



UNIONE EUROPEA
Fondo Europeo Agricolo
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

C'È FERMENT 

Sviluppo di nuovi prodotti latte-fermentati a base di frutta e verdura

Silvia Folloni



Martina Marrella, Camilla Lazzi



Definizione consenso di FERMENTATI

“foods made through desired microbial growth and enzymatic conversions of food components”

[nature](#) > [nature reviews gastroenterology & hepatology](#) > [consensus statements](#) > [article](#)

Consensus Statement | [Open Access](#) | [Published: 04 January 2021](#)

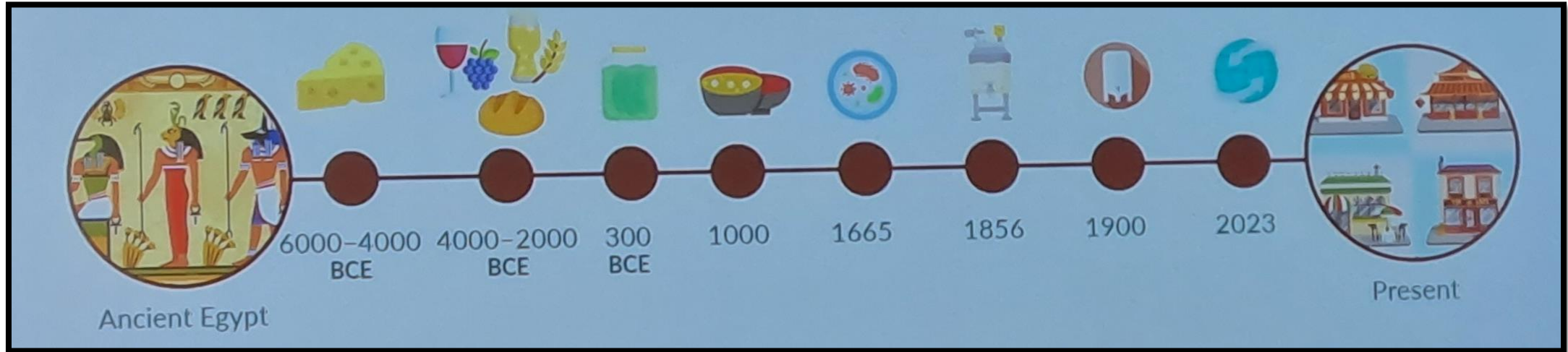
The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods

[Maria L. Marco](#), [Mary Ellen Sanders](#), [Michael Gänzle](#), [Marie Claire Arrieta](#), [Paul D. Cotter](#), [Luc De Vuyst](#), [Colin Hill](#), [Wilhelm Holzapfel](#), [Sarah Lebeer](#), [Dan Merenstein](#), [Gregor Reid](#), [Benjamin E. Wolfe](#) & [Robert Hutkins](#) 

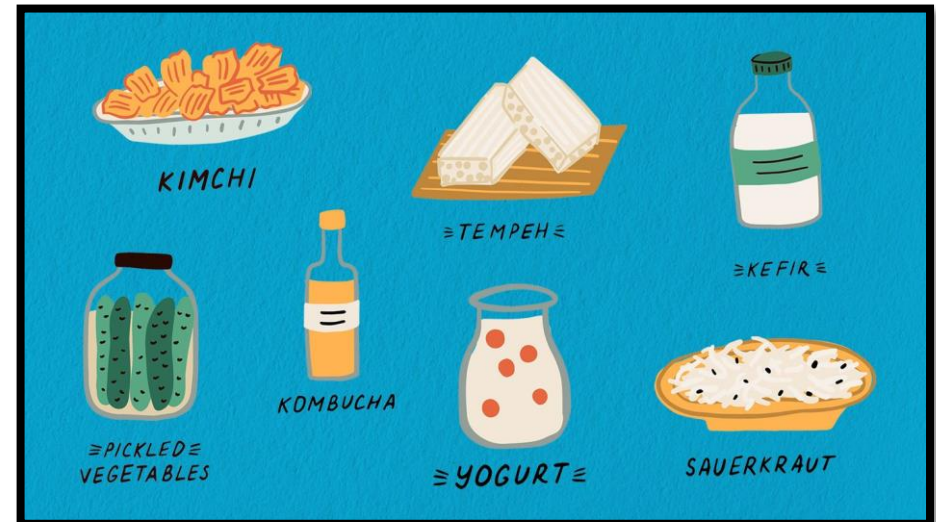
[Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology](#) **18**, 196–208 (2021) | [Cite this article](#)

Box 1 Fermented food classification based on the presence of live microorganisms	
Fermented Live microorganisms present	Live microorganisms absent
<ul style="list-style-type: none">• Yoghurt• Sour cream• Kefir• Most cheeses• Miso• Natto• Tempeh• Non-heated fermented vegetables• Non-heated salami, pepperoni and other fermented sausages• Boza, bushera and other fermented cereals• Most kombuchas• Some beers	<ul style="list-style-type: none">• Bread• Heat-treated or pasteurized fermented vegetables, sausage, soy sauce, vinegar and some kombuchas• Wine, most beers and distilled spirits• Coffee and chocolate beans (after roasting) Not fermented <ul style="list-style-type: none">• Chemically leavened bread• Fresh sausage• Vegetables pickled in brine and/or vinegar• Chemically produced soy sauce• Salted or cured processed meats and fish

