Sommario

1. Materiali e metodi 4
1.1 Descrizione dell'azienda sperimentale.....4
1.2. Razze utilizzate 4
1.3. Animali e diete utilizzate.....5
1.4. Campionamento delle carni 7
1.5. Produzione dei salami 8
2. Analisi di laboratorio 9
2.1 Analisi delle razioni somministrate.....9
Misurazione del pH, dei parametri colorimetrici e della capacità di ritenzione idrica (WHC) della carne fresca.....9
2.2. Analisi dell'ossidazione dei lipidi (TBARS) 9
2.3. Analisi dell'ossidazione catalizzata dei lipidi e della mioglobina 11
2.4. Central Location Test 12
2.5. Analisi statistica dei dati.....13
3. Risultati e discussione 14
3.1 Performance produttive.....14
3.2 Caratteristiche qualitative della carne 16
3.3 Evoluzione della shelf-life della carne.....16
3.4 Central Location Test 22
4. Conclusioni.....26
5. Materiale e metodi.....29
5.1. Preparazione dei campioni di salame per le prove sperimentali 29
5.1.1. Ottenimento e caratterizzazione analitica dell'estratto fenolico dal concentrato ottenuto dai processi di filtrazione delle acque di vegetazione. 29
5.1.2. Materie prime, ingredienti e manifattura dei salami.....30
5.1.3. Campionamento.....34
5.2 Misurazione dei parametri colorimetrici.....35
5.3 Ossidazione catalizzata dei lipidi e della mioglobina 36
5.4 Analisi dei t-bars ai tempi di stagionatura di 30 gg e 52 gg.....36
5.5 Central location test 36
5.6 Analisi statistica 39
6. Risultati e discussione 39
6.1. Caratteristiche colorimetriche dei salami.....39
6.2. Evoluzione della mioglobina e della stabilità ossidativa dei salami dopo ossidazione catalizzata.....40
6.3. Andamento della concentrazione di mioglobina e della metamioglobina nelle due tipologie di

salame.....41
Andamento della concentrazione dei composti secondari dell'ossidazione lipidica (TBARS). 45
6.4. Stabilità ossidativa dei salami durante la stagionatura.....45
6.5. Central location test 46
7. Conclusioni.....52
7.1. Stabilità ossidativa dei salami 52
7.2. Central location test. 52
Allegato A 53
Allegato B 57
Bibliografia.....61

ESPERIMENTO N1

Le buccette di nocciole nell'alimentazione del suino: performance produttive e qualità della carne

1. Materiali e metodi

1.1 Descrizione dell'azienda sperimentale

La prova sperimentale è stata condotta presso la Società Agricola Cooperativa Agrigest. L'azienda dispone di 500 ettari di terreni situati nei comuni di Amelia, Montecastrilli e Narni (TR) e la sua attività principale è quella di allevamento intensivo di suini a ciclo aperto (Figura 1).

Figura 1 Società Agricola Cooperativa Agrigest, veduta aerea.

L'allevamento conta circa 650 scrofe. Nei terreni vengono poi coltivati orzo, mais e sorgo, destinati completamente all'alimentazione dei suini. Infine le deiezioni vengono trattate mediante un sistema di separazione solido-liquido ed utilizzate come concime per le colture, permettendo di effettuare la coltivazione di mais e sorgo in asciutta. Dal 1996 l'azienda aderisce al progetto dell'Arusia atto alla creazione di una linea genetica di suini denominata "Suino Umbria". Dal 2004 l'allevamento è in filiera, denominata filiera del Suino Umbria. Accanto ad Agrigest esistono infatti due aziende sorelle: La Torre società cooperativa agricola e Profumi e Sapori dell'Umbria. La prima si occupa della produzione di mangime consono alle fasi fenologiche dei suini, e allo spandimento delle deiezioni, la seconda provvede alla macellazione, trasformazione e commercializzazione del Suino Umbria.

1.2. Razze utilizzate

Per la prova sperimentale sono stati utilizzati suini ottenuti mediante un incrocio a tre vie, Large White × Landrace × Cinta Senese (Figura 2). Nel dettaglio le scrofe Large White sono state

incrociate con i verri Landrace, le femmine della derivante progenie sono state incrociate utilizzando il seme di un verro di razza Cinta Senese.

Figura 2 Meticci oggetto della prova sperimentale

1.3. Animali e diete utilizzate

20 soggetti, 10 maschi e 10 femmine sono stati suddivisi in quattro gruppi sperimentali: femmine controllo (89,9±8,45), femmine tesi sperimentale (87,8±11,2), maschi controllo (86,4±5,6), maschi tesi sperimentale (88,1±4,3). Nella dieta sperimentale (S), la crusca e parte del mais erano sostituiti dal perisperma di nocciole (Tabella 1). La prova ha avuto una durata di 78 giorni fino al raggiungimento del peso di macellazione e le due diete sono state somministrate secondo un regime "razionato" che prevedeva, quindi, un ingestione giornaliera non superiore ai 2,7 kg di concentrato al giorno. A fine prova gli animali sono stati pesati al fine di verificare l'accrescimento medio giornaliero, mentre le quantità di mangime somministrato era pesata giornalmente.

Alimento		Buccette di nocciole	Mangime controllo	Mangime sperimentale
Composizione della dieta				
Mais	%		30	26
Farinaccio di frumento	“		20	20
Orzo	“		20	20
Frumento tenero	“		7	7
Soia f.e. 48	“		13	14
Crusca	“		8	-
Lisina	“		0,2	0,2
Calcio	“		1,3	1,3
Premix 0,5	“		0,5	0,5
Perisperma di nocciole	“		-	11
Composizione chimica				
Proteina Grezza	g/kg di S.S.	78.6	183,1	169,2
Estratto etereo	“	255,6	30,5	54,5
NDF	“	503,8	225,8	229,8
ADF	“	387.7	91,8	120,7
Emicellulose	“	116,1	134,0	109,1
Cellulosa	“	184,9	72,5	79,4
ADL	“	202.8	19,3	41,3
Ceneri	“	18,6	47,1	46,7
Valori energetici (MJ/kg)				
ED	MJ/kg	-	13,32	12,45
EM	“	-	12,66	11,83
Fenoli totali	“	140,27		
Tannini totali	“	59,01		

Tabella 1 Composizione della dieta somministrata ai gruppi controllo e sperimentale.

1.4. Campionamento delle carni

La macellazione è avvenuta presso il mattatoio comunale "Butcher service Srl." di Terni (TR) (Figura 3) e successivamente pesate le carcasse.

Figura 3 a) Pesata delle carcasse, b) Dettaglio delle mezzene

Il campionamento è stato svolto congiuntamente al sezionamento delle carni, presso l'azienda "*Italia Authentica* Srl". Sono stati prelevati 20 campioni, uno per animale, di *Longissimus lumborum*, prendendoli tra la 13° e la 17° costola (Figura 4). I campioni sono stati messi sottovuoto e conservati refrigerati per il trasporto fino al laboratorio dell'Unità di Ricerca di Scienze Zootecniche del DSA3, dove sono state svolte le analisi. I campioni sono stati conservati in maniera differente a seconda delle analisi da svolgere.

Figura 4 Prelievo di un campione di *Longissimus lumborum*.

1.5. Produzione dei salami

I salami sono stati realizzati all'interno del salumificio "*Italia autentica* srl" di Arrone (TR). La carne di spalla e collo e il grasso duro di gola e dorso dei maiali sperimentali sono stati separati, distinti per la dieta degli animali, e quindi refrigerati in cella a 4 °C. Dopo 24 h, la materia prima è stata ridotta ad un diametro di 5 mm tramite tritacarne industriale, raffreddata a 4 °C, ed impastata, con una proporzione magro:grasso di 60:40, in due masse di circa 40 kg, distinte per la dieta degli animali. La ricetta, uguale per entrambe le masse di impasto, è mostrata in tabella 2:

Ingredienti	g/kg
Sale	23
Pepe macinato	1
Pepe in grani	1
Aglio granulare	0,4
Mix 2000 (zuccheri)	10
Sodio ascorbato (E301)	0,5
Nitrito (E250)	0,15
Nitrato (E252)	0,15

Tabella 2 Ricetta utilizzata nella preparazione dei salami

Ad ogni impasto da 40 kg sono stati aggiunti 6 g di inoculo starter contente *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus* e *Lactobacillus sakei* (Eurostarter MI RAPID), alla dose di 0,15 g/kg, dopo il rinvenimento in acqua fredda della coltura liofilizzata. Gli impasti così ottenuti sono stati refrigerati in cella a 4°C (14 h) e poi insaccati in salami da 1 kg. La stagionatura è avvenuta in celle automatizzate con controllo e regolazione di temperatura e umidità, secondo il seguente programma:

1 Stufatura: senza controllo dell'umidità, fino al raggiungimento di 22,5 °C al cuore.

2 Asciugatura senza ventilazione: a 20 °C, con il 73% di umidità relativa.

3 Asciugatura con ventilazione: a 14 °C, con l' 80% di umidità relativa, fino ad una perdita di peso totale dei salami del 30%.

2. Analisi di laboratorio

2.1 Analisi delle razioni somministrate

Per quanto riguarda l'analisi chimica delle razioni la sostanza secca, la proteina grezza, l'estratto etereo e le ceneri sono state determinate secondo le procedure AOAC (1995), mentre le frazioni fibrose: fibra neutro-detersa (NDF), fibra acido-detersa(ADF) e lignina acido-detersa(ADL), sono state determinate mediante la procedura di Van Soest et al. (1991).

Misurazione del pH, dei parametri colorimetrici e della capacità di ritenzione idrica (WHC) della carne fresca.

L'analisi del pH è stata svolta sui campioni freschi di *Longissimus lumborum*, effettuando tre misurazioni per ogni muscolo ed il risultato finale è stato ottenuto facendo la media dei tre valori. Per le misure è stato utilizzato un pHmetro Thermo Scientific Orion Star A111 con elettrodo Hanna FC200. Per l'analisi dei parametri colorimetrici la carne è stata lasciata per 1 ora al buio in delle vaschette ricoperte di pellicola in PVC, in modo tale da garantire comunque una buona ossigenazione. A questo punto sono state misurate le coordinate colorimetriche: luminosità (L*), indice di rosso (a*) ed indice di giallo (b*). Anche in questo caso sono state effettuate tre misurazioni di cui è stata fatta la media.

Da questi parametri sono stati ricavati i valori di: saturazione (C*) e angolo di tinta (H*) tramite le formule:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

$$H^* = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \cdot \left(\frac{180}{\pi}\right)$$

Per l'analisi della WHC è stata invece utilizzata la metodica di Nakamura (Nakamura e Katoh, 1985).

2.2. Analisi dell'ossidazione dei lipidi (TBARS)

L'analisi dell'ossidazione dei lipidi è stata effettuata mediante TBARS, con riferimento alla shelf-life della carne. Sono state allestite tre ripetizioni per ogni campione: T_0, T_1 e T_2. I campioni T_0 sono stati immediatamente posti a -80°C, i campioni T_1 sono stati conservati a 4°C per 4 giorni e poi messi a -80°C, mentre per i T_2 la conservazione a 4°C è stata di 8 giorni. In questo modo è stata simulata una conservazione a temperatura di frigorifero della carne. A questo punto è stato effettuato il test dei TBARS sui campioni, seguendo la procedura di Siu e Draper (1978), con alcune modifiche, in modo tale da adattarla allo studio in questione. Una volta tolti i campioni dal

sottovuoto sono stati prelevati 5 g di carne da ogni campione e posti in provette Falcon da 50 mL. A questo punto, per ogni campione, sono stati aggiunti 12,5 mL di acqua distillata e si è effettuata un'omogeneizzazione per 2 minuti, con una pausa dopo 1 minuto. Durante il procedimento il campione è stato mantenuto in un bagno di acqua e ghiaccio, per evitare il surriscaldamento dello stesso, che avrebbe potuto compromettere i risultati. Ad omogeneizzazione ultimata sono stati aggiunti 12,5 mL di acido tricloracetico (TCA) al 10%, in modo tale da far precipitare le proteine. Il campione è stato quindi agitato per alcuni secondi e filtrato, con carta filtrante *LLG medium/fast*, all'interno di Falcon da 25 mL. A questo punto sono stati prelevati 4 mL di ciascun campione e posti in provette di vetro "*pyrex*" da 15 mL. A questi sono stati aggiunti 1 mL di soluzione di acido tiobarbiturico (TBA) 0,06 M ed intanto veniva preparato il "bianco" per tarare lo spettrofotometro UV-VIS, con 2 mL di acqua, 2 mL di TCA al 10% ed 1 mL di TBA. Tutte le provette, compreso il bianco, sono state messe ad incubare ad 80°C per 90 minuti. Al termine i campioni sono stati passati al sonicatore, per eliminare l'eventuale schiuma e a questo punto è stata letta l'assorbanza di ogni campione a 532 nm mediante spettrofotometro UV-VIS. Per la retta di taratura è stata preparata una soluzione stock, mettendo in un matraccio da 250 mL 61 □L di 1,1,3,3-tetra-etossipropano (TEP) e portando a volume con acqua distillata. Sono stati poi prelevati 500 □L di questa soluzione e aggiunti 9,5 mL di acqua distillata. Da questa sono state prelevate 12 aliquote, in modo tale da ottenere 6 campioni con 2 ripetizioni a differenti diluizioni (Tabella 3):

Campione	Aliquota soluzione (uL)	Volume acqua distillata (mL)
A - A_1	0	2
B - B_1	40	1,96
C - C_1	100	1,90
D - D_1	200	1,80
E - E_1	500	1,50
F - F_1	700	1,30

Tabella 3 Diluizioni della soluzione stock per la preparazione della retta di taratura

A questo punto sono stati aggiunti, ad ogni soluzione, 2 mL di TCA ed 1 mL di TBA, agitati e messi ad incubare sempre ad 80°C per 90 minuti. Terminata l'incubazione le provette sono state messe nel sonicatore e letta l'assorbanza a 532 nm. Con questi dati si è costruita poi la retta di taratura.

2.3. Analisi dell'ossidazione catalizzata dei lipidi e della mioglobina

Per la prova si è proceduto, contemporaneamente per entrambe le analisi, mediante la procedura di Monahan et al (2005). Sono stati prelevati 10 g di *Longissimus lumborum* per ognuno dei 20 campioni e posti in provette Falcon da 50 mL. Sono stati poi aggiunti 37,5 mL di acido-4-morfolinetano solfonico (MES), ottenuto preparando una soluzione con1,0523 g di MES idrato in 100 mL di acqua distillata ed aggiustando il pH con NaOH 1 M, fino a portarlo ad un valore di 5,7. Una volta aggiunto il MES il campione è stato posto in omogeneizzatore per 2 minuti con una pausa dopo un minuto, mantenendolo in bagno di acqua e ghiaccio. Al termine i campioni sono stati conservati a 4°C. Questi sono stati posti in un bagno termostatato a 25°C ed una volta raggiunta la temperatura ne sono stati prelevati 4 mL per l'ossidazione dei lipidi e 4 mL per l'ossidazione della mioglobina (T_0). Immediatamente dopo sono stati aggiunti 37 µl di una soluzione di ferro ascorbato, con funzione di catalizzatore, ai campioni nel bagno termostatato. Questa ha permesso di indurre un forte stress ossidativo in un tempo estremamente breve. I campioni sono stati mantenuti aperti in modo tale che avvenga l'ossidazione. Da questi sono state prelevate le aliquote per il T_1 e il T_2 rispettivamente dopo 30 e 60 minuti. I campioni sono stati agitati ogni 15 minuti durante il bagno termostatato. Per l'ossidazione della mioglobina i campioni prelevati nei tre tempi sono stati immediatamente centrifugati a 6000 G per 15 minuti ed alla temperatura di 4°C mediante centrifuga Heraeus Biofuge Stratos. A questo punto i campioni sono stati filtrati con carta filtrante *LLG medium/fast*e ne è stato analizzato lo spettro di assorbimento tra 450 e 750 nm. Per effettuare la "*baseline*" si utilizza acqua distillata. Una volta ottenuto lo spettro è stato necessario fissare i valori di assorbanza a 503, 525, 557, 582 e 730 nm, in modo tale da poter trovare la concentrazione di mioglobina presente nel campione, utilizzando l'equazione di Krzywicki (1982):

$$[Mb] = 0{,}132 * (A_{525} - A_{730})$$
$$DMb\% = -0{,}543R_1 + 1{,}594R_2 + 0{,}552R_3 - 1{,}329$$
$$OMb\% = 0{,}722R_1 - 1{,}432R_2 - 1{,}659R_3 + 2{,}599$$
$$MMb\% = -0{,}159R_1 - 0{,}085R_2 + 1{,}262R_3 - 0{,}520$$

Dove: $R_1 = (A_{582} - A_{730})/(A_{525} - A_{730})$, $R_2 = (A_{557} - A_{730})/(A_{525} - A_{730})$ e $R_3 = (A_{503} - A_{730})/(A_{525} - A_{730})$.

