati, inclusi nitrati, nitriti e

aldeide malonica, hanno inoltre mostrato un'evoluzione coerente con il normale andamento del processo di fermentazione e maturazione del salame mantovano. Dal punto di vista tecnologico, un risultato particolarmente importante emerso dallo studio è che l'impiego di 100 g/100 kg di destrosio, pur determinando una fermentazione più rapida, non ha comportato effetti negativi evidenti sulla struttura e sulle caratteristiche sensoriali del prodotto. La valutazione sensoriale comparativa ha infatti evidenziato differenze contenute tra i campioni con e senza starter, con una leggera compattezza maggiore e una lieve intensità aromatica maggiore nel campione con starter, ma senza alterazioni marcate del profilo complessivo del prodotto. Questo aspetto risulta fondamentale, poiché suggerisce la possibilità di migliorare il controllo tecnologico del processo senza compromettere la riconoscibilità organolettica e la tradizionalità del salame mantovano.

Nel complesso, i risultati ottenuti indicano quindi che l'impiego di colture starter associato a 100 g/100 kg di destrosio rappresenta una condizione tecnologicamente favorevole per il salame mantovano, in quanto consente di migliorare la rapidità e la controllabilità della fermentazione, favorendo al tempo stesso la stabilità microbiologica del prodotto. In questa prospettiva, il controllo più efficace della cinetica di acidificazione potrebbe rappresentare, in futuro, un elemento utile anche nell'ottica di una progressiva riduzione dell'impiego di nitrati e nitriti, tema oggi particolarmente rilevante per l'industria dei prodotti carnei. Sebbene il presente studio non consenta di considerare la rapida acidificazione come un sostituto diretto dei nitriti, i risultati suggeriscono che un miglior controllo della fermentazione possa contribuire a rafforzare le altre barriere di sicurezza del prodotto e a supportare strategie di riformulazione più sostenibili dal punto di vista normativo e tecnologico. In conclusione, il lavoro svolto conferma che il destrosio non deve essere considerato soltanto come un ingrediente accessorio della formulazione, ma come uno strumento tecnologico in grado di modulare in modo significativo la fermentazione del salame mantovano. In particolare, la concentrazione di 100 g/100 kg di destrosio si è dimostrata la più efficace tra quelle testate, risultando la soluzione più promettente per ottenere una fermentazione rapida, controllata e compatibile con il mantenimento della qualità del prodotto.

POSSIBILI SVILUPPI FUTURI

I risultati ottenuti nel presente studio indicano che l'impiego di colture starter associate a 100 g/100 kg di destrosio rappresenta una condizione tecnologicamente promettente per il controllo della fermentazione del salame mantovano. Tuttavia, proprio perché tale condizione ha mostrato la migliore cinetica di acidificazione e una buona tenuta microbiologica e sensoriale, risulta opportuno sviluppare ulteriormente la ricerca in direzioni che consentano di consolidare i risultati ottenuti e di ampliarne l'applicabilità a livello industriale. Un primo sviluppo futuro riguarda lo studio della