Cibi fermentati



“Nel mondo si preparano e consumano circa 5000 tipologie diverse di bevande e cibi e fermentati. Questi contribuiscono al 5% -40% della dieta umana”



PERCHE' FERMENTARE

Incremento polifenoli e attività anti-ossidante

Aumento vitamine del gruppo B

Aumento dei composti aromatici

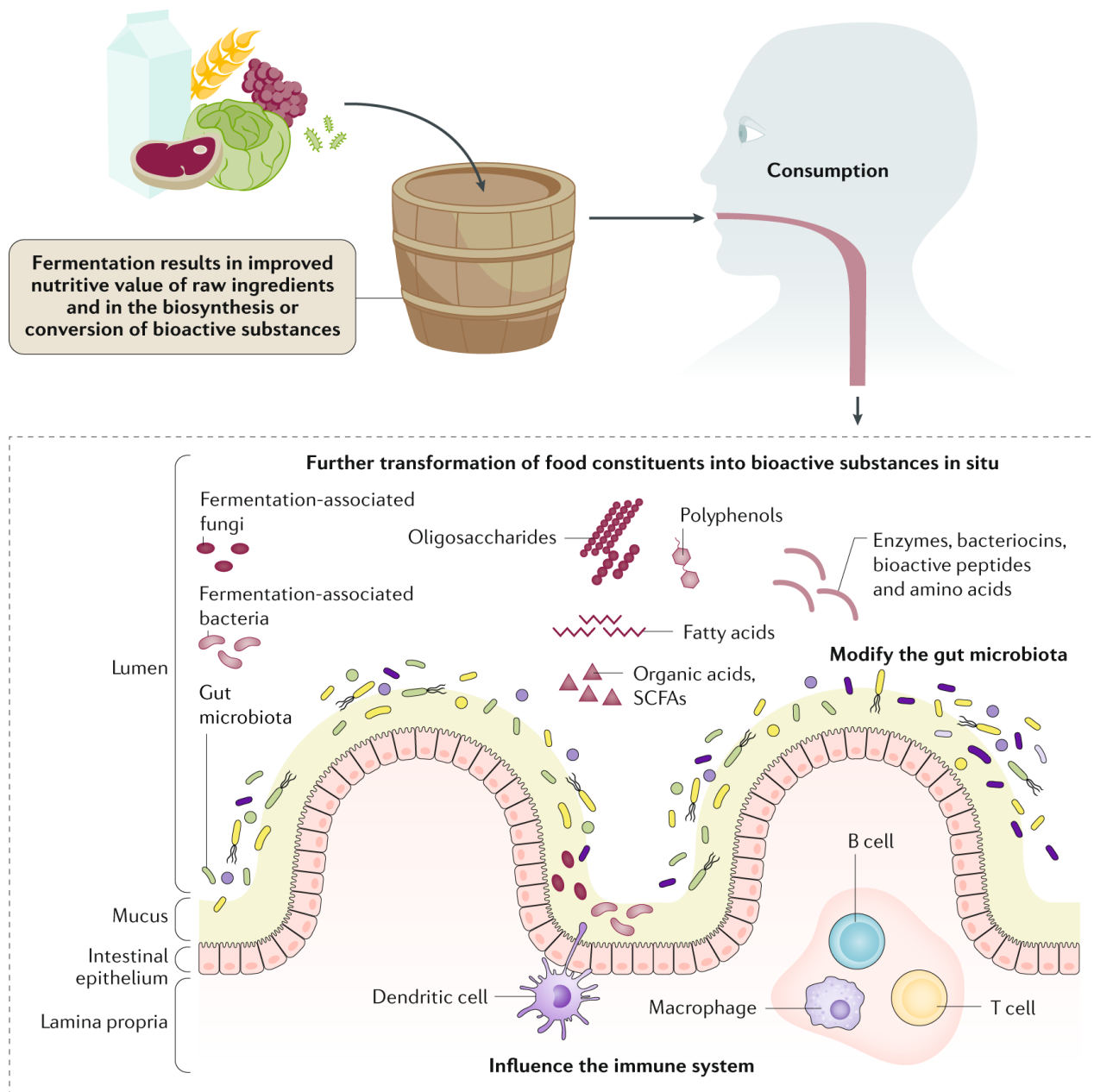
Prolungamento della shelf-life

Apporto di batteri lattici vitali

BENEFICI PER LA SALUTE

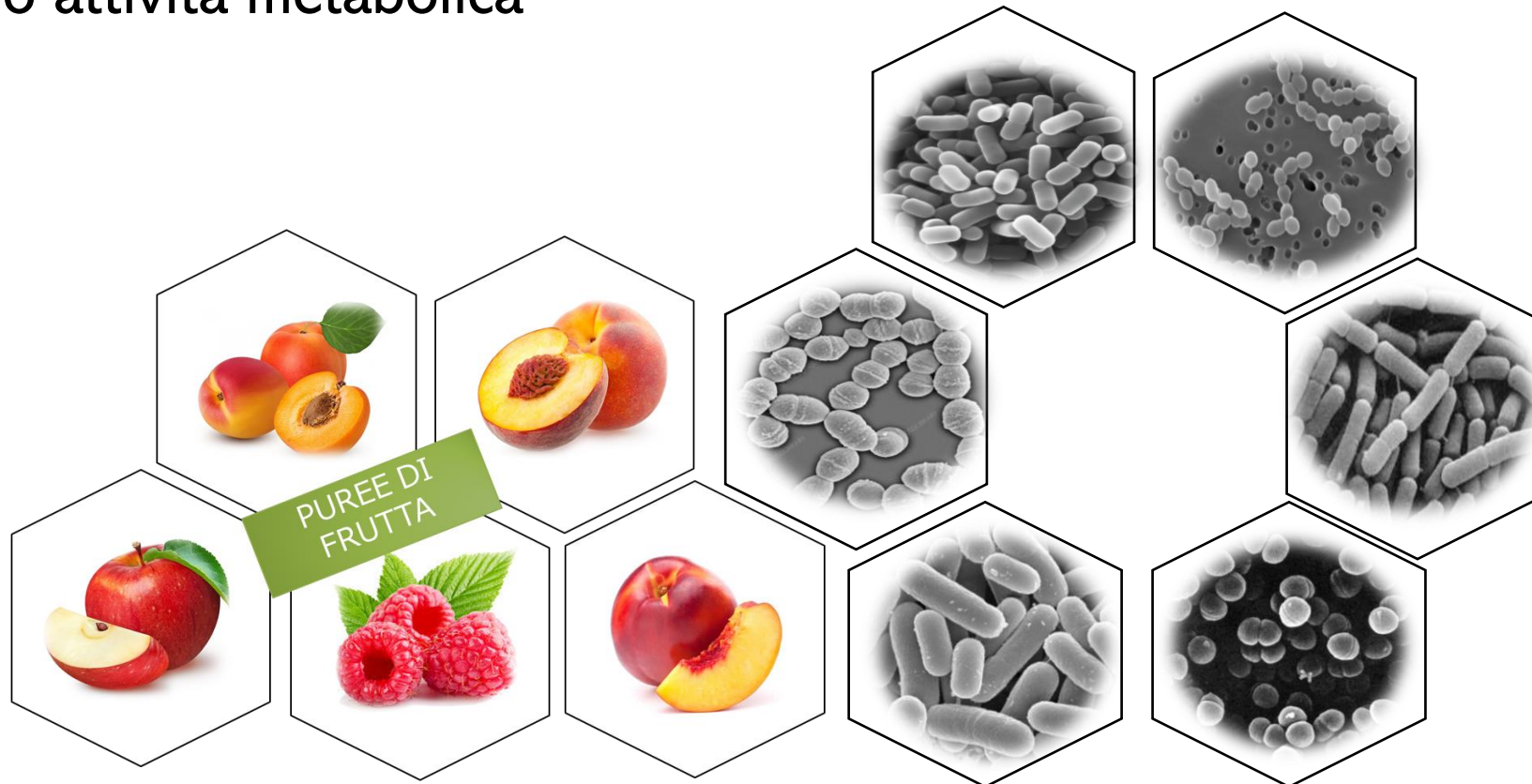
Rimozione, sintesi e trasformazione dei componenti alimentari durante la fermentazione da parte delle attività dei microrganismi che possono portare a un miglioramento del valore nutritivo dell'alimento (riduzione dei fitati o sintesi di vitamine) o alla generazione di composti biologicamente attivi (peptidi bioattivi o acido linoleico coniugato).