Per l'ossidazione dei lipidi è stata effettuata sempre l'analisi dei TBARS. Sono stati prelevati 4 mL di campione per ogni tempo di analisi e poi sono stati messi in una provetta Falcon da 25 mL, contenente 4 mL di TCA al 10%, in modo tale da far precipitare le proteine. Il campione è stato

agitato e poi filtrato con filtri *LLG medium/fast.* Sono stati prelevati, quindi, 2 mL di filtrato e messi in una provetta in vetro "*pyrex*" da 15 mL, a cui sono stati aggiunti 0,5 mL di TBA 0,06 M. Per il bianco è stata preparata una soluzione con 1 mL di MES , 1mL di TCA al 10% e 0,5 mL di TBA 0,06 M. Il tutto è stato messo ad incubare ad 80°C per 90 minuti. Ultimata l'incubazione, i campioni, sono stati messi nel sonicatore e poi è stata effettuata la misurazione dell'assorbanza a 532 nm. I risultati sono stati espressi in mg di malondialdeide (MDA)/kg di muscolo. In questo caso per la retta di taratura è stata preparata una soluzione stock, mettendo in un matraccio da 250 mL 61 □L di TEP e portando a volume con acqua distillata. Sono stati poi prelevati 500 □L di questa soluzione e poi aggiunti 9,5 mL di TCA al 5%, ottenuti prelevando 4,75 mL di TCA al 10% e aggiungendovi 4,75 mL di MES. Sono state prelevate 12 aliquote di questa soluzione, in modo tale da ottenere 6 campioni con 2 ripetizioni a differenti diluizioni (Tabella 4):

Campione	Aliquota soluzione (uL)	Volume di TCA al 5%
A - A_1	0	2
B - B_1	40	1,96
C - C_1	80	1,92
D - D_1	120	1,88
E - E_1	200	1,80
F - F_1	300	1,70

Tabella 4 Diluizioni della soluzione stock per la preparazione della retta di taratura.

Ad ogni provetta si aggiungono 0,5 mL di TBA, si agita e si mette ad incubare sempre ad 80°C per 90 minuti. Terminata l'incubazione si mettono le provette nel sonicatore e si legge l'assorbanza a 532 nm. Con questi dati si costruirà la retta di taratura

2.4. Central Location Test

Il Central Location Test (CLT) è stato effettuato sui salami derivanti dai suini allevati utilizzando la dieta controllo (C) e la dieta sperimentale (S), al fine di valutare se quest'ultima avesse avuto effetti particolari sulle caratteristiche organolettiche del prodotto. Il test è stato svolto presso lo stabilimento "*Italia autentica* srl" di Arrone (TR) ed è stato suddiviso in tre fasi. Nella prima fase, denominata "assaggio alla cieca"

(B) sono stati offerti ai consumatori entrambi i salami (C e S) in diverso ordine di presentazione ed è stato chiesto loro di esprimere un giudizio di piacere, da 1 (molto sgradevole) a 9 (molto gradevole), sui parametri di colore, profumo, consistenza, sapore e piacere generale, per entrambi i

salami. A questo punto, nella seconda fase, denominata “aspettativa” (E), è stato chiesto ai consumatori di immaginare di assaggiare due salami (X e Y) ottenuti con la stessa ricetta ma provenienti da carni di suini medio-pesanti ottenuti con una differente alimentazione:

Salame X: da suino umbro medio-pesante, alimentato con mangime convenzionale, la cui carne è stata lavorata con metodologia tradizionale dei salumi umbri.

Salame Y: da suino umbro medio-pesante, alimentato con mangime contenente buccette di nocciole, la cui carne è stata lavorata con metodologia tradizionale dei salumi umbri.

È stato quindi chiesto ai consumatori di riportare su una scala da 1 (molto sgradevole) a 9 (molto gradevole) l’aspettativa di piacere generale che si sarebbero aspettati da un eventuale assaggio. Nella terza fase, denominata “assaggio informato” (I), è stato chiesto ai consumatori di assaggiare nuovamente entrambi i salami, sapendo però quale fosse quello derivante da animali C e quale quello derivante da animali S. Anche in questo caso i consumatori sono stati tenuti a esprimere il proprio giudizio su una scala da 1 (molto sgradevole) a 9 (molto gradevole), riguardo a colore, profumo, consistenza, sapore e piacere generale (Allegato A).

2.5. Analisi statistica dei dati

Le performance in vivo, alla macellazione e le caratteristiche chimico-reologiche della carne sono state elaborate statisticamente utilizzando il seguente modello bifattoriale: $Y_{ijk} = \mu + D_i + Sex_j + (D \times Sex)_{ij} + e_{ijk}$

Dove:

Y_{ijk} = osservazione sperimentale;

μ = la media generale;

D_i = effetto fisso dovuto alla dieta (i = C, S);

T_j = effetto fisso dovuto al sesso (j = F, M);

$(D \times T)_{ij}$ = interazione fra la dieta e il sesso;

e_{ijk} = errore residuo.

I dati relativi alla valutazione della shelf-life e all’ossidazione catalizzata della carne sono stati valutati secondo il seguente modello dal quale è stato eliminato l’effetto sesso e l’effetto sesso × tempo di conservazione in quanto mai statisticamente significativi:

$Y_{ijkl} = \mu + D_i + T_j + I_k(D) + (D \times T)_{ij} + e_{ijkl}$, Dove:

Y_{ijkl} = osservazione sperimentale;

μ = la media generale;

D_i = effetto fisso dovuto alla dieta (i = C, s);

T_j = effetto fisso del tempo di conservazione (j = 0, 4, 8 d per la shelf-life e j=0, 30 min, 60 min per l'ossidazione catalizzata);

I_k = effetto random dell'animale entro dieta (k = 1,…20);

$(D \times T)_{ij}$ = interazione fra la dieta e il tempo;

e_{ijkl} = errore residuo;

La significatività statistica degli effetti considerati è stata testata contro la varianza del soggetto entro dieta in accordo con la teoria del disegno sperimentale per misure ripetute (Littell et al., 1998). Le differenze fra le medie sono state testate mediante il test F.

I dati relativi al Central Location Test sono stati elaborati secondo un modello fattoriale che includeva: i parametri socio-demografici, la dieta (C, S), la tipologia di test effettuato (alla cieca (B), informato (I); atteso (E)) e l'interazione test effettuato × dieta:

$Y_{ijklmnop} = \mu + C_i + S_j + Età_k + Prof_l + Istr_m + D_n + T_o + (D \times T)_{no} + e_{ijklmnop}$ Dove:

μ = media generale

C_i = effetto fisso legato alla regione di appartenenza del consumatore (j=1,..,14);

S_j = effetto fisso legato al sesso di appartenenza del consumatore (j=1,..,2);

$Età_k$ = effetto fisso legato all'età del consumatore (k=1,..,4);

$Prof_l$ = effetto fisso legato alla professione del consumatore (l=1,..,10);

$Istr_m$ = effetto fisso legato al livello di istruzione del consumatore (m=1,..,5);

D_n = effetto fisso legato al tipo di carne in funzione della dieta (n=1,..,2);

T_o = effetto legato alle condizioni di assaggio (2 livelli: alla cieca (B) contro Informato(I), per sapore, colore, odore, consistenza e piacere generale) e 3 livelli (B contro atteso (E) contro I per piacere generale);

$(D\times T)_{no}$= interazione;

$e_{ijklmnop}$ = errore casuale;

Successivamente, per saggiare l'influenza dell'informazione e dell'aspettativa sui parametri sensoriali in funzione del tipo di salame (C o S) offerto ai consumatori è stato utilizzato il test χ^2.

3. Risultati e discussione

3.1 Performance produttive

I risultati dell'analisi statistica (tabella 5) hanno messo in evidenza come non si siano riscontrate differenze significative fra i due gruppi sperimentali, riguardanti il peso finale ed il peso della

carcassa, sebbene gli animali del gruppo controllo abbiano evidenziato valori numerici superiori. La resa al macello, è risultata essere in tendenza (P< 0,10) superiore nel gruppo sperimentale, che, tuttavia, ha evidenziato anche un maggiore indice di conversione alimentare (ICA) (P<0,01) e un minore accrescimento medio giornaliero (AMG) (P<0,01). Tale risultato può essere giustificato dal fatto che gli animali del gruppo sperimentale ingerivano più cellulosa e più lignina rispetto al controllo che, per contro, ingeriva più emicellulose ed in definitiva una dieta con maggiore digeribilità, come si evince dalla tabella 4. A causa della minore energia digeribile della dieta sperimentale ci si sarebbe aspettati una maggiore ingestione di sostanza secca, volta a mantenere un'ingestione totale comparabile con quella del gruppo controllo (Garcia et al., 1999).Tuttavia l'adozione di un regime alimentare razionato non permette di dare informazioni soddisfacenti in tal senso. Paiva-Martins et al. (2009) in una prova sperimentale che prevedeva l'utilizzo del 10% di foglie di olivo nella dieta dei suini in finissaggio, hanno invece riscontrato una riduzione della capacità di ingestione degli animali del gruppo sperimentale con conseguente peggioramento delle performance produttive, mentre nel presente lavoro di tesi l'introduzione nella dieta di una fonte di sostanze polifenoliche, come il perisperma delle nocciole, non ha alterato l'appetibilità della dieta stessa. Il fatto, quindi, che non si siano registrate differenze statisticamente significative fra i gruppi sperimentali sul peso della carcassa, sebbene i valori del peso vivo finale fossero superiori negli animali del gruppo controllo, potrebbe essere giustificato da una maggior velocità di transito dell'alimento somministrato agli animali del gruppo sperimentale. Questo determinerebbe una minor incidenza del contenuto del tratto gastro-intestinale sul peso vivo e quindi una resa al macello maggiore, anche se solo in tendenza (P<0,10).

Parametro		Dieta (D)		SEM	D	Sesso	D × Sesso
		C	S				
Peso iniziale	Kg	88,18	87,97	7,85	0,952	0,647	0,593
Peso finale	"	127,2	121,9	8,39	0,182	0,867	0,823
Peso carcassa	"	100,8	97,9	7,5	0,400	0,977	0,703
AMG*	Kg/d	0,500	0,435	0,016	<0,01	0,098	0,081
Resa al macello	%	79,3	80,25	1,2	0,089	0,600	0,101
ISS**	Kg/d	2,43	2,45	0,015	<0,01	0,803	0,403
ICA***		4,69	5,39	0,181	<0,01	0,182	0,148

Tabella 5 Medie stimate delle performance in vivo ed alla macellazione.

*AMG: accrescimento medio giornaliero;

**ISS: ingestione di sostanza secca;

***ICA: indice di conversione alimentare.

3.2 Caratteristiche qualitative della carne

Gli effetti del trattamento alimentare su pH, composizione chimica, capacità di ritenzione idrica e contenuto in mioglobina della carne sono riportati in Tabella 6:

Parametro		C	S	SEM	Dieta (D)	sex	D x sex
pH_{24h}		5,53	5,54	0,21	0,892	0,700	0,229
Umidità	%	76,10	77,0	2,36	0,407	0,928	0,123
Proteina grezza	“	20,16	19,19	2,10	0,321	0,653	0,110
Estratto Etereo	“	2,47	2,69	0,742	0,504	0,063	0,407
Ceneri	“	0,96	0,98	0,10	0,655	0,167	0,173
WHC	“	54,02	55,83	6,3	0,533	0,543	0,540
Mioglobina	mg/g	1,18	1,26	0,287	0,282	0,191	0,764

Tabella 6 Effetto dei fattori sperimentali considerati sui parametri di qualità della carne

Il pH a 24h della carne rientra nei parametri di normalità non evidenziando problemi di PSE (Pale Soft and Exudative) o DFD (Dark Firm and Dry) (de Vries & van der Wal 1992). La composizione chimica non ha evidenziato differenze staticamente significative fra i due gruppi, come pure la WHC ed il contenuto in mioglobina. Si possono osservare notevoli differenze rispetto alla prova sperimentale effettuata da Paiva-Martins et al.(2009),in cui la carne degli animali a cui è stata somministrata la dieta integrata con il 10% di foglie d’olivo, mostra una maggiore capacità di ritenzione idrica. Questo miglioramento del parametro di WHC potrebbe essere dovuto al fatto che la perossidazione dei lipidi di membrana è associata alle perdite essudative del muscolo (Monahan et al., 1994; Asghar et al., 1991; Buckley et al., 1995) e quindi un apporto di antiossidanti alla dieta può avere un effetto positivo su tale caratteristica. Nel presente lavoro di tesi le differenze, però non sono state statisticamente significative, sebbene i valori numerici siano migliori nel gruppo sperimentale.

Anche il contenuto in mioglobina è risultato essere nel range normale della specie, senza alcun effetto della dieta.

3.3 Evoluzione della shelf-life della carne

I parametri considerati per misurare la shelf-life della carne, quali quelli colorimetrici ed i TBARS,

non hanno evidenziato differenze statisticamente significative dovute all'effetto fisso della dieta, mentre il tempo di conservazione (0, 4 e 8d) è risultato essere significativo per gli indici a*, b* e TBARS. La luminosità L* è risultata,invece, essere influenzata tendenzialmente (P < 0,10) dall'interazione Dieta × Tempo (Tabella 7).

Parametro	SEM	Dieta (D)	Tempo (T)	D × T
L*	1,39	0,359	0,433	0,079
a*	0,69	0,152	<0,01	0,315
b*	0,89	0,408	<0,01	0,891
Chroma	0,74	0,139	<0,01	0,209
Tinta	5,17	0,788	<0,01	0,880
TBARS	0,06	0,742	<0,01	0,272

Tabella 7 Effetto dei fattori sperimentali considerati sui parametri colorimetrici e sulla stabilità ossidativa della carne.

In Figura 5 è riportata l'evoluzione degli indici colorimetrici durante la prova di shelf-life.

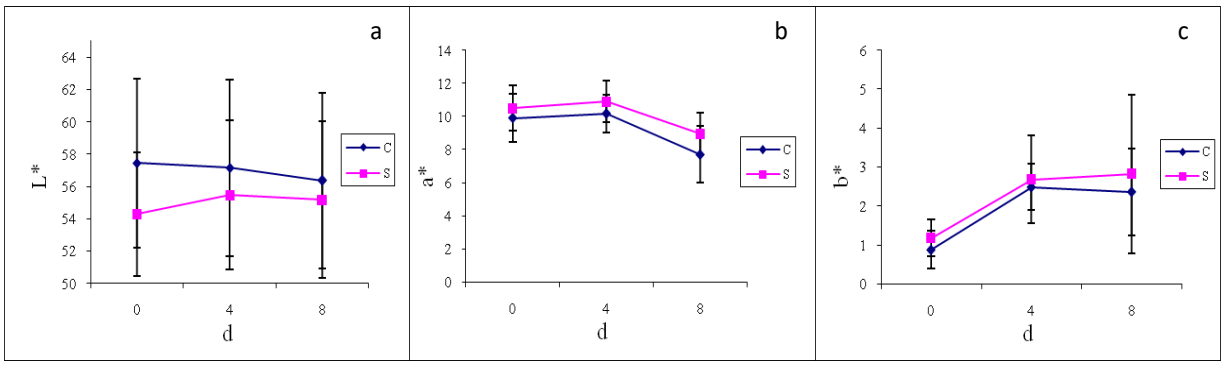

Figura 5 Evoluzione degli indici colorimetrici durante la conservazione della carne

Luminosità L*;

Indice di rosso a*;

Indice di giallo b*.