riduzione progressiva dei nitriti. Nel presente lavoro, la maggiore rapidità di acidificazione osservata nella prova con 100 g/100 kg di destrosio suggerisce che una fermentazione più rapida e controllata possa rafforzare le barriere di sicurezza del prodotto nelle prime fasi del processo. In questa prospettiva, sarebbe interessante valutare se tale condizione tecnologica possa consentire una graduale riduzione dell'apporto di nitriti senza compromettere la sicurezza microbiologica e la qualità del salame. Un secondo sviluppo futuro riguarda la realizzazione di challenge test con *Listeria innocua*, da utilizzare come microrganismo surrogato in prove di validazione microbiologica. Nel presente studio la sicurezza è stata valutata indirettamente attraverso il raggiungimento del pH target, la crescita dei batteri lattici e l'assenza di patogeni nelle analisi di routine; tuttavia, un challenge test consentirebbe di verificare in maniera molto più robusta il comportamento di un microrganismo target durante il processo reale di fermentazione e stagionatura. *Listeria innocua* viene frequentemente utilizzata come surrogato di *Listeria monocytogenes* nei salumi fermentati proprio per valutare l'efficacia combinata delle barriere tecnologiche e l'impatto di processi innovativi o formulazioni a ridotto tenore di nitriti (Lopez et al., 2021; Hospital et al., 2012). Inoltre, esistono già studi specifici su salami italiani e su salsicce fermentate nitrite-reduced che mostrano l'utilità di questo approccio sia in termini di challenge test sia di modellizzazione del comportamento microbico (Bonilauri et al., 2021). Un ulteriore sviluppo di grande interesse sarebbe rappresentato dallo studio metagenomico della comunità microbica. Nel presente lavoro l'evoluzione microbiologica è stata descritta attraverso i principali gruppi microbici coltivabili e mediante il confronto tra campioni con e senza starter. Tuttavia, un approccio metagenomico permetterebbe di ottenere una descrizione molto più approfondita della successione microbica durante le fasi di fermentazione e stagionatura, evidenziando non solo i gruppi dominanti, ma anche le dinamiche di specie e, in alcuni casi, di ceppo. Questi approcci consentono di comprendere meglio i rapporti tra composizione microbica, acidificazione, sviluppo dell'aroma e stabilità del prodotto, aprendo prospettive interessanti sia per la selezione di starter più mirati sia per la valorizzazione della tipicità microbiologica dei prodotti fermentati tradizionali. Infine, un ambito particolarmente promettente riguarda la modellizzazione predittiva della curva di acidificazione. I risultati ottenuti nel presente studio hanno mostrato una chiara differenza tra le prove nella velocità di abbassamento del pH, con una relazione evidente tra disponibilità di destrosio e rapidità della fermentazione. Su questa base, sarebbe possibile sviluppare modelli matematici o predittivi in grado di descrivere l'evoluzione del pH in funzione del tempo e delle principali variabili tecnologiche, come concentrazione di zuccheri fermentescibili, presenza di starter, temperatura e, potenzialmente, caratteristiche iniziali della materia prima. Nel complesso, quindi, gli sviluppi futuri più interessanti riguardano il passaggio da una valutazione principalmente tecnologica del processo a una sua validazione più completa, capace di integrare

sicurezza microbiologica, conoscenza approfondita della comunità microbica e capacità predittiva del sistema fermentativo. In questa prospettiva, il presente studio può essere considerato un primo passo utile per identificare la condizione tecnologica più promettente, sulla quale impostare successive attività di approfondimento e validazione.

BIBLIOGRAFIA

1. Cocolin L, Dolci P, Rantsiou K, Urso R, Cantoni C, Comi G. Lactic acid bacteria ecology of three traditional fermented sausages produced in the North of Italy as determined by molecular methods. *Meat Sci.* 2009 May;82(1):125-32. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.01.004. Epub 2009 Jan 9. PMID: 20416781.
2. Franciosa I, Alessandria V, Dolci P, Rantsiou K, Cocolin L. Sausage fermentation and starter cultures in the era of molecular biology methods. *Int J Food Microbiol.* 2018 Aug 20;279:26-32. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.038. Epub 2018 Apr 25. PMID: 29723706.
3. Hu P, Ali U, Aziz T, Wang L, Zhao J, Nabi G, Sameeh MY, Yu Y and Zhu Y (2023) Investigating the effect on biogenic amines, nitrite, and N-nitrosamine degradation in cultured sausage ripening through inoculation of *Staphylococcus xylosus* and lactic acid bacteria. *Front. Microbiol.* 14:1156413. doi: 10.3389/fmicb.2023.1156413
4. Barbieri, F., Montanari, C., Angelucci, C., Gardini, F., & Tabanelli, G. (2024). Use of Indigenous Lactic Acid Bacteria for Industrial Fermented Sausage Production: Microbiological, Chemico-Physical and Sensory Features and Biogenic Amine Content. *Fermentation*, 10(10), 507. <https://doi.org/10.3390/fermentation10100507>
5. Montanari, C.; Barbieri, F.; Gardini, G.; Magnani, R.; Gottardi, D.; Gardini, F.; Tabanelli, G. Effects of Starter Cultures and Type of Casings on the Microbial Features and Volatile Profile of Fermented Sausages. *Fermentation* 2022, 8, 683. <https://doi.org/10.3390/fermentation8120683>
6. Pisacane, V., Callegari, M. L., Puglisi, E., Dallolio, G., & Rebecchi, A. (2015). Microbial analyses of traditional Italian salami reveal microorganisms transfer from the natural casing to the meat matrix. *International Journal of Food Microbiology*, 207, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.029>
7. Sivamaruthi BS, Kesika P, Rafeek SBS, Sivakumar K, Ramasamy SP, Chaiaysut C, Fukngoen P and Alagarsamy K (2025) Lactic acid bacteria in the meat industry: flavor, function, and food safety. *Front. Microbiol.* 16:1703213. doi: 10.3389/fmicb.2025.1703213
8. Stegmayer MÁ, Sirini NE, Ruiz MJ, Soto LP, Zbrun MV, Lorenzo JM, Signorini ML, Frizzo LS. Effects of lactic acid bacteria and coagulase-negative staphylococci on dry-fermented sausage quality and safety: Systematic review and meta-analysis. *Meat Sci.* 2023 Dec;206:109337. doi: 10.1016/j.meatsci.2023.109337. Epub 2023 Sep 17. PMID: 37757506.