Interazione con il microbiota intestinale, l'epitelio intestinale o il sistema immunitario dell'ospite, da parte dei costituenti degli alimenti fermentati, microrganismi associati alla fermentazione e i loro prodotti cellulari ed ulteriore trasformazione dei costituenti degli alimenti in vivo in sostanze bioattive come peptidi, batteriocine, aminoacidi, acido linoleico coniugato o acidi organici.



OBIETTIVO DEL PROGETTO

Sviluppare succhi e puree biologici altamente innovativi a carattere salutistico grazie all'impiego di batteri lattici, in grado di veicolare microrganismi vitali che possano arricchire il microbiota intestinale e composti benefici derivanti dalla loro attività metabolica



IPOSTESI PRODOTTI

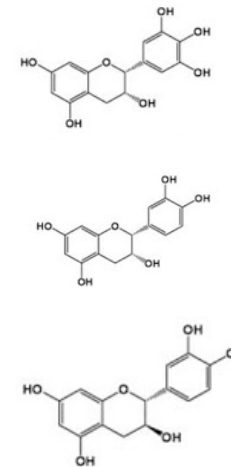
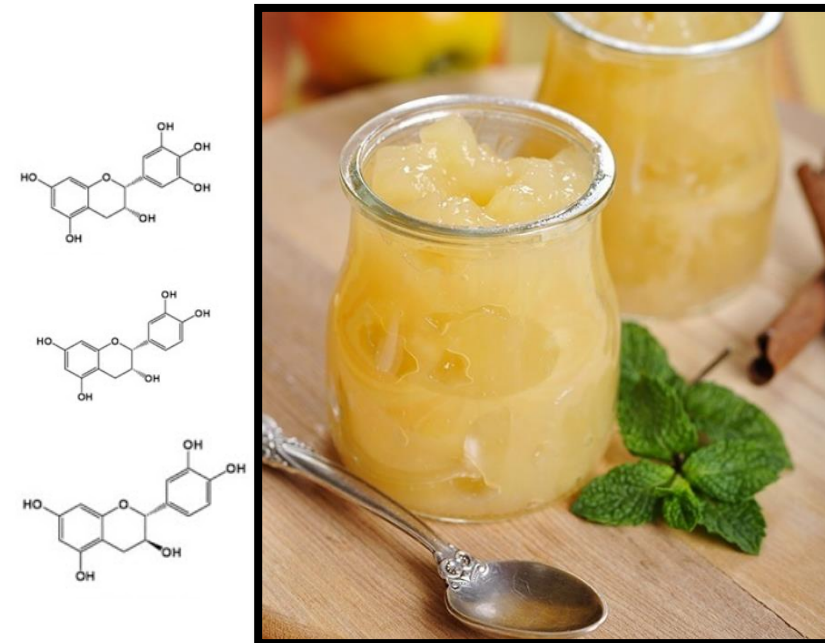
SUCCO/PUREA CON CELLULE VITALI