Dai grafici si può notare come l'indice di rosso a* tenda a diminuire durante la prova di shelf-life, mentre l'indice di giallo b* tenda a salire. L'indice di luminosità L* è, come detto, l'unico a mostrare delle differenze tra le due tesi, con un certo effetto, anche se non significativo, della dieta. Andando ad analizzare l'andamento si può notare che la luminosità delle carni degli animali allevati con la dieta sperimentale aumenti durante la prova, mentre in quelle degli animali controllo tenda a

diminuire con il passare del tempo.

In figura 6 è invece mostrata l'evoluzione dei TBARS durante la prova di shelf life.

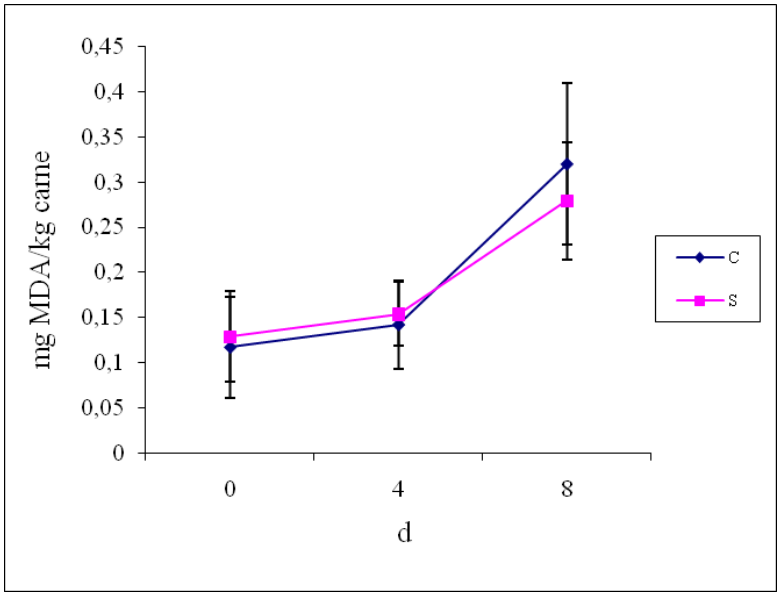

Figura 6 Evoluzione dei TBARS durante la conservazione

Questa rispecchia esattamente le aspettative, infatti si ha una differenza dell'ossidazione dei lipidi significativa tra il tempo T_2 (4d di conservazione) ed il tempo T_3 (8d di conservazione). Al contrario non si ha un effetto statisticamente significativo della dieta relativamente a questo parametro. González et al. (2007), andando a valutare l'effetto dell'integrazione della dieta con diverse fonti di antiossidanti (RRR-□-tocoferolo di origine naturale, □-tocoferil acetato di origine sintetica; composti fenolici e flavonoidi) sulla stabilità ossidativa delle carni. È stata osservata una maggiore stabilità ossidativa delle carni degli animali la cui dieta era integrata con □-tocoferolo di origine naturale,degli animali allevati confinati e nelle carni degli animali provenienti da allevamento brado, mentre lo stesso effetto non era raggiunto nelle carni degli animali le cui diete erano integrate con estratti fenolici e flavonoidi. Relativamente a questi ultimi, essi insieme all'□-tocoferolo e □-tocoferolo contenuto nelle ghiande sono considerati i responsabili maggiori della elevata stabilità ossidativa delle carni dei suini allevati allo stato brado rispetto a quelle degli animali allevati in maniera convenzionale. Tuttavia va considerato che l'effetto antiossidante dei composti fenolici, non solo varia con la quantità di essi ingerita, ma anche dalla singola molecola e dalle sue isoforme assorbite dall'animale (Cantos et al., 2003).

I dati relativi all'ossidazione catalizzata dei lipidi e della mioglobina sono riportati in tabella 8:

Parametro	SEM	D	T	D × T
TBARS	0,045	0,475	<0,0001	0,675
Deossimioglobina	0,41	0,540	0,322	0,720
Ossimioglobina	11,05	0,483	<0,0001	0,708
Metamioglobina	10,76	0.772	<0.0001	0,834

Tabella 8 Effetto dei fattori sperimentali considerati sui parametri di stabilità ossidativa degli omogeneizzati di *Longissimus lumborum* incubati in presenza del catalizzatore Fe/Asc.

Si può notare come anche in questo caso non si abbia un effetto significativo della dieta sull'ossidazione dei lipidi e sul contenuto in deossimioglobina, ossimioglobina e metamioglobina. Le differenze riscontrabili si hanno solamente in relazione al tempo (0, 30 e 60 min) ($P < 0.0001$) fatta eccezione per la percentuale di deossimioglobina. I TBARS non sono risultati essere influenzati dalla dieta sebbene a 60' si possa osservare una differenza numerica a favore delle carni del *Longissimus lumborum* del gruppo sperimentale. (Figura 7).

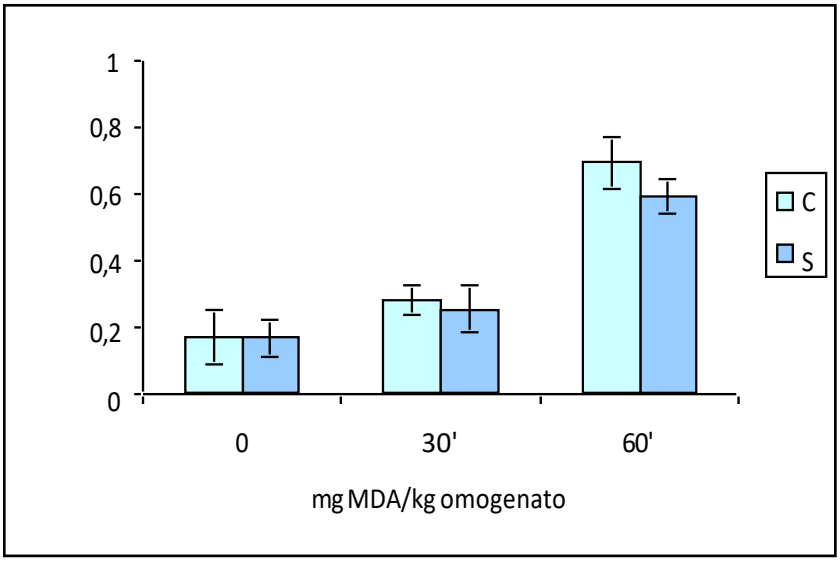

Figura 7 Evoluzione del contenuto dei TBARS durante l'ossidazione catalizzata del muscolo *Longissimus lumborum* in presenza di Fe/Asc

Questo trova conferma anche in altri lavori sperimentali riguardanti suini alimentati con fonti di antiossidanti, in cui questi hanno avuto notevoli effetti sulla concentrazione di MDA nella carne (Cava et al. 1999).

Infine in figura 8 sono riportate le percentuali di deossimioglobina, ossimioglobina e metamioglobina riscontrate nei campioni ai tempi T_0, T_1 e T_2.

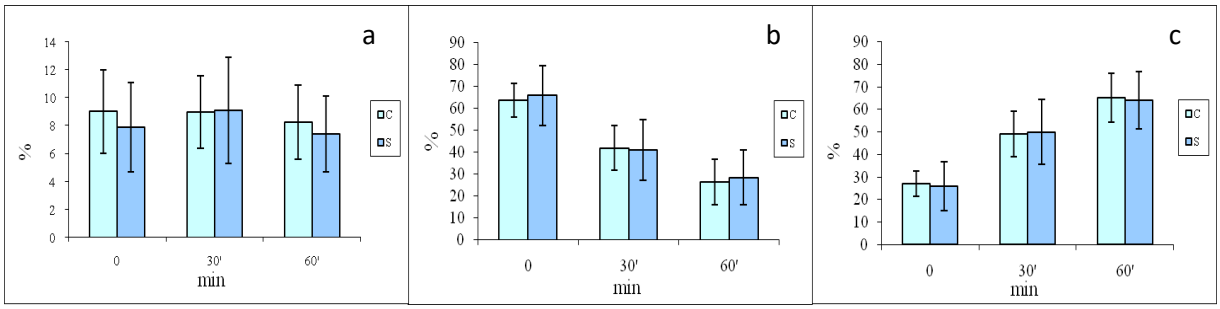

Figura 8 Evoluzione della percentuale di deossimioglobina (a), di ossimioglobina (b) e di metamioglobina (c) negli omogenati di *Longissimus lumborum* sottoposti ad ossidazione catalizzata in presenza del catalizzatore Fe/Asc.

Si può osservare come la concentrazione di deossimioglobina (DMb) rimanga pressoché costante nei tre tempi, mentre la concentrazione di ossimioglobina (OMb) tenda a diminuire e quella di metamioglobina tenda ad aumentare. Infatti la DMb è la forma della mioglobina con l'atomo di ferro allo stato ferroso e con il 6° legame libero ed ha, di conseguenza, una forte affinità per l'ossigeno (King et al., 2011); infatti, quando la DMb viene a contatto con l'ossigeno atmosferico, si trasforma rapidamente in OMb. Nell'ossidazione catalizzata, al momento dell'omogeneizzazione dei campioni di carne, gran parte della DMb presente nel tessuto muscolare è venuta a contatto con l'ossigeno atmosferico, per un periodo di tempo sufficiente ad ossigenarla a OMb. Inoltre, sebbene nel muscolo siano presenti complessi enzimatici capaci di convertire la OMb e la MMb in DMb, questa capacità è destinata a esaurirsi dopo la morte dell'animale a causa della conseguente mancanza del cofattore principale NADH (McKenna et al., 2005). L'evoluzione speculare dell'andamento della percentuale di OMb e di MMb indica che, nelle nostre condizioni sperimentali, i trend osservati per OMb e MMb danno, in pratica, le stesse informazioni, conseguentemente la discussione si baserà soltanto sulla evoluzione della sola MMb. Inoltre, come già osservato per DMb, la forte ossigenazione della mioglobina durante la preparazione degli omogeneizzati ha causato la formazione di altissimi livelli iniziali di OMb, che potrebbero essere irrealistici rispetto a quelli normalmente rinvenibili nella carne fresca. Invece, la tecnica di preparazione degli omogeneizzati non induce l'ossidazione della mioglobina, per cui i livelli iniziali di MMb corrispondono a quelli effettivamente presenti nel muscolo. Infine, intuitivamente è più semplice associare l'aumento nelle percentuali di MMb al deterioramento ossidativo della carne in quanto l'imbrunimento della carne è legato direttamente all'accumulo di MMb.

A scopo rappresentativo le sottostanti figure 18, 19 e 20, mostrano l'evoluzione dello spettro della

mioglobina nei tre tempi di incubazione (0, 30 e 60 min). Al tempo T_0 (Figura 9) si può osservare lo spettro tipico della mioglobina non ossidata, in cui compare un picco a forma di "M" tra 600 e 500nm.

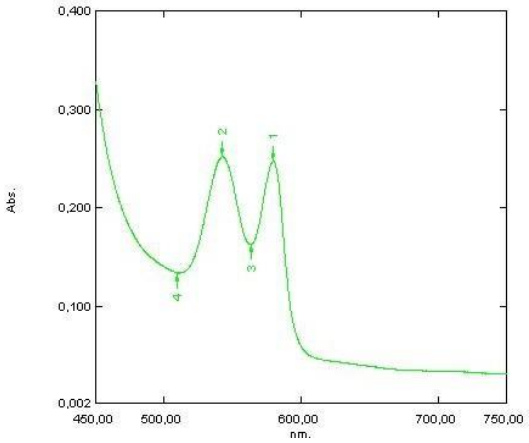

Figura 9 Spettro di assorbimento della mioglobina al tempo T_0.

All'aumentare del tempo di ossidazione si hanno notevoli modificazioni nello spettro di assorbimento della mioglobina. Al tempo T_1 si ha la formazione di due nuovi picchi, prima e dopo rispetto a quello della mioglobina non ossidata ed un appiattimento di quest'ultimo (Figura 10).

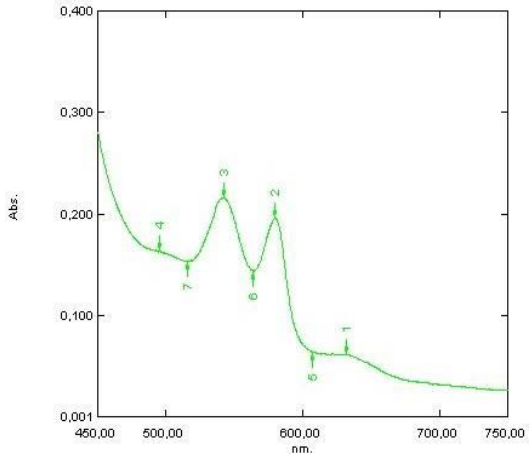

Figura 10 Spettro di assorbimento della mioglobina al tempo T_1. Si noti la formazione dei due nuovi picchi (1 e 4) relativi all'ossidazione della mioglobina.

Al tempo T_2 questi nuovi picchi aumenteranno d'intensità, mentre il picco principale diminuirà ulteriormente (Figura 11).

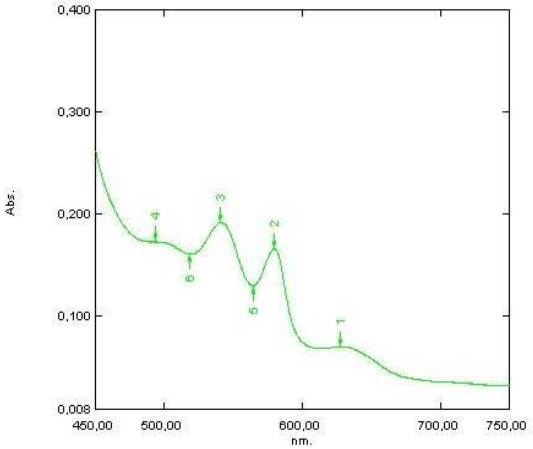

Figura 11 Spettro di assorbimento della mioglobina al tempo T_2. Si noti l'aumento d'intensità dei picchi 1 e 4 e l'abbassamento d'intensità del picco della mioglobina non ossidata.

In merito occorre tenere presente che l'ossidazione dei lipidi e della mioglobina sono due processi strettamente collegati, tanto che l'ossidazione di uno porta normalmente alla formazione di specie chimiche che tendono ad aumentare l'ossidazione dell'altro (Faustman et al. 2010). Un aspetto che va necessariamente analizzato è il fatto che l'ossidabilità della mioglobina varia da specie a specie (Ramanathan et al. 2009). Uno dei composti derivanti dall'ossidazione dei lipidi, che maggiormente tende a coadiuvare l'ossidazione della mioglobina, è il 4-idrossi-2-nonenale (HNE). Questo attacca i residui di istidina presenti sulla molecola di mioglobina, inducendone l'ossidazione. La differente struttura della molecola di mioglobina da specie a specie giustifica il diverso grado di ossidazione delle carni in animali di specie differente. In particolare, nella carne bovina, la mioglobina presenta sette differenti residui di istidina (HIS 24, 36, 81, 88, 93, 119 e 152) a cui si può rapidamente attaccare l'HNE, mentre nella carne suina questi residui sono solamente tre (HIS 24, 36 e 119).
Di questi residui i più facilmente attaccabili sono l'HIS 36 nel suino e l'HIS 81, 88 e 93 nel bovino, con una preferenza per quest'ultima, che è presente esclusivamente nella carne bovina. Questo spiega il perché la mioglobina dei bovini tenda ad ossidarsi più facilmente della mioglobina dei suini (Suman et al., 2007). Ciò potrebbe anche giustificare, quindi, i differenti risultati conseguiti da diversi autori relativamente all'effetto dell'integrazione alimentare con vitamina E, sulla stabilità ossidativa delle carni (Cannon et al., 1996; Houben et al., 1998).

3.4 Central Location Test

Le persone coinvolte nel CLT, provenivano dal 5 regioni differenti ed erano prevalentemente di sesso maschile (56%), di mezza età (fra I 45 e 64 anni: 51%), laureati (36%), operai (16%) o

studenti (12%) (Tabella 9).