9. Nightingale, Kendra & Thippareddi, H & Marsden, J & Nutsch, AL. (2006). Validation of a Traditional Italian-Style Salami Manufacturing Process for Control of Salmonella and Listeria monocytogenes. *Journal of food protection*. 69. 794-800. 10.4315/0362-028X-69.4.794.
10. Bertuci, M.L.; Bis Souza, C.V.; Alves, C.A., Jr.; Todorov, S.D.; Penna, A.L.B.; Barretto, A.C.d.S. Bioprotective and Technological Roles of Lactic Acid Bacteria in Reduced-Sodium Fermented Sausages. *Foods* 2025, 14, 3758. <https://doi.org/10.3390/foods14213758>
11. Stojanovska, Tanja & Kalevska, Tatjana & Gruevska, Nevena & Nikolovska Nedelkoska, Daniela. (2024). ANALYSIS OF PH VALUE AND WATER ACTIVITY AS KEY SAFETY PARAMETERS FOR KULEN SAUSAGE. *International Journal of Food Technology and Nutrition - IJFTN*. 7. 131-137. 10.62792/ut.jftn.v7.i13-14.p2698.
12. Wemmenhove, E., van Valenberg, H. J. F., van Hooijdonk, A. C. M., Wells-Bennik, M. H. J., & Zwietering, M. H. (2018). Factors that inhibit growth of *Listeria monocytogenes* in nature-ripened Gouda cheese: A major role for undissociated lactic acid. *Food Control*, 84, 413–418. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.028>
13. Shen, Q.; Zeng, X.; Kong, L.; Sun, X.; Shi, J.; Wu, Z.; Guo, Y.; Pan, D. Research Progress of Nitrite Metabolism in Fermented Meat Products. *Foods* 2023, 12, 1485. <https://doi.org/10.3390/foods12071485>
14. Shakil, M.H.; Trisha, A.T.; Rahman, M.; Talukdar, S.; Kobun, R.; Huda, N.; Zzaman, W. Nitrites in Cured Meats, Health Risk Issues, Alternatives to Nitrites: A Review. *Foods* 2022, 11, 3355. <https://doi.org/10.3390/foods11213355>
15. Tabanelli, G., Montanari, C., Bargossi, E., et al. (2022). Nitrite-free fermented sausages: Technological and microbiological aspects. *Food Control*, 133, 108603. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108603>
16. Honikel, K. O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78(1–2), 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.030>
17. EFSA (European Food Safety Authority). (2023). Risk assessment of N-nitrosamines in food. *EFSA Journal*, 21(7), e07884. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7884>
18. Leroy F, Verluyten J, De Vuyst L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *Int J Food Microbiol*. 2006 Feb 15;106(3):270-85. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.027. Epub 2005 Oct 5. PMID: 16213053.