OBIETTIVO: effetto dei microrganismi vitali. La carica vitale dei batteri sarà mantenuta alta fino al consumo i succhi/puree fermentati (refrigerazione).

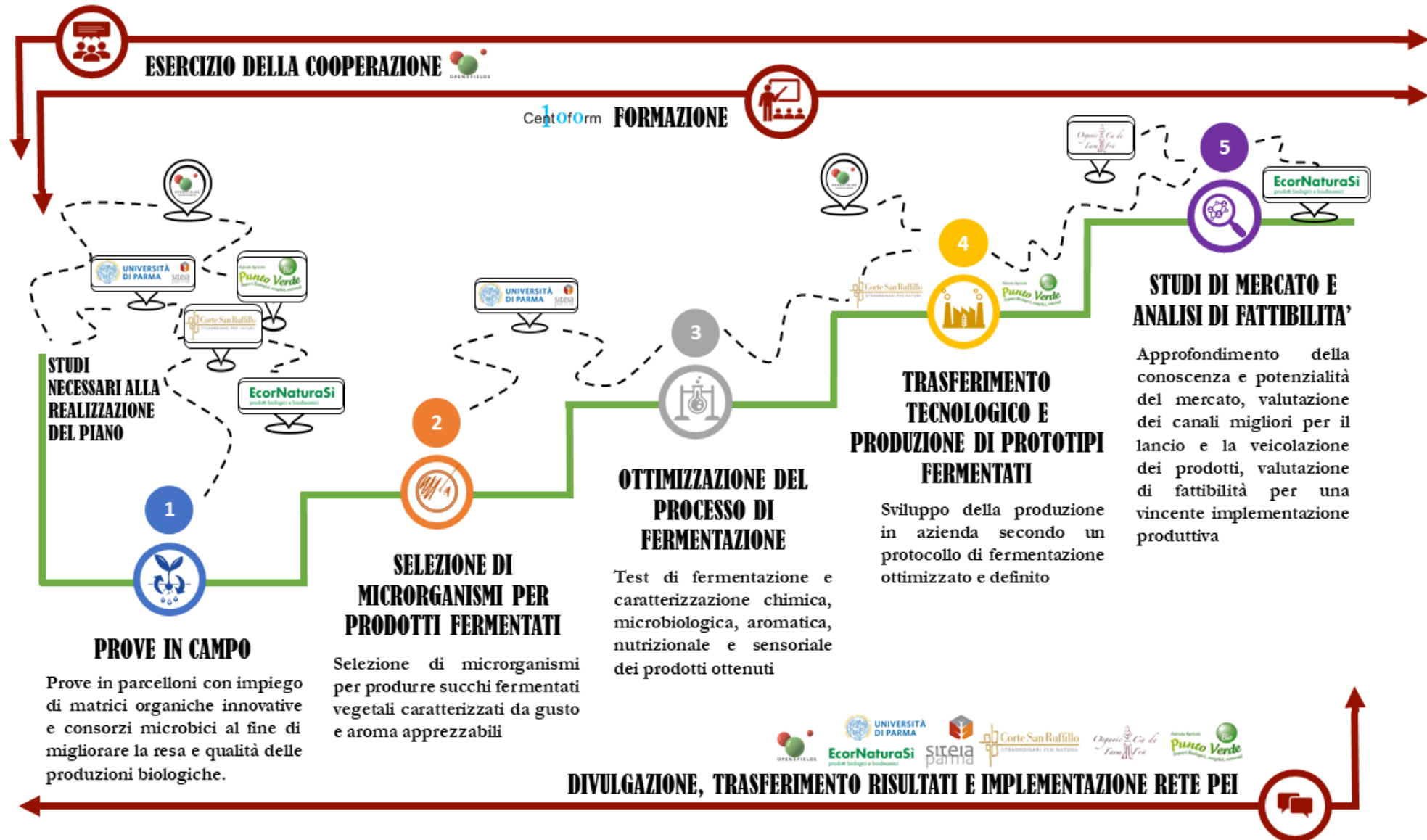


SUCCO/PUREA CON METABOLITI FUNZIONALI

OBIETTIVO: effetto dei metaboliti rilasciati nel succo. I succhi saranno stabilizzati termicamente (pastorizzazione).