Età	< 25 anni	10
	25 - 44 anni	26
	45 - 64 anni	51
	> 64 anni	13
Sesso	Maschio	56
	Femmina	44
Grado di istruzione	Licenza elementare	1
	Diploma di scuola media inferiore	10
	Diploma di istituto professionale	15
	Diploma di scuola media superiore	34
	Laurea	40
Professione	Legislatori, imprenditori o alta dirigenza	5
	Professioni intellettuali o scientifiche	14
	Professioni tecniche	13
	Professioni esecutive nel lavoro d'ufficio	10
	Professioni nelle attività commerciali o nei servizi	9
	Artigiani, operai specializzati o agricoltori	16
	Forze armate	3
	Studenti	15
	Pensionati / Disoccupati	15

Tabella 9 Caratteristiche socio-demografiche dei partecipanti al consumer test (%).

Gran parte dei partecipanti hanno dichiarato di consumare carne conservata più di una volta alla settimana (44%), prevalentemente a casa (78%) ed acquistata affettata in confezioni (49%) al supermercato (53%) (Tabella 10).

Frequenza di consumo	<1 al mese	12
	>1 al mese	33
	>1 a settimana	44
	Ogni giorno	11
Luogo di consumo	A casa	78
	Fuori casa	22
Luogo di acquisto	Produttore	14
	Negozio specializzato	33
	Supermercato	53
Modalità di acquisto	Affettato al banco	33
	Vaschette	49
	Intero o tranci	18

Tabella 10 Abitudini di consumo di salumi dei partecipanti al consumer test (%).

Fra i salumi (Tabella 11) il prosciutto crudo è consumato spesso dal 63% degli intervistati mentre il salame lo è dal 34% di coloro che hanno partecipato al test, mentre talvolta lo consumano il 49%.

	Prosciutto crudo	Prosciutto cotto	Salame	Mortadella	Bresaola
Spesso	63	16	34	28	18
Talvolta	37	64	49	59	63
Mai	0	20	17	13	19

Tabella 11 Frequenza di consumo di salumi (%).

Relativamente al test tali caratteristiche socio-demografiche non ne hanno influenzato in maniera statisticamente significativa i risultati così come non è risultato essere statisticamente significativo l'effetto della dieta, mentre significativo è risultato essere l'effetto dell'interazione Dieta × Tipo di test (Tabella 12).

		C	S	s.e.
Blind	Aroma	6.82	6.69	1.54
	Taste	7.01	6.68	1.59
	Colour	7.08	6.89	1.44
	Texture	6.95	7.56	1.45
	Overall-liking	7.29	7.00	1.43
Expected	Overall-liking	6.78	7.19	1.53
Informed	Aroma	6.80	7.00	1.64
	Taste	6.83	7.16	1.56
	Colour	6.99	7.11	1.43
	Texture	6.84	6.93	1.52
	Overall-liking	6.95	7.21	1.51

Tabella 12 Punteggi medi attribuiti dai partecipanti al consumer test.

Nello specifico, significativo è risultato essere l'effetto del tipo di test nell'ambito del gruppo controllo (C) ($P < 0,05$). Infatti il valore medio del piacere generale (Overall- Liking) relativo ai salami (C) nel test alla cieca (test B) è risultato essere superiore rispetto a quello ottenuto nell'atteso (test E) per gli stessi salami ($P < 0,0001$). In pratica, e solo relativamente ai salami ottenuti dal gruppo controllo, si è avuta una disconferma positiva, cioè il prodotto è risultato migliore di quanto atteso. La differenza fra l'informato e il test alla cieca risulta essere negativa, evidenziando uno spostamento del piacere generale verso l'atteso (assimilazione negativa), che tuttavia diventa "incompleta" in quanto la differenza fra l'informato e l'atteso è statisticamente significativa, mentre avrebbe dovuto essere non significativa per essere "completa" (Tabella 13).

	Controllo	Sperimentale
B	6.58± 0.71	6.31± 0.71
E	6.15± 0.71	6.51± 0.71
I	6.30 ± 0.71	6.49± 0.71
B – E	+ 0.43* Disconferma Positiva[a]	+ 0.19 Nessuna Disconferma
I – B	- 0.28**Assimilazione[b]	-
I – E	+ 0.15** Incompleta[c]	-

Tabella 13 Punteggio (LSM ± S.E.) dato dai partecipanti al consumer test al Piacere generale (OL) nei tre test.

B: test alla cieca, E: test dell'aspettativa, I: test informato.

* P < 0,05, ** P < 0,001

a: il prodotto risulta essere migliore di quanto atteso. b: il piacere generale è sbilanciato verso l'atteso.

c: L'informazione ha poca influenza sul piacere generale.

In conclusione l'utilizzo del perisperma delle nocciole nell'alimentazione dei suini non penalizza il gusto dei salami e l'informazione sul suo utilizzo e sulle sue caratteristiche non influenza negativamente il piacere generale atteso ed informato dei consumatori coinvolti.

4. Conclusioni

L'utilizzo dei sottoprodotti dell'industria agro-alimentare come integrazione della dieta degli animali allevati rappresenta un tema di ricerca e sperimentazione estremamente interessante. La necessità di sostituire parte degli alimenti utilizzati nella gestione tradizionale degli allevamenti è reale, al fine di eliminare l'eventuale competizione feed/food. Inoltre la possibilità di utilizzare dei sottoprodotti ad azione funzionale, al fine di modificare alcune caratteristiche dei prodotti (carne, latte o uova) derivanti da tali animali, rappresenta un interessante spunto per la ricerca. Questo è dimostrato dal fatto che sempre più studi scientifici stanno ponendo la loro attenzione su questo aspetto della gestione alimentare all'interno degli allevamenti.

Nel dettaglio l'utilizzo del perisperma delle nocciole come integrazione alla dieta dei suini in fase di finissaggio ha mostrato che:

A livello di performance produttive non sono state riscontrate differenze significative, tra la dieta controllo e quella sperimentale, per quanto riguarda il peso finale ed il peso delle carcasse, sebbene gli animali del gruppo controllo abbiano evidenziato valori numerici superiori. La resa al macello, è

risultata essere in tendenza ($P < 0,10$) superiore nel gruppo sperimentale, che, tuttavia, ha evidenziato anche un maggiore indice di conversione alimentare (ICA) ($P < 0,01$) e un minore accrescimento medio giornaliero (AMG) ($P < 0,01$), imputabile alla differente digeribilità delle due diete.

Non sono stati riscontrati effetti statisticamente significativi della dieta sulle caratteristiche qualitative della carne: pH, composizione chimica, WHC e contenuto di mioglobina.

L'analisi dei TBARS relativi alla shelf-life della carne non ha mostrato differenze statisticamente significative dovute all'effetto fisso della dieta, così come per quanto riguarda i parametri colorimetrici. Si è evidenziata solamente a riguardo della luminosità L* una tendenza ($P < 0,10$) derivante dall'interazione Dieta × Tempo. L'evoluzione dei TBARS e dei parametri colorimetrici durante la prova di shelf-life ha invece rispecchiato le aspettative, mostrando differenze significative dei dati ($P < 0,01$) nei tre tempi (T_0, T_1 e T_2) in cui è stata svolta l'analisi.

L'ossidazione catalizzata dei lipidi, non ha dato risultati statisticamente significativi, sebbene nell'analisi dei TBARS a 60' si possa osservare una differenza numerica a favore delle carni del gruppo sperimentale. Differenze significative si sono avute solamente in relazione al tempo (0, 30 e 60 min) ($P < 0.0001$).

L'ossidazione catalizzata della mioglobina non ha dato risultati significativi riguardanti l'effetto della dieta sul contenuto in deossimioglobina, ossimioglobina e metamioglobina. Differenze significative si sono avute solamente in relazione al tempo (0, 30 e 60 min) ($P < 0.0001$), fatta eccezione per la percentuale di deossimioglobina che è rimasta pressoché costante.

L'effetto della dieta non è risultato essere statisticamente significativo per il CLT, in cui l'unica significatività è stata ottenuta dall'interazione Dieta × Tipo di test.In particolare, per quanto riguarda i salami derivanti dagli animali del gruppo controllo, è stata ottenuta una disconferma positiva, ovvero il prodotto è risultato migliore di quanto atteso.

ESPERIMENTO N2

Impiego di estratto fenolico da acque di vegetazione in sostituzione ai nitrati e nitriti nei salami: stabilità ossidativa e accettabilità da parte del consumatore.

5. Materiale e metodi

5.1. Preparazione dei campioni di salame per le prove sperimentali

5.1.1. Ottenimento e caratterizzazione analitica dell'estratto fenolico dal concentrato ottenuto dai processi di filtrazione delle acque di vegetazione.

Per la prova sperimentale uno degli ingredienti fondamentali da inserire nella ricetta di parte dei salami è stato l'estratto fenolico (P), ottenuto nel dipartimento di "tecnologie e biotecnologie degli alimenti" della facoltà di Agraria di Perugia.

Per la costituzione di detto estratto sono stati utilizzati differenti concentrati da acque di vegetazione, proveniente dall'estrazione meccanica dell'olio. Il concentrato fenolico è stato ottenuto attraverso un passaggio delle acque reflue in membrana entro le 24 ore dalla loro estrazione. Queste sono state preventivamente trattate con enzimi con attività pectinasica ed emicellulasica (Preparazione enzimatica O S-Max, OE Italia Srl, Marsala, Italia). Tale preparato enzimatico è stato aggiunto alle acque reflue (500 gr/t) e fatto agire a temperatura ambiente (20°C) per 12 ore. I trattamenti eseguiti sono stati microfiltrazione a membrana, ultrafiltrazione ed osmosi inversa. Tutto il processo è stato eseguito a temperatura controllata (20°C) attraverso uno scambiatore di calore, ed in atmosfera satura di N_2 utilizzato per ridurre la quantità di O_2 nello spazio di testa dei contenitori durante e dopo il processo di filtrazione. Per la microfiltrazione è stata impiegata una membrana tubolare in polipropilene (pori di 0,1-0,3 µm) con una superficie totale di 8 m^2. L'ultrafiltrazione è invece stata eseguita con due membrane a spirale in poliammide e tracce di polisulfone, (pori di 7 kDa) ed una superficie totale di 16 m^2. Nell'ultima fase di concentrazione per osmosi inversa è stata invece impiegata una membrana a spirale ed a film-sottile (TFM), composta da Durasan ™ e polisulfone con una superficie totale di 9 m^2 , con capacità massima lavorativa di 60 bar. Questa membrana è in grado di trattenere molecole con un peso di 100 Dalton. Tutte le membrane sono state acquistate da Permeare S.r.l. (Milano, Italia).

L'estratto fenolico, utilizzato per la preparazione dei salami, è stato ottenuto mediante estrazione liquido-liquido dai concentrati delle acque di vegetazione secondo questa procedura: 1 l di concentrato è stato omogeneizzato con 0,5 l di etil acetato per 3 minuti, la fase organica è stata recuperata, il processo è stato ripetuto due volte, le fasi organiche sono state riunite ed è stato aggiunto sodio solfato anidro, per allontanare i residui di acqua. La fase organica ottenuta è stata filtrata con un filtro di carta per rimuovere i residui di solfato anidro, il solvente è stato evaporato completamente mediante rotavapor. L'estratto ottenuto è stato sottoposto a lavaggio con etanolo e successivamente il solvente è stato parzialmente rimosso prima con rotavapor e poi sotto corrente di azoto. La valutazione dei composti fenolici è stata eseguita solubilizzando 50 mg di estratto con 5

mL di metanolo, filtrato con filtro da siringa 0,45 µm CA (Whatman, Clifton, NJ, USA) e iniettati in HPLC.

Sono stati ottenuti, quindi, differenti lotti di estratto derivanti dai concentrati congelati della precedente campagna olearia. Gli estratti che presentavano caratteristiche quanti-qualitative differenti in termini di composizione fenolica *(Tabella 5)* sono stati opportunamente miscelati in modo da ottenere una massa omogenea per le singole prove di produzione dei salami. La determinazione dei composti fenolici è stata effettuata mediante HPLC (Selvaggini et al 2006) utilizzando una colonna Spherisorb ODS1 250 x 4,6 mm con diametro delle particelle di 5 µm (Phase Separation Ltd., Deeside, UK). La strumentazione HPLC era costituita da un sistema Agilent Technologies modello 1100 composto da: una pompa quaternaria completa di degassatore, un auto campionatore, un comparto colonne termostatato, rivelatore a fotodiodi UV-Vis (DAD) e da un rivelatore di fluorescenza (FLD). L'estratto fenolico risulta costituito principalmente da derivati dell'oleuropeina quali idrossitirosolo (3,4-DHPEA) e 3,4-DHPEA-EDA, gli altri composti fenolici sono rappresentati da verbascoside, tirosolo, p-HPEA-EDA e acido vanillico, rispettivamente in ordine decrescente di concentrazione.

	LottoA, B e C	**Lotto D**	**Lotto E**	**Lotto F**
3,4-DHPEA	64.3 ± 0.1	41.5 ± 0.1	70.4 ± 0.0	106.9 ± 0.2
***p*-HPEA**	12.1 ± 0.0	8.6 ± 0.1	11.4 ± 0.0	17.8 ± 0.0
Acido Vanillico	0.8 ± 0.0	0.4 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.9 ± 0.0
Verbascoside	26.4 ± 0.1	22.6 ± 0.4	25.6 ± 0.5	28.8 ± 0.1
3,4-DHPEA-EDA	534.1 ± 2.6	652.6 ± 3.3	479.3 ± 4.2	322.1 ± 1.0
***p*-HPEA-EDA**	5.0 ± 0.2	7.2 ± 0.2	4.9 ± 0.0	2.5 ± 0.2
Somma delle frazioni fenoliche	642.6 ± 2.6	732.9 ± 3.3	592.4 ± 4.2	479.1 ± 1.0

Tabella 14:.Composizione fenolica (mg/g) dell'estratto ottenuto dai concentrati di acque di vegetazione

5.1.2. Materie prime, ingredienti e manifattura dei salami

La carne utilizzata per la realizzazione dei salami è stata messa a disposizione dalla Società Agricola Cooperativa Agrigest; un'azienda che dispone di 500 ettari di terreni situati nei comuni di Amelia, Montecastrilli e Narni (TR), la cui attività principale è quella di allevamento intensivo di

suini a ciclo aperto. 16 soggetti (8 maschi e 8 femmine), del tipo genetico femmina *Large White x Landrace* x maschio *Cinta Senese*, allevati in intensivo, fino a 7 mesi di età, per un peso medio di 88 kg/capo, sono stati separati in due gruppi da 8 capi (4 maschi e 4 femmine).

I due gruppi sono stati allevati in intensivo con due diete di finissaggio diverse: una di controllo (C) e una arricchita con "buccette" di nocciola (S) (vedi *Tabella 15*)

La prova è durata 78 giorni, durante i quali durante i quali le due diete sono state somministrate in ragione di 2,7 kg/capo/d seguendo un regime razionato per entrambi i gruppi sperimentali.

Al termine della prova, ad un peso medio di 125 kg, i suini sono stati macellati presso il mattatoio Comunale di Terni e, dopo due giorni di refrigerazione, le carcasse sono state trasferite al salumificio "Italia Authentica srl" di Arrone (TR) e spolpate.

La carne di spalla e collo e il grasso duro di gola e dorso dei maiali costituenti i gruppi sperimentali sono stati messi in vassoi (*Figura 12*), ciascuno per ogni animale, distinti per la dieta, e quindi refrigerati in cella a 4 °C.