19. Leroy, Frédéric & De Vuyst, Luc. (2004). Functional lactic acid bacteria starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*. 15. 67-78. [10.1016/j.tifs.2003.09.004](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004).
20. Rantsiou K, Cocolin L. New developments in the study of the microbiota of naturally fermented sausages as determined by molecular methods: a review. *Int J Food Microbiol*. 2006 Apr 25;108(2):255-67. doi: [10.1016/j.ijfoodmicro.2005.11.013](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.11.013). Epub 2006 Feb 14. PMID: 16481061.
21. Fontana, Cecilia & Fadda, Silvina & Coconcelli, Pier Sandro & Vignolo, Graciela. (2011). Lactic Acid Bacteria in Meat Fermentations. [10.1201/b11503-14](https://doi.org/10.1201/b11503-14).
22. Toldrá, F. & Hui, Y.H. & Astiasarán, I. & Sebranek, J.G. & Talon, R.. (2014). Handbook of Fermented Meat and Poultry: Second Edition. [10.1002/9781118522653](https://doi.org/10.1002/9781118522653).
23. Casaburi A, Di Monaco R, Cavella S, Toldrá F, Ercolini D, Villani F. Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food Microbiol*. 2008 Apr;25(2):335-47. doi: [10.1016/j.fm.2007.10.006](https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.10.006). Epub 2007 Oct 5. PMID: 18206776.
24. Talon R, Leroy S, Lebert I. Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. *Meat Sci*. 2007 Sep;77(1):55-62. doi: [10.1016/j.meatsci.2007.04.023](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.04.023). Epub 2007 May 5. PMID: 22061396.
25. Mónica Flores, Fidel Toldrá, Microbial enzymatic activities for improved fermented meats, *Trends in Food Science & Technology*, Volume 22, Issues 2–3, 2011, Pages 81-90, ISSN 0924-2244, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.09.007>.
26. Annalisa Casaburi, M-Conception Aristoy, Silvana Cavella, Rossella Di Monaco, Danilo Ercolini, Fidel Toldrá, Francesco Villani, Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures, *Meat Science*, Volume 76, Issue 2, 2007, Pages 295-307, ISSN 0309-1740, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.11.011>.
27. Hwang Jungeun, Kim Yujin, Seo Yeongeun, Sung Miseon, Oh Jei, Yoon Yohan. Effect of Starter Cultures on Quality of Fermented Sausages. *Food Sci Anim Resour* 2023;43(1):1-9. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2022.e75>
28. Heo S, Lee JH, Jeong DW. Food-derived coagulase-negative *Staphylococcus* as starter cultures for fermented foods. *Food Sci Biotechnol*. 2020 Jul 4;29(8):1023-1035. doi: [10.1007/s10068-020-00789-5](https://doi.org/10.1007/s10068-020-00789-5). Erratum in: *Food Sci Biotechnol*. 2020 Sep 5;32(11):1611. doi: [10.1007/s10068-020-00806-7](https://doi.org/10.1007/s10068-020-00806-7). PMID: 32670656; PMCID: PMC7347722.

29. Mangia, N.P.; Cottu, M.; Aponte, M.; Murgia, M.A.; Mura, M.E.; Blaiotta, G. Technological and Safety Characterization of Coagulase-Negative Staphylococci Isolated from Sardinian Fermented Sausage Made by Ovine Meat. *Foods* 2024, *13*, 633. <https://doi.org/10.3390/foods13040633>
30. Lopez, C.M.; Dallolio, G.; Bonilauri, P.; Rebecchi, A. Strategies for Nitrite Replacement in Fermented Sausages and Effect of High Pressure Processing against *Salmonella* spp. and *Listeria innocua*. *Foods* 2021, *10*, 2617. <https://doi.org/10.3390/foods10112617>
31. Juan Chen, Shenmiao Li, Yaqiu Lin, Fidel Toldrá, Xiaonan Lu, The role of coagulase-negative staphylococci on aroma generation of fermented sausage, *Meat Science*, Volume 221, 2025, 109730, ISSN 0309-1740, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2024.109730>.
32. Laranjo M, Potes ME and Elias M (2019) Role of Starter Cultures on the Safety of Fermented Meat Products. *Front. Microbiol.* 10:853. doi: 10.3389/fmicb.2019.00853
33. Holck, Askild, Axelsson, Lars, McLeod, Anette, Rode, Tone Mari, Heir, Even, Health and Safety Considerations of Fermented Sausages, *Journal of Food Quality*, 2017, 9753894, 25 pages, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/9753894>
34. Vignolo, G., Fontana, C. and Fadda, S. (2010). Semidry and Dry Fermented Sausages. In *Handbook of Meat Processing*, F. Toldrá (Ed.). <https://doi.org/10.1002/9780813820897.ch22>
35. Sánchez-Giraldo, M.; Vioque-Amor, M.; Gómez-Díaz, R.; Clemente-López, I.; Amaro-López, M.Á.; Avilés-Ramírez, C. Effect of Carbohydrate Formulas on Instrumental and Sensory Parameters in Dry-Fermented Iberian Pork Sausages. *Foods* 2025, *14*, 248. <https://doi.org/10.3390/foods14020248>
36. Maite Sánchez-Giraldo, Carmen Avilés-Ramírez, Rafael Gómez-Díaz, Ignacio Clemente-López, Montserrat Vioque-Amor, Impact of added carbohydrates on oxidative stability and volatile organic compounds of Iberian “Salchichón”, *Applied Food Research*, Volume 5, Issue 2, 2025, 101310, ISSN 2772-5022, <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101310>.
37. Pasini F, Soglia F, Petracchi M, Caboni MF, Marziali S, Montanari C, Gardini F, Grazia L, Tabanelli G. Effect of Fermentation with Different Lactic Acid Bacteria Starter Cultures on Biogenic Amine Content and Ripening Patterns in Dry Fermented Sausages. *Nutrients*. 2018 Oct 13;10(10):1497. doi: 10.3390/nu10101497. PMID: 30322117; PMCID: PMC6213744.
38. Honikel KO. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Sci.* 2008 Jan;78(1-2):68-76. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.05.030. Epub 2007 Jun 27. PMID: 22062097.
39. Tabanelli G, Barbieri F, Soglia F, Magnani R, Gardini G, Petracchi M, Gardini F, Montanari C. Safety and technological issues of dry fermented sausages produced without nitrate and