IL PROGETTO – ATTIVITA'



1. SCELTA MATRICI e ANALISI CHIMICHE

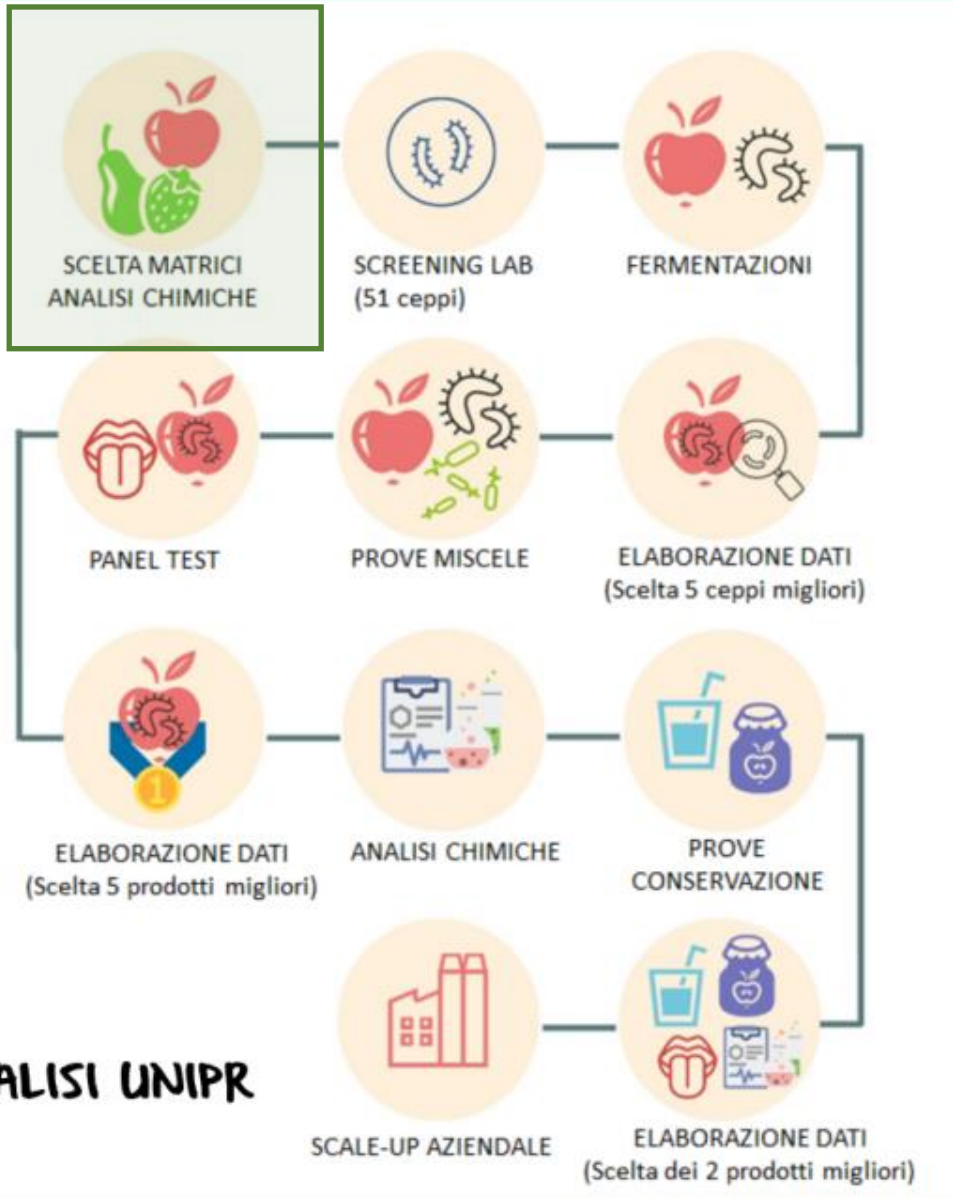
- Purea di Pesca (Azienda Punto Verde)
- Purea di Mela (Azienda Punto Verde)
- Purea di Albicocca (Azienda Punto Verde)
- Purea di Pesca varietà nettarina (Azienda Vespignani)
- Purea di Lampone (Azienda Vespignani)



Nuovi substrati, valutazione fermentescibilità:
analisi composizione zuccheri ed acidi organici



Determinazione profilo zuccheri e acidi organici
mediante GC/MS



Caratterizzazione Zuccheri semplici

- Gli zuccheri maggiormente presenti sono il fruttosio ed il glucosio.
- Sono stati riscontrati altri zuccheri che risultano componenti minori, come arabinosio e saccarosio, e polialcoli come sorbitolo e inositolo.
- Il profilo è in linea con quello che si può riscontrare anche in altri tipi di frutta, come mostrato in un precedente studio per il succo di sambuco.