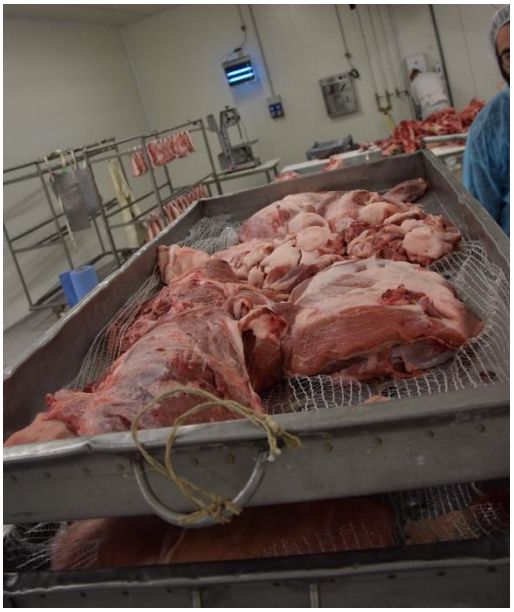

Figura 10: preparazione dei vassoi con pezzi di carne, distinti per animale e per dieta

Alimento		Buccette di nocciole	Mangime controllo %	Mangime sperimentale
Composizione della dieta				
Mais	%		30	26
Farinaccio di frumento	“		20	20
Orzo	“		20	20
Frumento tenero	“		7	7
Soia f.e. 48	“		13	14
Crusca	“		8	-
Lisina	“		0,2	0,2
Calcio	“		1,3	1,3
Premix 0,5	“		0,5	0,5
Perisperma di nocciole	“		-	11
Composizione chimica				
Proteina Grezza	g/kg di S.S.	78.6	183,1	169,2
Estratto etereo	“	255,6	30,5	54,5
NDF	“	503,8	225,8	229,8
ADF	“	387.7	91,8	120,7
Emicellulose	“	116,1	134,0	109,1
Cellulosa	“	184,9	72,5	79,4
ADL	“	202.8	19,3	41,3
Ceneri	“	18,6	47,1	46,7
Valori energetici (MJ/kg)				
ED	MJ/kg	-	13,32	12,45
EM	“	-	12,66	11,83
Fenoli totali	“	140,27		
Tannini totali	“	59,01		

Tabella 15: Composizione della dieta somministrata ai gruppi controllo e sperimentale.

Dopo 7 giorni, da ogni vassoio (animali C 106, 107, 109, 111, 115, 116, 118, 120 e S 108, 110, 112, 117, 121, 123, 124, 125) sono stati pesati 10 kg di massa magra (80%) e massa grassa (20%), cubettati grossolanamente al coltello e macinati con un tritacarne (La Minerva, C/E 680N), diametro 3 mm, sempre mantenendo l'individualità della massa. Subito dopo la macinatura, la carne è stata refrigerata in cella a 4 °C per 24 h.

La carne macinata di ogni animale (n 16) è stata quindi separata in due piccole masse da 5 kg (n 32) ed impastata con impastatrice industriale *CI MEC (Figura 11)* secondo due diverse ricette *(Tabella 16):* una di controllo (N) contente nitrito (E250), nitrato (E252) e ascorbato (E301), ed una sperimentale (P) nella quale E250 ed E252 sono stati sostituiti dall' estratto fenolico da acqua di vegetazione precedentemente preparato, che è stato aggiunto sotto forma di 100 ml di soluzione idroalcolica al 30% per 5 kg di impasto. All'impasto N è stata aggiunta un'uguale quantità di soluzione idroalcolica, priva di estratto fenolico.

Figura 11: impastatrice industriale *CI MEC*.

Ingrediente	Salame con N (g/kg)	Salame con P (g/kg)
Sale	23	23
Pepe macinato	1	1
Pepe in grani	1	1
Aglio granulare	0,4	0,4
Mix 2000 (zuccheri)	10	10
Sodio ascorbato (E301)	0,5	-
Nitrito (E250)	0,15	-
Nitrato (E252)	0,15	-
Estratto fenolico	-	0,8

Tabella 16: ricette delle due tipologie di saleme: con Nitriti e Nitrati (N), e con estratto fenolico (P).

Ad ogni impasto è stato poi aggiunto un inoculo starter contente *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus* e *Lactobacillus sakei* (Eurostarter MI RAPID), alla dose di 0,15 g/kg: 24 g di coltura liofilizzata sono stati disciolti in 320 ml di acqua fredda e ad ogni impasto di 5 kg di carne sono stati aggiunti 10 ml di questa soluzione.

Gli impasti così ottenuti sono stati subito refrigerati in cella a 4 °C (6-12 h) e poi insaccati con insaccatrice industriale in salami da 1 kg, sempre mantenendo l'individualità del prodotto.

I salami appesi sono stati, quindi, portati nella cella da stufatura fino al raggiungimento di 22,5 °C al cuore del prodotto, poi hanno subito una prima fase di asciugatura senza ventilazione e infine una seconda fase asciugatura con ventilazione a 20 °C con umidità dal 73% che decresce fino al 65%.

5.1.3. Campionamento

Al momento dell'impasto individuale dei salami sono stati prelevati da ciascuno di essi circa 150 g di composto, costituendo il T0 dei salami; gli altri salami individuali sono stati campionati dopo 30 (T1) e 52 (T2) giorni.

Tutti i campioni ottenuti sono stati messi sottovuoto (vedi *Figura 12)* e, quindi, conservati a -80°C.

Figura 12: campioni di salame messi sottovuoto

Delle 4 tipologie di salami ottenute:

Dietra Controllo + Nitrato/ Nitrito (CN)

Dieta Controllo + Estratto fenolico (CP)

Dieta Sperimentale (con buccette di nocciola) + Nitrato/ Nitrito (SN)

Dieta sperimentale (con buccette di nocciola) + Estratto fenolico (SP)

Sono state effettuate le analisi della ossidazione catalizzata dei lipidi e della mioglobina sul T0 per verificare la capacità antiossidante dei campioni. Successivamente sono state effettuate anche le analisi dei T-BARS sui salami del T1 e T2 di stagionatura per verificare l'effettivo stato di ossidazione degli acidi grassi tramite la determinazione della concentrazione dei prodotti secondari di ossidazione (nello specifico si va a valutare la concentrazione di Malondialdeide MDA). Il nostro obiettivo è stato quello di valutare l'influenza della dieta dell'animale, del tempo, della ricetta del salame nonché dei diversi fattori combinati, sull'avanzamento del processo ossidativo.

5.2 Misurazione dei parametri colorimetrici

A questo punto sono state misurate le coordinate colorimetriche: luminosità (L*), indice di rosso (a*) ed indice di giallo (b*). Anche in questo caso sono state effettuate tre misurazioni di cui è stata fatta la media.

Da questi parametri sono stati ricavati i valori di: saturazione (C*) e angolo di tinta (H*) tramite le formule:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

$$H^* = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \cdot \left(\frac{180}{\pi}\right)$$

5.3 Ossidazione catalizzata dei lipidi e della mioglobina

La resistenza del salame al deterioramento ossidativo è stata determinata in omogeneizzati del prodotto stesso incubati in presenza di solfato ferroso e acido ascorbico (Fe/Asc), al fine di catalizzare le reazioni inducendo un forte stress ossidativo in tempi rapidissimi. La procedura seguita è stata quella descritta da Monahan et al. (2005) alla quale sono state apportate alcune modifiche.

Come prima cosa i campioni individuali di salame sono stati tritati finemente con un coltello e di ognuno di essi sono stati pesati 10 gr in provette Falcon da 50 mL, quindi conservati a -80° fino al giorno delle analisi. Di seguito viene riportata la procedura seguita in laboratorio.

Per la procedura, si rimanda al relativo capitolo dell'esperimento n 1.

5.4 Analisi dei t-bars ai tempi di stagionatura di 30 gg e 52 gg

Sui salmi ottenuti dall'impasto precedentemente analizzato, e stagionati 30 gg (T1) e 52 gg (T2) sono stati, quindi, ulteriormente effettuate analisi dei T-BARS, al fine di comparare l'ossidazione catalizzata indotta con la reale ossidazione in stagionatura. Per l'analisi è stato seguito al dettaglio lo stesso protocollo precedentemente descritto, utilizzando, però, 5 gr di salame e non usando il ferro ascorbato come catalizzatore. È stato impiegato il TCA al 10%, mantenendo le proporzioni per la realizzazione della curva standard come le precedenti analisi (vedi procedura di Siu and Draper (1978)).

Animale $(DxR)_m$ = effetto random dell'animale entro dieta e ricetta;

Tutti i dati sono stati elaborati mediante il software R.

5.5 Central location test

Il Central Location test è un test quantitativo affettivo volto a misurare quanto un'informazione estesa riguardo i processi di produzione degli animali possano influenzare il livello di accettabilità del salame da parte dei consumatori (Stone e Sidel, 1993;A.A.V.V., 1994; Hermann, 1991; Lawless e Heimann, 1998; Novak, 2007; RQPA, 1987).

Il consumer test è stato svolto il giorno 07 DICEMBRE 2018 presso il salumificio "Italia Authentica s.r.l." di Arrone (TR), che si è occupato anche della fase di produzione dei salami.

Il pomeriggio in cui si è svolto il consumer si è proceduto, per tempo, ad affettare i salami ottenuti dai due differenti sistemi.

All'arrivo dei consumatori si sono illustrate loro le modalità di prova.

I campioni proposti nelle varie fasi del test sono stati, in precedenza, sistemati (da personale del

nostro dipartimento, i soli a conoscere le diverse caratteristiche dei campioni) in appositi contenitori di carta (due per ogni piatto), e contrassegnati da precise lettere, come descritto di seguito (*Figura 13*).

Figura 13: disposizione del Consumer test

Lo svolgimento del Consumer test può essere schematizzato come distinto, nel nostro caso, in quatro fasi (Piasentier et al., 2005).

Fase 1- DISTRIBUZIONE DEI QUESTIONARI E INDAGINE DEMOGRAFICA. Il test di consumo vero e proprio è stato preceduto dalla distribuzione ai partecipanti di un questionario anonimo (*Allegato B*), che conteneva sia domande concernenti i dati demografici dei partecipanti sia altre, relative alle modalità del consumo di carne. Per quanto riguarda i dati demografici, per cercare di inquadrare il consumatore sono stati richiesti: residenza, sesso, professione, grado di istruzione, età.

Le domande inerenti al consumo di carne riguardavano l'abitudine al consumo di carne trasformata, il tipo di carne consumata e la frequenza, il luogo e le modalità di acquisto.

I consumatori sono stati assistiti, sia durante la compilazione di questa scheda sia in seguito, per istruirli sull'uso delle scale di valutazione per i diversi parametri organolettici.

Fase 2- TEST DI ASSAGGIO ALLA CIECA (BLIND TEST-B). Arrivati al momento dell'assaggio, i due campioni sono stati posti, da nostro personale addestrato, in maniera randomizzata su di un piatto. Ciò per scorporare l'effetto blocco, relativo alla possibilità che, cominciando l'assaggio sempre dal campione di sinistra, poi quello di destra nel piatto, il fatto di presentare prima sempre lo stesso campione avesse potuto influenzare, positivamente o negativamente, quello dell'altro. Tale piatto, così predisposto, è stato presentato a ogni partecipante. I consumatori, naturalmente, non sapevano nulla di questi campioni ad eccezione del fatto che si trattava di fette di salame suino. È stato chiesto loro di consumarli nell'ordine sopra descritto e di riportare il proprio giudizio di piacere sulla scheda loro presentata, scrivendo la lettera A o B (per sinistra o destra) sopra al punteggio (da 1- molto sgradevole a 9- molto gradevole) che ritenevano più opportuno, per i parametri di valutazione sensoriali presi in considerazione: sapore, tenerezza, succulenza, piacere generale. In fondo alla scheda era lasciato spazio anche per eventuali giudizi e commenti.

Fase 3- TEST DELL'ASPETTATIVA (ESPECTED TEST -E)- La seconda fase del test è consistita nella presentazione di un'altra scheda, senza però la portata di assaggio. Ai consumatori è stato richiesto di supporre di avere sul piatto due porzioni di salame, lavorati secondo le indicazioni in scheda e di seguito riportate.

"Supponi di avere di fronte un piatto con **due porzioni di salami** ottenuti da carni di **suini medio-pesanti (120-130 kg) allevati con la stessa tecnica ma** prodotti con due **ricette diverse**:

1= salame di tipo umbro, con **conservanti convenzionali (nitriti e nitrati).**

2= salame di tipo umbro, con **polifenoli naturali provenienti dall'industria dell'olio d'oliva, in sostituzione dei conservanti convenzionali**.

Leggi con attenzione le due etichette:

Salame A: da carni di suino medio-pesante, tipo "UMBRIA", prodotto con ricetta tradizionale umbra, con conservanti convenzionali (nitriti e nitrati).

Salame B: da carni di suino medio-pesante, tipo "UMBRIA", prodotto con ricetta tradizionale umbra, con polifenoli naturali provenienti dall'industria dell'olio di oliva, in sostituzione dei conservanti convenzionali.

Immagina di mangiare fette dei due salami.

Riporta sulla scala la tua aspettativa di "piacere generale" ottenuto assaporando i DUE diversi tipi di SALAMI, scrivendo una A sul voto atteso per il SALAME di tipo A (CONSERVANTI

CONVENZIONALI), scrivendo una B sul voto atteso per il SALAME di tipo B (POLIFENOLI NATURALI)".

FASE 4. TEST DELL'ASSAGGIO INFORMATO (INFORMED TEST -I)

Al consumatore è stato presentato un piatto con due fette di salame ed una scheda sul quale era scritto quanto di seguito riportato.

"Assaggia i due prodotti: prima l'A e poi lo B, considerando che:

Il primo (a sinistra) è:

Salame A: da carni di suino medio-pesante, tipo "UMBRIA", prodotto con ricetta tradizionale umbra, con conservanti convenzionali (nitriti e nitrati).

Il secondo (a destra) è:

Salame B: da carni di suino medio-pesante, tipo "UMBRIA", prodotto con ricetta tradizionale umbra, con polifenoli naturali provenienti dall'industria elaiotecnica a sostituzione dei conservanti convenzionali.

Riporta sulla scala il tuo giudizio di piacere per i parametri sotto elencati, indicando con la rispettiva lettera le carni che trovi disposte nelle due vaschette (**A=conservanti di sintesi**, alla tua **sinistra**; **B= polifenoli naturali**, alla tua **destra**)."

5.6 Analisi statistica

Per l'analisi statistica si rimanda al relativo capitolo dell'esperimento N 1.

6. Risultati e discussione

6.1. Caratteristiche colorimetriche dei salami

L'analisi statistica dei dati ha evidenziato effetti significativi della tipologia di ricetta (nitrato/nitrito E251 ed E252 vs estratto fenolico) per quanto riguarda i parametri colorimetrici. I parametri a* (indice del rosso) e C (Chroma) sono risultati essere infatti significativamente più bassi ($P<0,05$) nei salami trattati con estratto fenolico rispetto a quelli trattati con la miscela E251 e E252 (*Tabella 9*). Risultati simili sono stati riscontrati anche da Coutinho et al., (2012) andando a confrontare gli indici CieLab di mortadella prodotta con l'aggiunta di nitriti o di olio essenziale di *Satureja montana* L. Tale risultato potrebbe essere imputabile al fatto che i nitriti sono fortemente coinvolti nel determinare il caratteristico colore delle carni stagionate dovuto essenzialmente allo stato di ossidazione della mioglobina e dal contenuto in pigmenti che influenzano in maniera importante l'indice a* (Lindhal et al., 2001) il quale a sua volta va ad influenzare il valore di C*.

	C	P	S.E	P value
L*	44.93	47.46	1.73	0.425
a*	17.70	13.66	0.64	0.049
b*	4.27	2.45	0.41	0.093
C*	18.21	13.89	0.68	0.049
H*	13.51	10.19	1.24	0.210

Tabella 17: Parametri colorimetrici dei salami stagionati

6.2. Evoluzione della mioglobina e della stabilità ossidativa dei salami dopo ossidazione catalizzata.

L'analisi statistica dei dati relativa all'effetto dei diversi parametri considerati sulla stabilità ossidativa degli omogeneizzati di salame (*Tabella 18*) ha evidenziato effetti statisticamente significativi del tempo di incubazione (0, 30 e 60 min) (P<0.0001) sul contenuto in Mb (P<0,05), sul contenuto in MMb sia espressa g/kg che in percentuale sulla mioglobina totale e sulla variazione percentuale del suo contenuto dopo 30 min e 60min di incubazione rispetto al quello rilevato al tempo 0, e sul contenuto in TBARS. Relativamente alle varie interazioni: statisticamente significative é risultata essere quella "Ricetta x Tempo" (R*T) relativamente al contenuto in MMb espressa sia in g/kg che in % sulla Mb totale che sulla sua variazione rispetto al tempo 0, mentre una tendenza si è osservata per l'interazione Diet x Ricetta x Tempo (D*R*T) relativamente alla MMb % ed ai TBARS (P<0,10), interessante è risultata inoltre la tendenza alla significatività relativamente all'effetto dell'interazione dieta x ricetta relativamente al parametro della variazione percentuale del contenuto in MMb, ma tuttavia ai limiti della significatività statistica (P= 0,07, quindi P>0,05).