- nitrite. *Food Res Int.* 2022 Oct;160:111685. doi: 10.1016/j.foodres.2022.111685. Epub 2022 Jul 16. PMID: 36076392.
40. María J. Andrade, Belén Peromingo, Mar Rodríguez, Alicia Rodríguez, Effect of cured meat product ingredients on the *Penicillium verrucosum* growth and ochratoxin A production, *Food Control*, Volume 96, 2019, Pages 310-317, ISSN 0956-7135, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.014>.
 41. Dasiewicz, K., Szymanska, I., Slowinski, M., Górska, A., & Dasiewicz, B. (2024). Effect of Fermentation Technology and Storage Time on the Quality of Salami-Type Sausages. *Applied Sciences*, 14(18), 8510. <https://doi.org/10.3390/app14188510>
 42. Nevijo Zdolec, Tomislav Mikuš, Marta Kiš, Chapter 8 - Lactic acid bacteria in meat fermentation: Dry sausage safety and quality, Editor(s): Ramesh C. Ray, Spiros Paramithiotis, Vasco Ariston de Carvalho Azevedo, Didier Montet, In *Applied Biotechnology Reviews, Lactic Acid Bacteria in Food Biotechnology*, Elsevier, 2022, Pages 145-159, ISBN 9780323898751, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89875-1.00007-9>.
 43. Xu Y and Zhu Y (2021) Complete Replacement of Nitrite With a *Lactobacillus fermentum* on the Quality and Safety of Chinese Fermented Sausages. *Front. Microbiol.* 12:704302. doi: 10.3389/fmicb.2021.704302
 44. Wójciak, K. M., Kęska, P., Kačániová, M., Čmíková, N., Solska, E., & Ogórek, A. (2024). Evaluation of Quality of Nitrite-Free Fermented Roe Deer (*Capreolus capreolus*) Sausage with Addition of Ascorbic Acid and Reduced NaCl. *Foods*, 13(23), 3823. <https://doi.org/10.3390/foods13233823>
 45. Consuelo González-Fernández, Eva M. Santos, Jordi Rovira, Isabel Jaime, The effect of sugar concentration and starter culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo-Spanish dry-cured sausage, *Meat Science*, Volume 74, Issue 3, 2006, Pages 467-475, ISSN 0309-1740, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.019>.
 46. Leroy, Frédéric & Geyzen, Anneke & Janssens, Maarten & De Vuyst, Luc & Scholliers, Peter. (2013). Meat fermentation at the crossroads of innovation and tradition: A historical outlook. *Trends in Food Science & Technology*. 31. 130–137. 10.1016/j.tifs.2013.03.008.
 47. Aquilanti L, Santarelli S, Silvestri G, Osimani A, Petruzzelli A, Clementi F. The microbial ecology of a typical Italian salami during its natural fermentation. *Int J Food Microbiol.* 2007 Nov 30;120(1-2):136-45. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.010. Epub 2007 Jun 13. PMID: 17628130.
 48. Annalisa Casaburi, Veronica Di Martino, Pasquale Ferranti, Luca Picariello, Francesco Villani, Technological properties and bacteriocins production by *Lactobacillus curvatus*