Valori espressi in ppm (mg/Kg)

	Albicocca		Mela		Pesca	
<i>α</i> -arabinosio (ppm)	512	± 33	726	± 97	709	± 136
<i>β</i> -arabinosio (ppm)	570	± 28	769	± 54	755	± 88
<i>α</i> -fruttofuranosio (ppm)	4289	± 396	11951	± 445	6130	± 919
<i>β</i> -fruttofuranosio (ppm)	5407	± 56	11974	± 734	7146	± 1098
<i>β</i> -fruttopiranosio (ppm)	13287	± 1335	26732	± 8957	21669	± 1917
<i>α</i> -glucosio (ppm)	15289	± 284	15100	± 344	15726	± 309
Sorbitolo (ppm)	6325	± 256	7719	± 849	8807	± 397
<i>β</i> -glucosio (ppm)	18342	± 268	18488	± 841	19149	± 696
<i>mi</i> -inositolo (ppm)	2077	± 29	1162	± 47	2224	± 205
Saccarosio (ppm)	24373	± 1656	19238	± 4092	37332	± 3689

	Nettarina Concentrato		Nettarina Pura	
<i>α</i> -arabinosio (ppm)	357	± 61	311	± 15
<i>β</i> -arabinosio (ppm)	372	± 54	333	± 12
<i>α</i> -fruttofuranosio (ppm)	6605	± 1102	4653	± 392
<i>β</i> -fruttofuranosio (ppm)	7299	± 1342	4994	± 472
<i>β</i> -fruttopiranosio (ppm)	13420	± 1173	11562	± 309
<i>α</i> -glucosio (ppm)	15264	± 836	12028	± 904
Sorbitolo (ppm)	6888	± 276	6125	± 317
<i>β</i> -glucosio (ppm)	19295	± 1167	15011	± 1222
<i>mi</i> -inositolo (ppm)	1631	± 71	1475	± 88
Saccarosio (ppm)	24367	± 5038	32947	± 603

ZUCCHERI SEMPLICI ED ACIDI ORGANICI DELLE MATRICI

Caratterizzazione Acidi Organici

- Tra gli acidi organici riscontrati nei diversi campioni, l'acido malico è sicuramente quello più rappresentativo, seguito dall'acido citrico e dall'acido chinico.
- Le quantità di zuccheri e acidi organici dipendono anche dal grado di maturazione del frutto.
- Le quantità riscontrate nei campioni in esame sono confrontabili con quelle della frutta a fine maturazione.

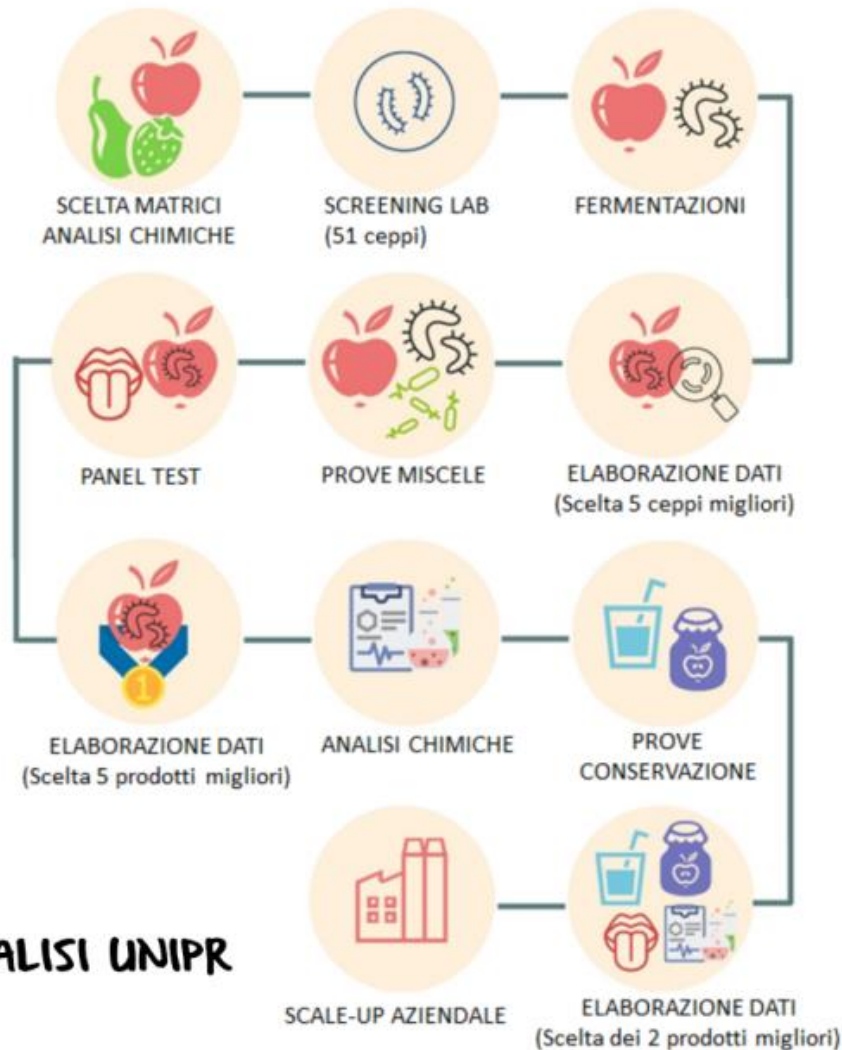
Valori espressi in ppm (mg/Kg)

	Albicocca		Mela		Pesca	
acido lattico (ppm)	60	± 29	31	± 5	39	± 6
acido succinico (ppm)	n.d.		n.d.		84	± 13
acido glicerico (ppm)	90	± 6	141	± 16	110	± 7
acido malico (ppm)	5829	± 364	2976	± 234	2470	± 173
acido tartarico (ppm)	94	± 14	171	± 3	134	± 19
acido citrico (ppm)	1076	± 171	493	± 79	1043	± 156
acido chinico (ppm)	872	± 11	374	± 190	2539	± 50