Parametri		SEM	P Values						
			D	R	T	D*T	R*T	R*D	D*R*T
Mb	g/kg	0,05	0,876	0,478	0,038	0,194	0,400	0,985	0,276
MMb	g/kg	0,07	0,589	0,798	<,0001	0,724	<,0001	0,414	0,254
MMb	%	3,34	0,167	0,369	<,0001	0,969	<,0001	0,112	0,052
VarMMb	%	5,35	0,480	<,0001	<,0001	0,245	0,0002	0,070	0,146
TBARS	mg/kg	0,045	0,322	0,848	<,0001	0,158	0,709	0,655	0,089

D: Dieta; R: ricetta; T: Tempo; D*T, R*T, R*D, D*R*T: interazioni.

Tabella 18: Effetto dei fattori sperimentali (P values) considerati sui parametri di stabilità ossidativa degli omogeneizzati di salame incubati in presenza di Fe/Asc.

L'attenzione si è rivolta perciò sullo studio specifico dell'effetto ricetta * tempo cioè si è andati a vedere come i campioni controllo C (con nitrati e nitrati) e quelli sperimentali EF (con estratto fenolico) hanno risposto allo stress ossidativo indotto tramite ossidazione catalizzata e nella realtà durante il corso della stagionatura dei salami, trascurando il fattore dieta che non aveva appunto manifestato risultati di interazione statisticamente significativi.

6.3. Andamento della concentrazione di mioglobina e della metamioglobina nelle due tipologie di salame

I tre stati di mioglobina hanno tre spettri di assorbanza delle caratteristiche tra 400 e 700 nm. Poiché i tre sono in una sorta di equilibrio l'uno con l'altro, gli spettri hanno un punto comune a 525 nm in cui tutte e tre le curve di assorbimento si incrociano l'una con l'altra. L'assorbanza di questa lunghezza d'onda può essere utilizzata per rilevare la percentuale di ciascuna forma nella carne. A scopo rappresentativo, la sottostante *Figura 14* mostra lo spettro della mioglobina nei tre tempi d'incubazione, così come ottenuto allo spettrofotometro. Si nota chiaramente come cambia la risposta strumentale all'aumentare del tempo d'incubazione, che è accompagnato da un progressivo imbrunimento del campione.

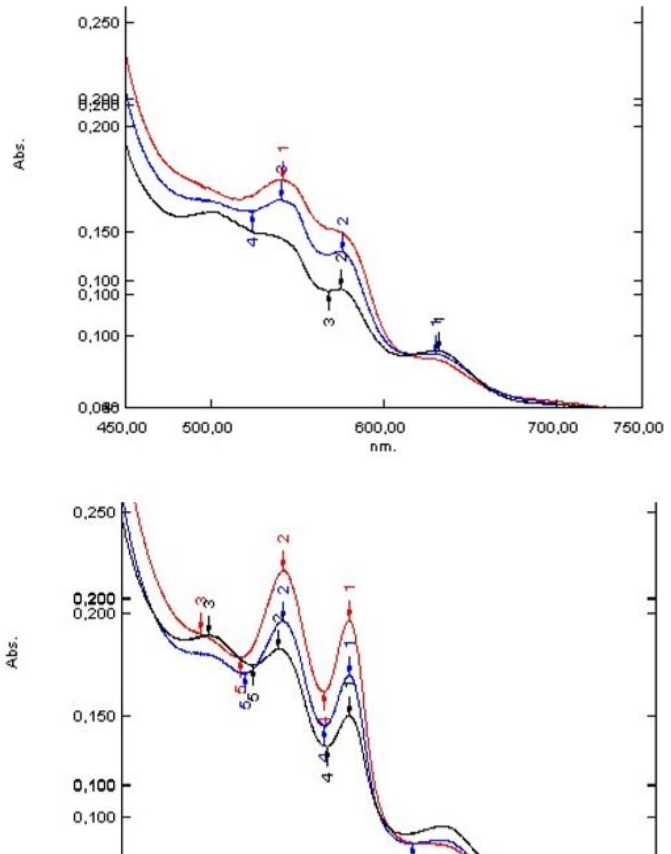

Figura 14: Spettro della mioglobina di due salami ottenuti dallo stesso animale trattati con E250 ed E252 (IN ALTO) e con estratto fenolico da acque di vegetazione (IN BASSO), analizzati al tempo 0 (in rosso), dopo 30 (in blu) e 60 (in nero) minuti di incubazione

Per quanto riguarda la concentrazione di mioglobina; questa è risultata essere influenzata dalla durata dell'ossidazione catalizzata (P<0,05) ed ha il valore inferiore al tempo 0, più alto, ma lievemente dopo 30', mentre risulta essere intermedio il valore a 60'. (*Figura 15*).

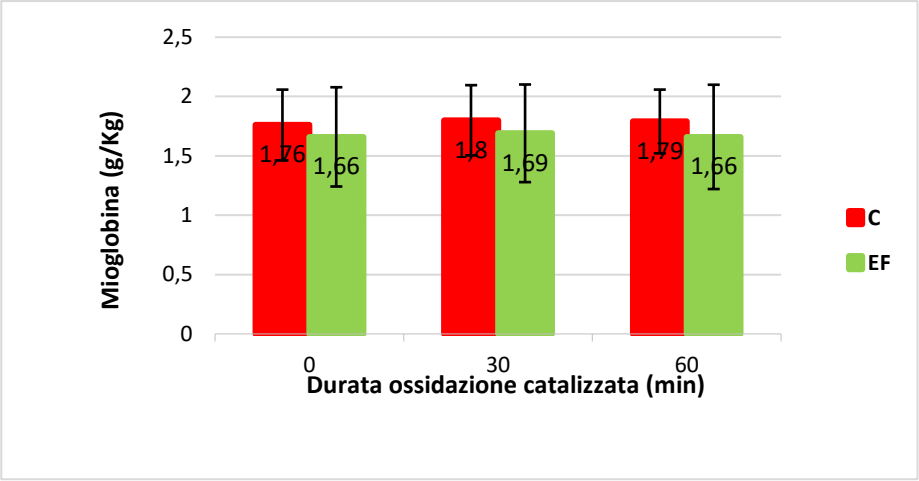

Figura 15: variazione del contenuto in mioglobina nei salami con le due ricette

Per quanto concerne il contenuto di metamioglobina; esso varia in maniera diversa nei salami prodotti con le due ricette ed indipendentemente dalla dieta assunta dagli animali (*Figura 16 e 17*) infatti quelli controllo, durante l'ossidazione catalizzata passano da valori di 0,89 g/kg a 1,25 g/kg con un incremento medio da 0 a 30' e complessivo, rispettivamente del 20,9% e del 43,13%, mentre quelli Estratto Fenolico passano da 1,01 g/kg ad 1,11 g/kg con un incremento medio da 0 a 30' di ossidazione catalizza dell'1,21% e complessivo del 10,72%.

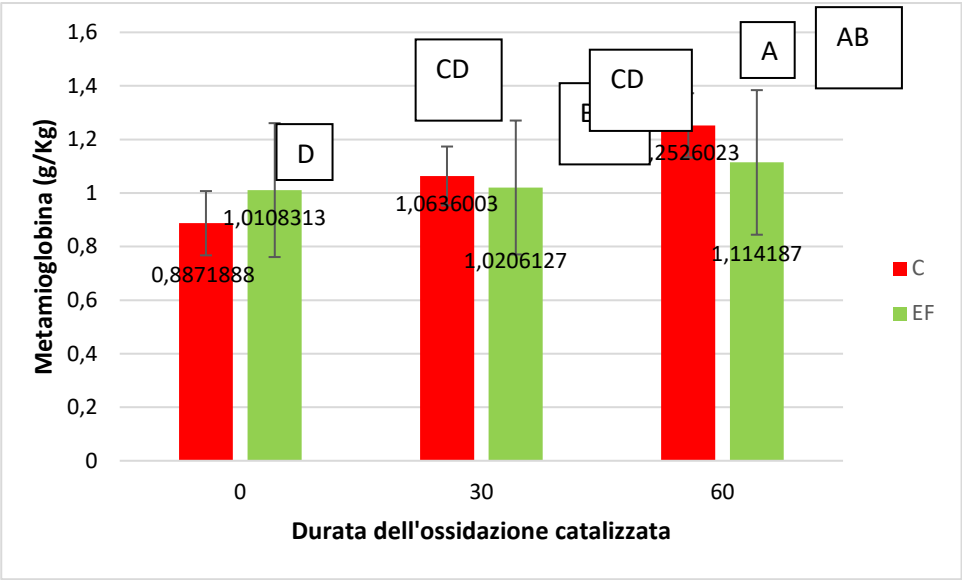

Figura 16: Evoluzione del contenuto in metamioglobina nei salami durante l'ossidazione catalizzata

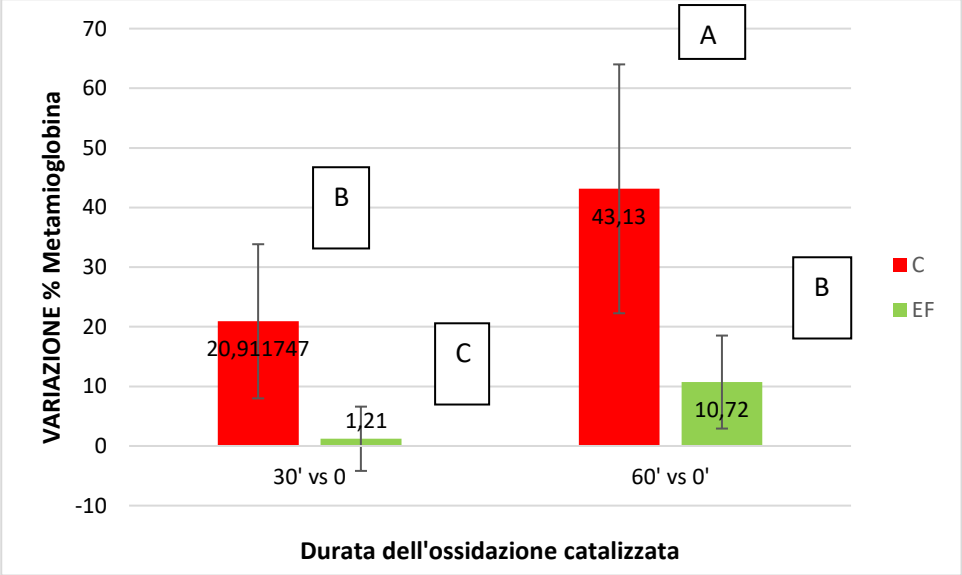

Figura 17: Variazioni percentuali del contenuto in meta mioglobina dopo 30' ed a fine ossidazione catalizzata rispetto ai valori iniziali

Ciò giustifica sia il più basso indice del rosso a*, al tempo 0, nei salami con estratto fenolico, in quanto hanno una più elevata concentrazione di meta mioglobina già a partire dal tempo zero rispetto a quelli della ricetta controllo. Infatti, la tecnica di preparazione degli omogeneizzati non induce l'ossidazione della mioglobina, per cui i livelli iniziali di MMb corrispondono a quelli effettivamente presenti nell'impasto di carne appena aggiunta la miscela di E250 ed E252 o estratto fenolico. Infine, intuitivamente è più semplice associare l'aumento nelle percentuali di MMb al

deterioramento ossidativo della pasta in quanto, l'imbrunimento della carne è legato direttamente all'accumulo di MMb. Tuttavia le variazioni percentuali dello stesso parametro nei tempi successivi risultano essere più ridotte nei salami sperimentali rispetto al controllo suggerendo, quindi, che nel lungo periodo la stabilità e la resistenza all'ossidazione del prodotto con estratto fenolico risulta avere un comportamento simile a quello con E250 ed E252. L'attività antiossidante dovuta all'estratto fenolico da prodotti secondari dell'industria elaiotecnica, quali le foglie di olivo, sono state già osservate da altri studiosi (come accennato nella parte introduttiva). In particolare il rallentamento dell'ossidazione dell'ossimioglobina era stato osservato da Hayes et al. (2009) sia nella carne bovina come in quella suina. Dallo studio era emersa l'efficacia dell'azione scavenger e riducente dell'estratto fenolico da foglie di olivo, anche a basse concentrazioni. Del resto sia l'idrossitirosolo che l'oleuropeina sono potenti inibitori della produzione di radicali liberi agendo da scavengers dei radicali sessi (Stupans et al., 2002). Infatti tali risultati sono confermati anche dall'evoluzione della percentuale di meta mioglobina durante l'ossidazione catalizzata (*Figura 18*).

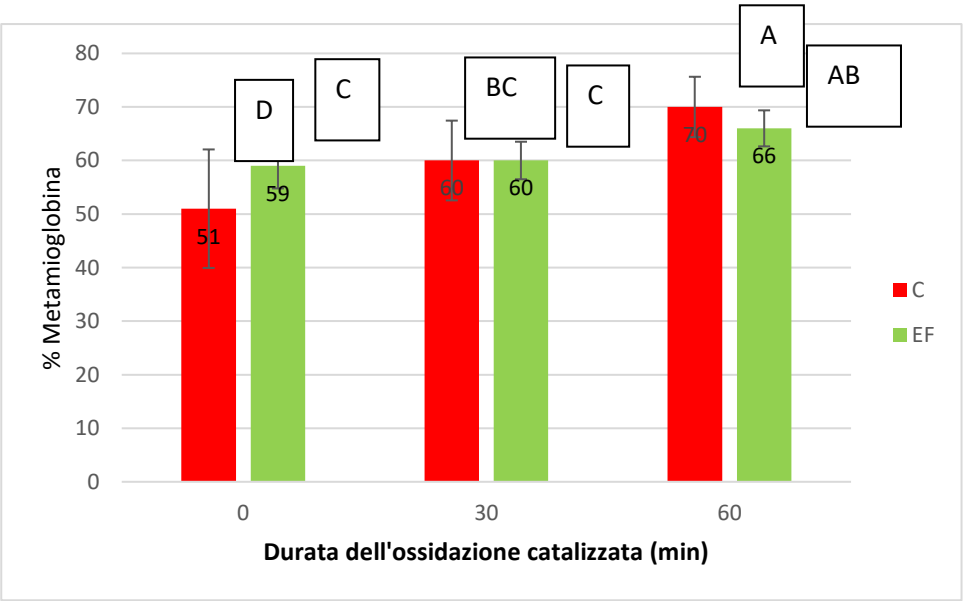

Figura 18: Evoluzione della % di metamioglobina nei salami durante l'ossidazione catalizzata

L'azione scavenger dell'estratto fenolico, quindi, in quanto ricco di più composti fenolici, principalmente derivati dell'oleouropeina quali tirosolo, idrossitirosolo e verbascoside, può essere stata esaltata da possibili effetti sinergici fra i vari composti fenolici che lo caratterizzano. Infatti Benavente-Garcia et al. (2000) hanno dimostrato una maggiore capacità dei polifenoli di agire quali scavenger quando miscelati fra loro rispetto a quella rilevata quando testati singolarmente andando a spiegare il comportamento dell'estratto fenolico in tal senso.

Andamento della concentrazione dei composti secondari dell'ossidazione lipidica (TBARS).

Come evidenziato in *Figura 23*, il comportamento dei TBARS è influenzato unicamente dal tempo di incubazione degli omogenati ed in maniera analoga per i due trattamenti sperimentali considerati, pur evidenziandosi piccole differenze numeriche a sfavore del trattamento con estratto fenolico da acque di vegetazione. Ciò va a confermare ulteriormente quanto detto in precedenza relativamente all'evoluzione della mioglobina dei salami testati.