- 54M16 and its use as starter culture for fermented sausage manufacture, *Food Control*, Volume 59, 2016, Pages 31-45, ISSN 0956-7135, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.016>.
49. Frédéric Leroy, Luc De Vuyst, Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry, *Trends in Food Science & Technology*, Volume 15, Issue 2, 2004, Pages 67-78, ISSN 0924-2244, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>.
50. Laranjo, Marta & Elias, Miguel & Fraqueza, Maria. (2017). The Use of Starter Cultures in Traditional Meat Products. *Journal of Food Quality*. 2017. 10.1155/2017/9546026.
51. Patarata L, Novais M, Fraqueza MJ, Silva JA. Influence of Meat Spoilage Microbiota Initial Load on the Growth and Survival of Three Pathogens on a Naturally Fermented Sausage. *Foods*. 2020 May 25;9(5):676. doi: 10.3390/foods9050676. PMID: 32466133; PMCID: PMC7278744.
52. Xavier F. Hospital, Eva Hierro, Manuela Fernández, Survival of *Listeria innocua* in dry fermented sausages and changes in the typical microbiota and volatile profile as affected by the concentration of nitrate and nitrite, *International Journal of Food Microbiology*, Volume 153, Issue 3, 2012, Pages 395-401, ISSN 0168-1605, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.032>.
53. Paolo Bonilauri, Giuseppe Meriardi, Mattia Ramini, Lia Bardasi, Roberta Taddei, Maria Silvia Grisenti, Paolo Daminelli, Elena Cosciani-Cunico, Elena Dalzini, Maria Angela Frustoli, Federica Giacometti, Federico Tomasello, Silvia Piva, Andrea Serraino, Modeling the behavior of *Listeria innocua* in Italian salami during the production and high-pressure validation of processes for exportation to the U.S., *Meat Science*, Volume 172, 2021, 108315, ISSN 0309-1740, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108315>.
54. J. Bello, M.A. Sanchez-Fuertes, Development of mathematical model to describe the acidification occurring during the ripening of dry fermented sausage, *Food Chemistry*, Volume 59, Issue 1, 1997, Pages 101-105, ISSN 0308-8146, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00203-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00203-8).
55. Leroy F, de Vuyst L. Temperature and pH conditions that prevail during fermentation of sausages are optimal for production of the antilisterial bacteriocin sakacin K. *Appl Environ Microbiol*. 1999 Mar;65(3):974-81. doi: 10.1128/AEM.65.3.974-981.1999. PMID: 10049850; PMCID: PMC91131.
56. Sriphochanart W, Skolpap W. Modeling of starter cultures growth for improved Thai sausage fermentation and cost estimating for sausage preparation and transportation. *Food Sci Nutr*. 2018;6:1479–1491. <https://doi.org/10.1002/fsn3.708>

57. Austrich-Comas, A., Jofre, A., Gou, P., & Bover-Cid, S. (2023). Assessing the Impact of Different Technological Strategies on the Fate of Salmonella in Chicken Dry-Fermented Sausages by Means of Challenge Testing and Predictive Models. *Microorganisms*, 11(2), 432. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020432>

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare il Prof. Andrea Pulvirenti per la disponibilità, la guida e il supporto durante lo sviluppo di questo lavoro. Il suo contributo è stato fondamentale per affrontare questo percorso con maggiore consapevolezza e spirito critico, aiutandomi a sviluppare un approccio più attento e strutturato alle tematiche trattate.

Un sincero ringraziamento va anche all'azienda Gruppo Azzoni (Azzoni S.r.l.), che mi ha dato l'opportunità di svolgere la parte sperimentale e di confrontarmi con una realtà produttiva concreta. Questa esperienza ha rappresentato un momento particolarmente significativo del mio percorso, permettendomi di applicare in modo diretto le conoscenze acquisite e di comprendere meglio le dinamiche del settore.

Ringrazio la mia famiglia, in particolare i miei genitori, per il sostegno costante, la pazienza e la fiducia dimostrata in questi anni. Sapere di poter contare sempre su di loro è stato fondamentale nei momenti più impegnativi di questo percorso.

Un grazie sincero va anche ai miei amici, che hanno condiviso con me questi anni tra studio, difficoltà e soddisfazioni, contribuendo a rendere questo cammino più leggero e significativo. Un pensiero va anche ai miei compagni di corso, con cui ho condiviso questo percorso universitario, tra lezioni, esami e momenti di crescita, che hanno reso questa esperienza ancora più significativa.

Questo lavoro rappresenta per me la conclusione di un percorso che mi ha fatto crescere, non solo dal punto di vista accademico, ma anche personale, e che mi ha permesso di costruire basi solide per il futuro.