	Nettarina Concentrato		Nettarina Pura	
acido lattico (ppm)	29	± 5	319	± 51
acido succinico (ppm)	70	± 10	44	± 7
acido glicerico (ppm)	51	± 3	57	± 4
acido malico (ppm)	3969	± 278	3553	± 249
acido tartarico (ppm)	158	± 22	132	± 18
acido citrico (ppm)	1419	± 213	1136	± 170
acido chinico (ppm)	3704	± 817	3244	± 801

La caratterizzazione chimica di zuccheri semplici e acidi organici mostra un buon grado di fermentescibilità per ogni purea selezionata

AZIONE 2 – SELEZIONE DEI MICRORGANISMI PER PRODOTTI



DA PROGETTO:

I processi di fermentazione per ogni matrice hanno previsto l'utilizzo di 5 colture di batteri lattici appartenenti a specie differenti e l'utilizzo di 5 miscele derivanti dalla combinazione delle precedenti colture, per un totale di 50 prodotti fermentati.

PROVE EFFETTUATE:

Sono stati condotti:

- 510 prove di fermentazione in mono-coltura
- 108 prove di fermentazione in miscela
- 48 prove fermentazione con aggiunta zucchero post-fermentazione

Più di 600 processi di fermentazione!!

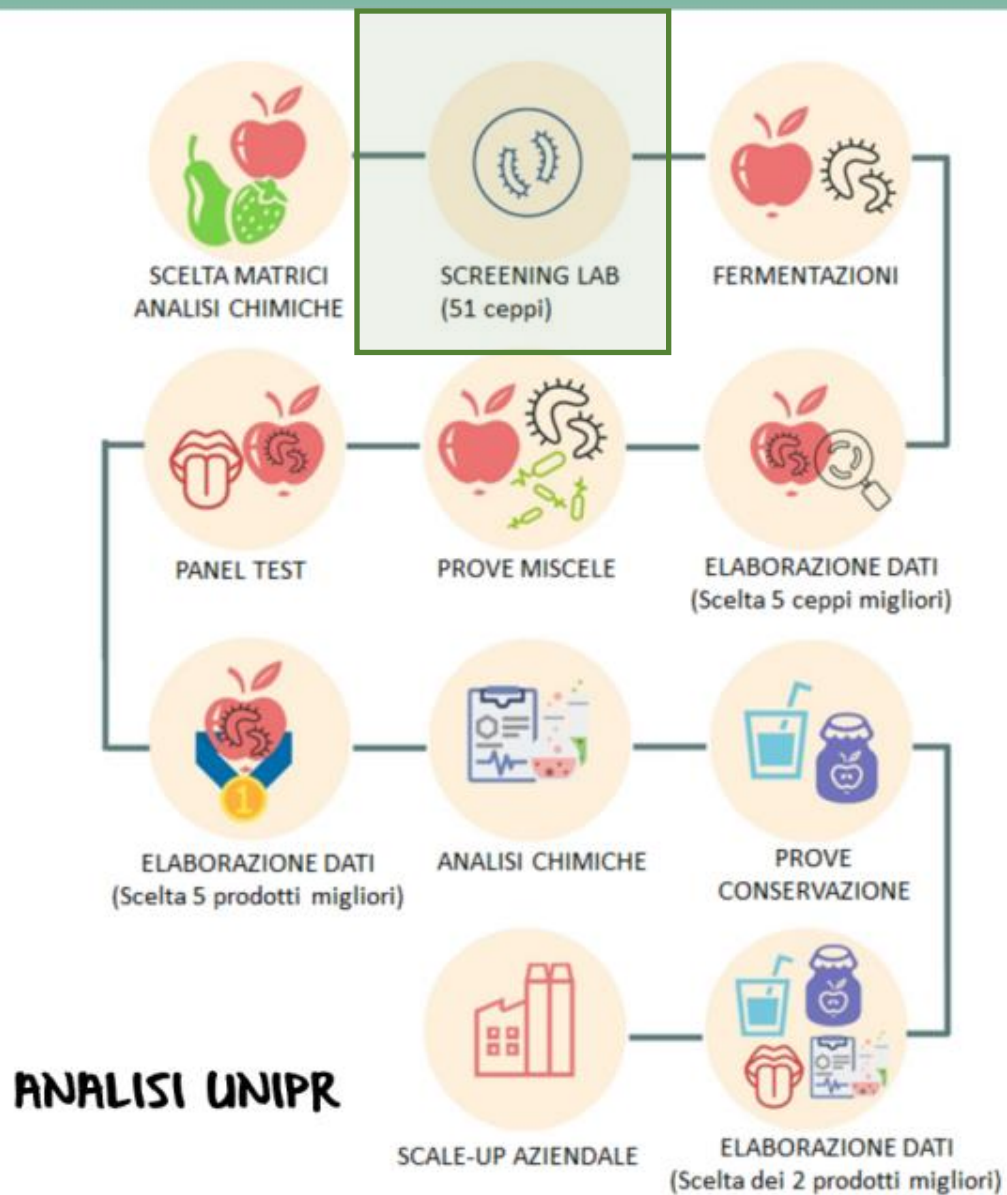
2. SCREENING LAB

Selezione di ceppi appartenenti a University of Parma Culture Collection (UPCC).