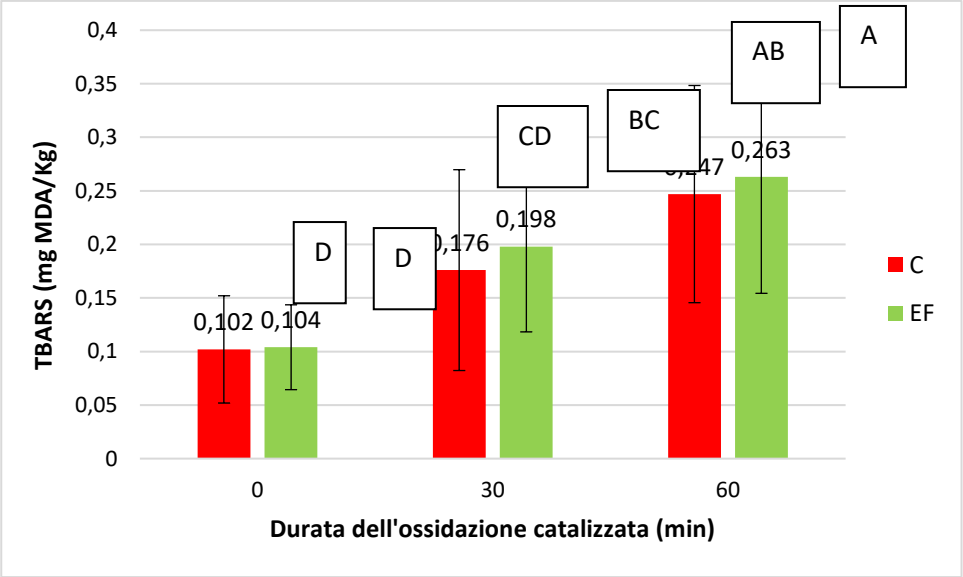

Figura 19: evoluzione dei TBARS nella reazione di ossidazione catalizzata

6.4. Stabilità ossidativa dei salami durante la stagionatura.

L'evoluzione dei TBARS durante la stagionatura ha confermato in parte quanto osservato con l'ossidazione catalizzate degli omogenati. Infatti un incremento significativo si evidenzia nel caso dei campioni con estratto fenolico.

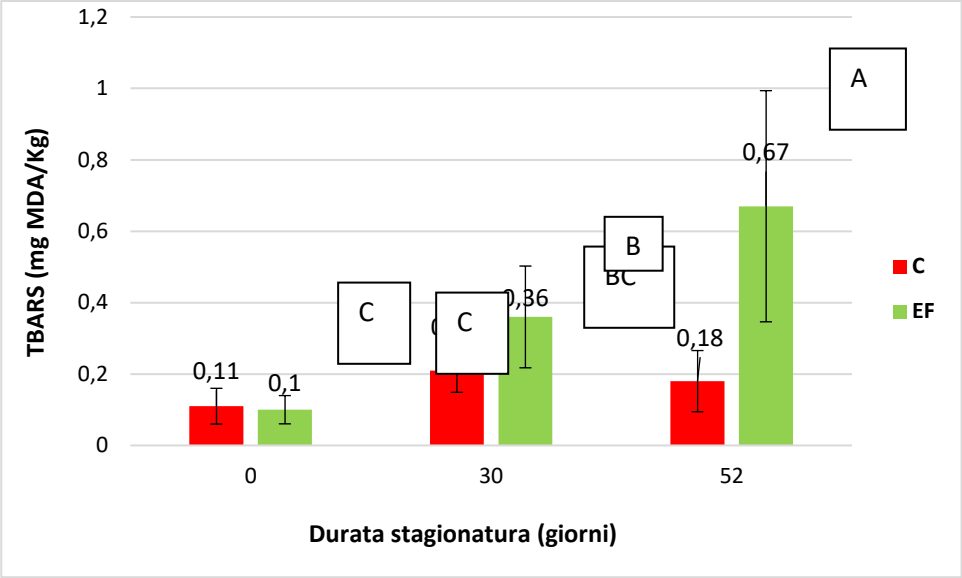

Figura 20: Evoluzione dei TBARS durante la stagionatura dei salami

In uno studio di Balzan et all.(2017) si era verificato l'effetto positivo dell'inserimento in salcicce di estratto fenolico, il quale aveva significativamente rallentato (ma non annullato) l'irrancidimento degli acidi grassi rispetto al controllo, privo di qualsiasi tipo di antiossidante aggiunto. Il valore dei TBARS rimaneva nel caso dell'estratto fenolico ≤1 mg MDA/kg e quindi al di sotto della soglia di percezione di rancido. Anche nel lavoro di Novelli et al. (2014), dal confronto tra campioni di salsiccia addizionata con estratto fenolico (campioni F1 con 75 mg di estratto fenolico purificato su 100 gr di carne e campioni F2 con 150 mg di estratto su 100 mg di carne) e campioni controllo che ne erano privi, era emersa la significativa azione antiossidante dei polifenoli, che provocavano una riduzione dell'80% della concentrazione della MDA nei campioni sperimentali rispetto al controllo, che si aggirava su valori prossimi a 0,1 mg MDA /Kg di prodotto. La differenza si manteneva anche nei successivi 10, 20, 30 giorni di stagionatura. L'azione era migliore nel caso della concentrazione di estratto fenolico pari a 150 mg/100 gr di carne rispetto al caso dei 75 gr di estratto fenolico purificato /100 gr; suggerendo quindi un azione antiossidante dei composti fenolici proporzionale alla concentrazione degli stessi (*Tabella 2* della parte introduttiva). Nel nostro studio si vede che l'azione antiossidante nei confronti della frazione lipidica da parte dei nitrati è più incisiva rispetto a quella dell'estratto fenolico. Nel caso dei campioni con estratto fenolico si ha un progressivo avanzamento dell'ossidazione; da notare che comunque dopo 52 giorni di stagionatura la concentrazione di MDA non sale sopra ad 1 mg/Kg e rientra perfettamente al di sotto della soglia di percezione di rancido, mantenendo il prodotto adatto e piacevole al consumo.

6.5. Central location test

Le informazioni raccolte hanno riguardato:

dati demografici e personali dei partecipanti (professione, grado di istruzione, ecc.);
dati inerenti alle modalità di acquisto e consumo della carne;
dati sulla valutazione vera e propria dei campioni di carne assaggiati (Consumer test).

Per quanto riguarda la provenienza, il panel coinvolto nel test in questione era composto da adulti, la maggior parte con un età compresa tra 45 e 64 anni (54 %) e tra 25 e 44 anni (24%), di cui il 59 % di sesso maschile e il restante 41% di sesso femminile (*Tabella 19*).

Età	< 25 anni	11
	25 - 44 anni	24
	45 - 64 anni	54
	> 64 anni	11
Sesso	Maschio	59
	Femmina	41
Grado di istruzione	Licenza elementare	0
	Diploma di scuola media inferiore	6
	Diploma di istituto professionale	9
	Diploma di scuola media superiore	40
	Laurea	45
Professione	Legislatori, imprenditori o alta dirigenza	8
	Professioni intellettuali o scientifiche	18
	Professioni tecniche	18
	Professioni esecutive nel lavoro d'ufficio	10
	Professioni nelle attività commerciali o nei servizi	9
	Artigiani, operai specializzati o agricoltori	9
	Forze armate	3
	Studenti	16
	Pensionati / Disoccupati	10

Tabella 19: Caratteristiche socio-demografiche dei partecipanti al consumer test (%).

Le persone che hanno partecipato, scelte come consumatori non addestrati, ma comunque abituati al consumo di salumi, provenivano da province e regioni diverse dell'Italia. Le professioni svolte dai partecipanti riguardavano, per il 16%, studenti, per circa il 46% dipendenti e liberi professionisti. Il grado d'istruzione dei partecipanti era in generale medio-alto, con il 45% di laureati e il 55% di diplomati.

Gran parte dei partecipanti hanno dichiarato di consumare carne conservata più di una volta alla settimana (35%), prevalentemente a casa (93%) ed acquistata nella maggioranza dei casi in vaschette preconfezionate (47%), ma anche affettato al banco (39%) al supermercato (54%) (*Tabella 20*).

Frequenza di consumo	< 1 al mese	16
	> 1 al mese	41
	> 1 a settimana	35
	Ogni giorno	8
Luogo di consumo	A casa	93
	Fuori casa	7
Luogo di acquisto	Produttore	9
	Negozio specializzato	37
	Supermercato	54
Modalità di acquisto	Affettato al banco	39
	Vaschette	47
	Intero o tranci	14

Tabella 20: Abitudini di consumo di salumi dei partecipanti al consumer test (%)

Fra i salumi (*Tabella 21*) il prosciutto crudo risulta essere quello più spesso consumato dagli intervistati (64%), seguito da mortadella (23%) e salame (22%). La carne trasformata è consumata comunque sporadicamente dal 49%. Interessante notare come nessuno abbia dichiarato di non consumare carne trasformata.

	Prosciutto crudo	Prosciutto Cotto	Salame	Mortadella	Bresaola
Spesso	64	16	22	23	19
Talvolta	36	59	58	60	65
Mai	0	25	20	17	16

Tabella 21: Frequenza di consumo di salumi (%)

La *Tabella 22* riporta la significatività degli effetti considerati nel modello di analisi della varianza, per i parametri sensoriali considerati. L'effetto Blocco non è risultato mai significativo ed è stato omesso dalla tab. 2. Per quanto riguarda l'effetto del tipo di ricetta di salume, nel saggio alla cieca (Blind - B) si può notare che è risultato significativo ($P<0.05$) solamente per il "Colore", mentre sono risultati non significativi l'"Aroma", il "Colore", la "Tenerezza" e il "Piacere generale". Fortemente significativo è risultato, addirittura per $P<0,01$, il piacere generale nel test atteso (Expected - A) dopo informazione sulle modalità di ottenimento del salame. Per quanto riguarda il tipo di assaggio informato (Informed- I) sono risultati significativi ($P<0.05$) tutti i parametri sensoriali al di fuori del "Colore" e della "Tenerezza", che perdono la loro significatività in questo ultimo saggio.

Dai dati statistici ottenuti si può dedurre che in generale, le due tipologie di fette di salame presentate agli assaggiatori inizialmente, nel saggio alla cieca, non risultavano particolarmente gradite una di più rispetto all'altra se non per il "Colore", che era più apprezzato nel caso del campione con Nitrati e Nitriti il quale all'occhio, mantenendo una colorazione rosso-rosa, risultava più gradevole rispetto alla "brunastra" del campione sperimentale con estratto fenolico. Nel complesso i due prodotti sono risultato entrambi "apprezzati". Previa informazione (Expected - A) sulla modalità di ottenimento del prodotto, ovvero, sulla differenza delle ricette, la differenza di aspettativa sul piacere generale è risultata fortemente sbilanciata a favore del prodotto con estratto fenolico. Questo probabilmente è giustificato dalla sensibilità del consumatore e dalla sua attrazione e interesse nei confronti di prodotti ottenuti con additivi naturali, piuttosto che di sintesi, che lo porta a prediligere il salame con estratto fenolico. Il dato interessante è che l'assaggio delle fette post informazione conferma la netta preferenza del prodotto sperimentale sia per quanto concerne "Aroma", "Sapore" che "Piacere generale". Il "colore" e la "Tenerezza" perdono importanza; evidentemente l'informazione ha influenzato a tal punto la sensibilità del consumatore. In

conclusione in generale emerge che la maggioranza dei parametri sensoriali sono stati tutti fortemente influenzati dal tipo di additivo aggiunto e che quindi questo aspetto sicuramente influenzerà la propensione al consumo di un prodotto piuttosto che un altro.

Tipo di saggio	**Parametri sensoriali**	**C**	**P**	**s.e.**	**P value**
Blind	Aroma	6.71	6.55	0.51	0.417
	Taste	6.78	6.64	0.59	0.536
	Colour	6.77	6.18	0.55	0.016
	Texture	6.78	6.57	0.54	0.362
	Overall-liking	6.93	6.66	0.57	0.273
Expected	Overall-liking	6.02	7.43	0.56	<0.0001
Informed	Aroma	6.45	6.91	0.54	0.033
	Taste	6.42	7.15	0.58	0.002
	Colour	6.64	6.65	0.57	0.950
	Texture	6.53	6.94	0.55	0.079
	Overall-liking	6.56	7.08	0.59	0.039

Tipo di salame: C= salame controllo con nitriti/nitrati; P=Salame con polifenoli.

Tipo di saggio: B =Blind (alla cieca); E= Expected; I= Informed (assaggio informato).

Tabella 22: Punteggi medi attribuiti dai partecipanti al consumer test, nei tre tipi di saggio e significatività dell'analisi della della varianza per i rilievi sensoriali in funzione degli effetti considerati nel modello.

E' stata, inoltre, analizzata la differenza dei punteggi edonici complessivi (*overall liking*) nelle tre differenti condizioni (assaggio alla cieca, sola aspettativa e assaggio informato), allo scopo di capire meglio l'effetto dell'informazione, circa la tecnica di produzione dei salami, sull'aspettativa da parte dei consumatori.

Occorre, dapprima, fare una premessa: nella teoria della "*Consumer satisfaction*" il termine "disconferma" (*disconfirmation*) riporta una situazione in cui il prodotto si palesa, al consumo, in maniera differente rispetto a quanto atteso dal consumatore. Una "disconferma positiva" (*positive disconfirmation*) si riferisce a una situazione in cui il prodotto si evidenzia, al consumo alla cieca, migliore di quanto si credesse dopo la sola informazione sul prodotto. Una "disconferma negativa",

invece, quando il prodotto si palesa, al consumo alla cieca, peggio di quanto atteso dopo l'informazione.

E' stata, così, saggiata la "disconferma" per il confronto (B-E), ovvero differenza tra l'accettabilità alla cieca (B) e quella attesa dopo sola informazione (E), senza assaggio, saggiabile soltanto, nel nostro caso, soltanto sul piacere generale (*overall liking*) e la " disconferma" per il confronto (B-I) ovvero differenza tra l'accettabilità alla cieca (B) e quella informata (I), utile per confermare l'influenza dell'informazione anche sui sensi e non solo sull'aspettativa.

Tipo di salame	**B-E**	**B-I**
Controllo (C)	0.91 ± 1,66	0,37 ± 1,03
Sign. Chi^2 Pearson	0,0001***	0,0001***
Test di conferma	Disconferma positiva	Disconferma positiva
Polifenoli (P)	-0,76 ± 1,70	- 0,42 ± 0,89
Sign. Chi^2 Pearson	0.0001***	0.0001***
Test di conferma	Disconferma negativa	Disconferma negativa

Tabella 23: Effetto dell'aspettativa alla cieca (E-B) ed informata (I-B) sul piacere generale (*overall liking*) dei due tipi di salami (C vs P) (test χ 2).

L'esame dell'effetto dell'aspettativa sull'accettabilità (*Tabella 23*), analizzato soltanto per quanto riguarda il Piacere generale, ha mostrato disconoscimenti significativi. Per il salame Controllo (C), vi è una disconferma positiva, che evidenzia come nel consumo alla cieca il prodotto risulta migliore di quanto ci si attendesse dopo la sola informazione (P<0,001), mentre per il salame prodotto con polifenoli (P) vi è una disconferma negativa, che palesa come il prodotto, nel consumo alla cieca, sembra peggiore di quanto si attendesse alla informazione, ma, guardando i punteggi edonici della tabella precedente, in cui non c'è praticamente alcuna differenza significativa nell'accettabilità generale tra i due tipi di salami, non si tratta di una carenza nell'apprezzamento da parte dei consumatori, quanto uno straordinario livello di aspettativa positiva, per l'utilizzazione dei polifenoli invece che dei nitrati nella produzione dei salami, che hanno causato aspettative sorprendenti, confermate solo in parte deluse, a significare quanto l'informazione possa potenziare l'immagine di un prodotto, come il salame che, come tutti gli insaccati, ha avuto negli ultimi tempi, una cattiva stampa.

7. Conclusioni

7.1. Stabilità ossidativa dei salami

Pur trattandosi di risultati ancora parziali, quelli relativi alla stabilità ossidativa dei salami prodotti utilizzando come fonte di antiossidanti naturali l'estratto fenolico da acque di vegetazione, sembra aver dato, da questo punto di vista risultati molto interessanti. L'ossidazione catalizzata incubando i campioni di salame in presenza di solfato ferroso e acido ascorbico (Fe/Asc), ha evidenziato come al maggior tenore di meta mioglobina riscontrato nei salami sperimentali ad inizio ossidazione catalitica non abbia fatto seguito un ulteriore peggioramento della stabilità ossidativa. I valori di metamioglobina sono così cresciuti del 43,13% e del 10,72% a fine ossidazione catalizzata rispettivamente nei salami controllo ed in quelli addizionati di estratto fenolico. Relativamente ai TBARS espressi in mg MDA/kg, se essi nel corso dell'ossidazione catalizzata hanno avuto un comportamento simile indifferentemente dal tipo di ricetta impiegata, quando misurati sui salami dopo 30 e 52d di maturazione sono risultati essere significativamente superiori nei campioni di salami sperimentali, ma comunque entro i limiti della soglia di percezione di 1 mg/kg di prodotto.

7.2. Central location test.

L'esame dei risultati ha permesso di riscontrare che alcuni parametri sensoriali possono essere valutati in maniera sensibile anche da consumatori non addestrati, che sono stati in grado di apprezzare in maniera significativa differenze estrinseche nella qualità sensoriale di salami prodotti con metodologie differenti, ed in particolare usando co-prodotti ricchi di polifenoli e non nitrati per la sua stabilizzazione.Inoltre si è riscontrata la grande influenza che l'informazione riguardo, in questo caso, le tecniche di produzione dei salami, sull'accettabilità del prodotto stesso, riscontrando, inoltre come l'uso di additivi non tradizionali ma percepiti come di qualità, poiché ricchi di polifenoli, hanno fornito un valore aggiunto al salame, influenzandone positivamente l'accettabilità (Piasentier et al., 2005).

In conclusione i vantaggi di questo approccio sono molti. Per l'industria della carne, in una prospettiva di progressiva riduzione nell'uso di additivi chimici. Per l'industria dell'olio d'oliva, in un approccio più sostenibile alla gestione dei sottoprodotti. Per i consumatori, per i quali potrebbe esserci la disponibilità di prodotti a base di carne ad alto valore aggiunto dal punto di vista nutrizionale e salutistico.

Allegato A

Consumatore N…….

A.1 In quale comune vive? ……..	**B.3 – PROFESSIONE** ……
B.1 - SESSO ☐ M ☐ F	**B.4 - GRADO DI ISTRUZIONE** 1 - licenza elementare ☐ - 1 2 - diploma di scuola media inferiore ☐ - 2 3 - diploma di istituto professionale ☐ - 3 4 - diploma di scuola media superiore ☐ - 4 5 - laurea ☐ - 5
B.2 - ETÀ 1 - meno di 25 anni ☐ - 1 2 - tra 25 e 44 anni ☐ - 2 3 - tra 45 e 64 anni ☐ - 3 4 - più di 64 anni ☐ - 4	

C.1 QUANTE volte mangia affettati, mediamente?

0 - ☐ mai 1 - ☐ raramente 2- ☐ più volte al mese

3 - ☐ più volte alla settimana 4 - ☐ ogni giorno

C.2 QUALI tipi di affettati consuma e con quale frequenza?

	Frequenza	**Dove in prevalenza?**	
Prosciutto crudo	mai☐ talvolta ☐ spesso☐	A casa ☐	Fuori casa ☐
Prosciutto cotto	mai☐ talvolta ☐ spesso☐	A casa ☐	Fuori casa ☐
Salame	mai☐ talvolta ☐ spesso☐	A casa ☐	Fuori casa ☐
Mortadella	mai☐ talvolta ☐ spesso☐	A casa ☐	Fuori casa ☐
Bresaola	mai☐ talvolta ☐ spesso☐	A casa ☐	Fuori casa ☐

C.3 DOVE acquista, solitamente, i salumi?
1- ☐ direttamente dal produttore 2- ☐ negozio specializzato 3- ☐ supermercato

C.4 COME acquista, solitamente, i salumi ?
1- ☐ affettato al banco 2- ☐ in vaschette 3- ☐ intero o tranci

Consumatore N……

FASE 1 – ASSAGGIO ALLA CIECA

Hai di fronte **due piatti con DUE fette di salame** ciascuno.

Il piatto di **sinistra** contiene il salame **A**, il piatto di **destra** contiene il salame **B**.

ASSAGGIA prima **UNA** fetta dal piatto a **sinistra** e poi **UNA** fetta dal piatto a **destra**.

NB: Lascia le altre due fette per la fase finale !

Riporta sulla scala da 1 a 9 il tuo giudizio di piacere su entrambi i salami, per ogni parametro elencato.

Molto Sgradevole — Neutro — Molto Gradevole

COLORE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
PROFUMO	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
CONSISTENZA	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
SAPORE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
PIACERE GENERALE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**

Eventuali commenti

Salame A: ……
……

Salame B: ……
……

Consumatore N……

FASE 2 - ASPETTATIVA

IMMAGINA di assaggiare due salami ottenuti con la **stessa ricetta**, ma provenienti da carni di suini medio-pesanti (120-130 kg) con una **diversa alimentazione**.

Leggi con attenzione le due etichette:

Salame X: da suino umbro medio-pesante, alimentato con **mangime convenzionale**, la cui carne è stata lavorata con metodologia tradizionale dei salumi umbri.

Salame Y: da suino umbro medio-pesante, alimentato con **mangime contenente buccette di nocciola**, la cui carne è stata lavorata con metodologia tradizionale dei salumi umbri.

Riporta sulla scala la tua ASPETTATIVA di piacere generale, che pensi di ottenere assaporando i due diversi tipi di salame, dove **X** è il salame con la **prima** etichetta e **Y** è il salame con la **seconda** etichetta.

Molto Sgradevole — Neutro — Molto Gradevole

PIACERE GENERALE	**X**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	Y	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**

Consumatore N……

FASE 3 – ASSAGGIO INFORMATO

Hai di fronte le **DUE fette rimaste.**

ASSAGGIA nuovamente, prima **UNA** fetta dal piatto a **sinistra** e poi **UNA** fetta dal piatto a **destra**, sapendo che quello a **sinistra** è:

Salame A: da suino umbro medio-pesante, alimentato con **mangime contenente buccette di nocciola**, la cui carne è stata lavorata con metodologia tradizionale dei salumi umbri.

Quello a **destra** è:

Salame B: da suino umbro medio-pesante, alimentato con **mangime convenzionale**, la cui carne è stata lavorata con metodologia tradizionale dei salumi umbri.

Riporta sulla scala da 1 a 9 il tuo giudizio di piacere su entrambi i salami, per ogni parametro elencato.

Molto Sgradevole — Neutro — Molto Gradevole

COLORE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
PROFUMO	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
CONSISTENZA	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
SAPORE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
PIACERE GENERALE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**

Allegato B

Consumatore N…….

A.1 In quale comune vive? ……..	**B.3 – PROFESSIONE** ……
B.1 - SESSO ☐ M ☐ F	**B.4 - GRADO DI ISTRUZIONE** 1 - licenza elementare ☐ - 1 2 - diploma di scuola media inferiore ☐ - 2 3 - diploma di istituto professionale ☐ - 3 4 - diploma di scuola media superiore ☐ - 4 5 - laurea ☐ - 5
B.2 - ETÀ 1 - meno di 25 anni ☐ - 1 2 - tra 25 e 44 anni ☐ - 2 3 - tra 45 e 64 anni ☐ - 3 4 - più di 64 anni ☐ - 4	

C.1 QUANTE volte mangia affettati, mediamente?

0 - ☐ mai 1 - ☐ raramente 2- ☐ più volte al mese

3 - ☐ più volte alla settimana 4 - ☐ ogni giorno

C.2 QUALI tipi di affettati consuma e con quale frequenza?

	Frequenza	**Dove in prevalenza?**	
Prosciutto crudo	mai☐ talvolta ☐ spesso☐	A casa ☐	Fuori casa ☐
Prosciutto cotto	mai☐ talvolta ☐ spesso☐	A casa ☐	Fuori casa ☐
Salame	mai☐ talvolta ☐ spesso☐	A casa ☐	Fuori casa ☐
Mortadella	mai☐ talvolta ☐ spesso☐	A casa ☐	Fuori casa ☐
Bresaola	mai☐ talvolta ☐ spesso☐	A casa ☐	Fuori casa ☐

C.3 DOVE acquista, solitamente, i salumi?
1- ☐ direttamente dal produttore 2- ☐ negozio specializzato 3- ☐ supermercato

C.4 COME acquista, solitamente, i salumi ?
1- ☐ affettato al banco 2- ☐ in vaschette 3- ☐ intero o tranci

Consumatore N……

FASE 1 – ASSAGGIO ALLA CIECA

Hai di fronte **due piatti con DUE fette di salame** ciascuno.

Il piatto di **sinistra** contiene il salame **A**, il piatto di **destra** contiene il salame **B**.

ASSAGGIA prima **UNA** fetta dal piatto a **sinistra** e poi **UNA** fetta dal piatto a **destra**.

NB: Lascia le altre due fette per la fase finale !

Riporta sulla scala da 1 a 9 il tuo giudizio di piacere su entrambi i salami, per ogni parametro elencato.

Molto Sgradevole — Neutro — Molto Gradevole

COLORE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
PROFUMO	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
CONSISTENZA	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
SAPORE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
PIACERE GENERALE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**

Eventuali commenti

Salame A: ……
……

Salame B: ……
……

Consumatore N……

FASE 2 - ASPETTATIVA

IMMAGINA di assaggiare due salami provenienti da carni di suini medio-pesanti (120-130 kg) **allevati con la stessa tecnica**, ma prodotti con due **ricetta diverse**.

Leggi con attenzione le due etichette:

Salame X: da carni di suino umbro medio-pesante alimentato con mangime convenzionale, lavorate con ricetta tradizionale umbra, con **conservanti convenzionali (nitriti e nitrati).**

Salame Y: da carni di suino umbro medio-pesante alimentato con mangime convenzionale, lavorate con ricetta tradizionale umbra, con **polifenoli naturali** provenienti dall'industria dell'olio di oliva, a sostituzione dei conservanti.

Riporta sulla scala la tua ASPETTATIVA di piacere generale, che pensi di ottenere assaporando i due diversi tipi di salame, dove **X** è il salame con la **prima** etichetta e **Y** è il salame con la **seconda** etichetta.

Molto Sgradevole — Neutro — Molto Gradevole

PIACERE GENERALE	**X**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	Y	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**

Consumatore N……

FASE 3 – ASSAGGIO INFORMATO

Hai di fronte le **DUE fette rimaste.**

ASSAGGIA nuovamente, prima **UNA** fetta dal piatto a **sinistra** e poi **UNA** fetta dal piatto a **destra**, sapendo che quello a **sinistra** è:

Salame A: da carni di suino umbro medio-pesante alimentato con mangime convenzionale, lavorate con ricetta tradizionale umbra, con **conservanti convenzionali (nitriti e nitrati).**

Quello a **destra** è:

Salame B: da carni di suino umbro medio-pesante alimentato con mangime convenzionale, lavorate con ricetta tradizionale umbra, con **polifenoli naturali** provenienti dall'industria dell'olio di oliva, a sostituzione dei conservanti.

Riporta sulla scala da 1 a 9 il tuo giudizio di piacere su entrambi i salami, per ogni parametro elencato.

Molto Sgradevole — Neutro — Molto Gradevole

COLORE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
PROFUMO	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
CONSISTENZA	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
SAPORE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
PIACERE GENERALE	**A**	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**
	B	**1**	2	3	4	**5**	6	7	8	**9**

Bibliografia

AOAC. (1995). Official methods of analisis, 16th edition.

Asghar, A., Gray, J. I., Booren, A. M., Gomaa, E. A., Abouzied, M. M., Miller, E. R., & Buckley, D. J. (1991). Effects of supranutritional dietary vitamin E levels on subcellular deposition of α-tocopherol in the muscle and on pork quality. Journal of the Science of Food and Agriculture, 57(1), 31-41.

Balzan, S., Taticchi, A., Cardazzo, B., Urbani, S., Servili, M., Di Lecce, G., et al. (2017). Effect of phenols extracted from a by-product of the oil mill on the shelf-life of raw and cooked fresh pork sausages in the absence of chemical additives. Lwt-food Science and Technology, 85, 89-95.

Buckley, D. J., Morrissey, P. A., & Gray, J. I. (1995). Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. Journal of Animal Science, 73(10), 3122-3130.

Cannon, J. E., Morgan, J. B., Schmidt, G. R., Tatum, J. D., Sofos, J. N., Smith, G. C., ... & Williams, S. N. (1996). Growth and fresh meat quality characterisitics of pigs supplemented with vitamin E. Journal of animal science (USA).

Cantos, E., Espín, J. C., López-Bote, C., de la Hoz, L., Ordóñez, J. A., & Tomás-Barberán, F. A. (2003). Phenolic compounds and fatty acids from acorns (Quercus spp.), the main dietary constituent of free-ranged Iberian pigs. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(21), 6248-6255.

Cava, R., Ruiz, J., Ventanas, J., & Antequera, T. (1999). Oxidative and lipolytic changes during ripening of Iberian hams as affected by feeding regime: extensive feeding and alpha-tocopheryl acetate supplementation. Meat Science, 52(2), 165-172.

Faustman C., Sun Q., Mancini R., Suman P.S. (2010) Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science 86, 86–94*.

Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J biol Chem, 226(1), 497-509.

García, J., Carabaño, R., & De Blas, J. C. (1999). Effect of fiber source on cell wall digestibility and rate of passage in rabbits. Journal of animal science, 77(4), 898-905.

González, E., & Tejeda, J. F. (2007). Effects of dietary incorporation of different antioxidant extracts and free-range rearing on fatty acid composition and lipid oxidation of Iberian pig meat. Animal, 1(7), 1060-1067.

Hayes, J. E., Stepanya, V., Allen, P., O'Grady, M. N., O'Brien, N. M., & Kerry, J. P. (2009). The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. Meat Science, 83, 201–208.

King D.A., Shackelford S.D., Wheeler T.L. (2011). Relative contributions of animal and muscle effects to variation in beef lean color stability. Publications from USDA-ARS / UNL Faculty 707.

Krzywicki, K. (1982). The determination of haem pigments in meat. Meat Science, 7(1), 29-36.

Littell, R. C., Henry, P. R., & Ammerman, C. B. (1998). Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. Journal of animal science, 76(4), 1216-1231.

Littell, R. C., Henry, P. R., & Ammerman, C. B. (1998). Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. Journal of animal science, 76(4), 1216-1231.

McKenna D., Mies P., Baird B., Pfeiffer K., Ellebracht J., Savell J. (2005) Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. Meat Science 70, 665−682.

Monahan, F. J., Skibsted, L. H., & Andersen, M. L. (2005). Mechanism of oxymyoglobin oxidation in the presence of oxidizing lipids in bovine muscle. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(14), 5734-5738.

Monahan, F.J., Gray, J.I., Asghar, A., Haug, A., Strasburg, G.M., Buckley, D.J., Morrissey, P.A. (1994). Influence of Diet on Lipid Oxidation and Membrane Structure in Porcine Muscle Microsomes. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 42, Issue 1 (1994) 59-63.

Novelli, Fasolato, Cardazzo, Carraro, Taticchi, Balzan (2014): *Addition of phenols compounds to meat dough intended for salami manufacture and its antioxidant effect.* Italian Journal of Food Safety 2014,,volume 3:1704; pag 154-156.

Piasentier E., Morgante M., Sacca' E., Valusso R., Parente J. (2005) . Effect of animal feeding system information on consumer expectation and acceptability of lamb meat. Proceedings of 11th Seminar of the Sub-Network FAO-CIHEAM on sheep and goat nutrition. September 8-10, 2005, Catania

Ramanathan, R., Konda, M. K. R., Mancini, R. A., & Faustman, C. (2009). Species-specific effects of sarcoplasmic extracts on lipid oxidation in vitro. Journal of food science, 74(1), C73-C77

Selvaggini R., Servili M., Urbani S., Esposto S., Taticchi A., Montedoro G.F. 2006. *"Evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil by direct injection in high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection"*. J. Agric. Food Chem., 54: 2832-2838.

Suman, S. P., Faustman, C., Stamer, S. L., & Liebler, D. C. (2007). Proteomics of lipid oxidation-induced oxidation of porcine and bovine oxymyoglobins. Proteomics, 7(4), 628-640.

Van Soest, P. V., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of dairy science, 74(10), 3583-3597.