Criteri:

- dati pregressi
- ricerca in letteratura

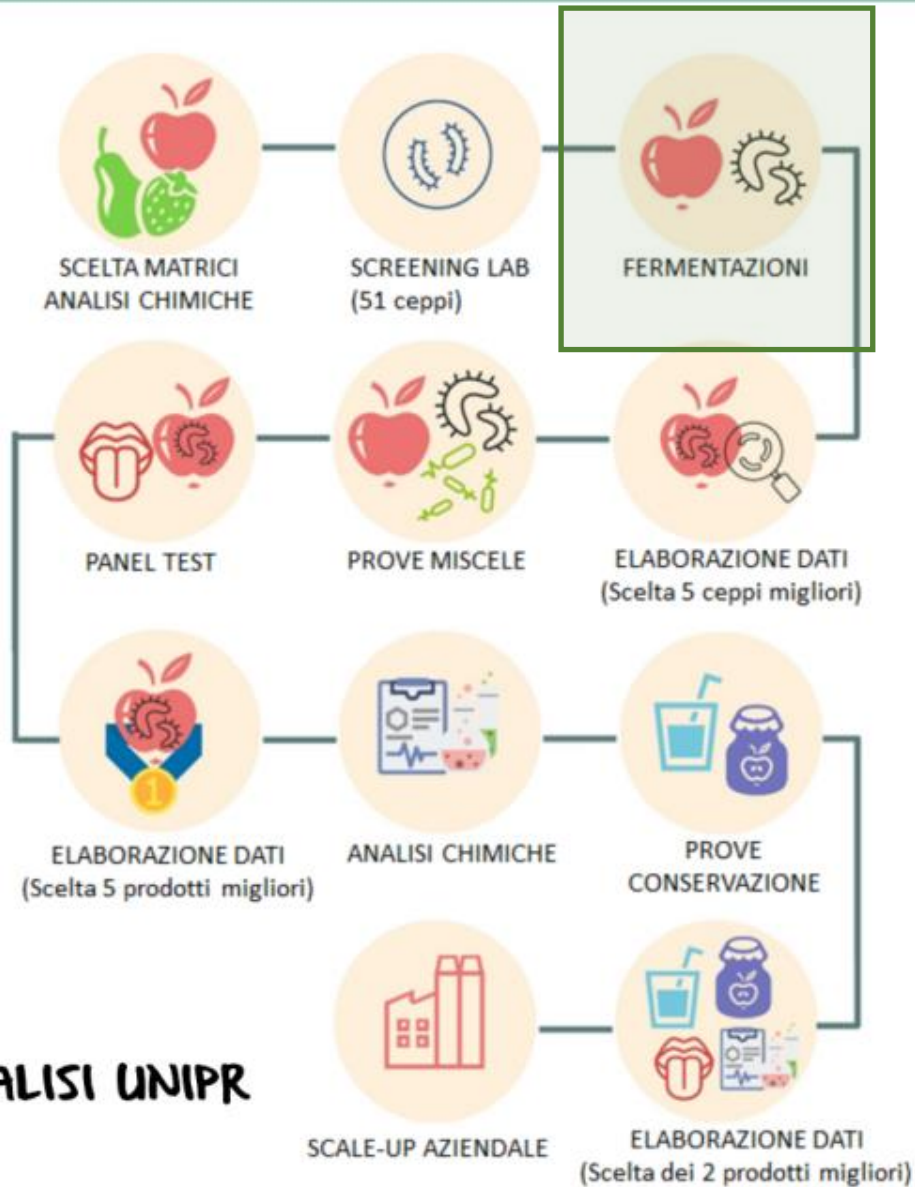
Selezione di 51 ceppi LAB appartenenti a 9 specie:



<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	5
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	3
<i>Leuconostoc citreum</i>	9
<i>Lactocaseibacillus paracasei</i>	15
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	12
<i>Pediococcus acidilattici</i>	4
<i>Levilactobacillus brevis</i>	1
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	1
<i>Lactococcus lactis</i>	1
Totale ceppi	51

3. FERMENTAZIONI

- Il processo di fermentazione è stato condotto mediante l'inoculo di una carica elevata di microrganismi (7Log UFC/g) ed incubando per 48h alla temp. ottimale del ceppo (30-37°C).
- Per ogni fermentazione è stato eseguito un replicato biologico, realizzando in totale 510 fermentazioni preliminari.
- I campioni ottenuti sono stati valutati dal punto di vista della crescita microbica e dal punto di vista sensoriale con l'obiettivo di selezionare i 5 ceppi ritenuti migliori per ogni campione, da utilizzare in mono-coltura e in miscela.



VALUTAZIONE SENSORIALE

- Coinvolti 4 panelisti non esperti
- Valutazioni condotte nel periodo Giugno 2020 - Agosto 2020 per un totale di 6 incontri.
- Ad ogni assaggiatore è stato chiesto di indicare un punteggio da 1 a 10 per ogni prodotto fermentato e per il controllo non fermentato e mettere i diversi campioni fermentati in ordine di preferenza. Il punteggio assegnato riguardava un giudizio complessivo del campione.

Presenta x | Aggiorna x | PSR Rela x | PSR_Otto x

f

+ | ↺ | ↔ | 📄 | A | T | ▾ | ▾ | ▾ | ▾

Prodotto: Purea di **Assaggiatore.....**

Assaggia il campione e indica il giudizio complessivo per ognuno.

Campione Controllo

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Commenti:

Campione

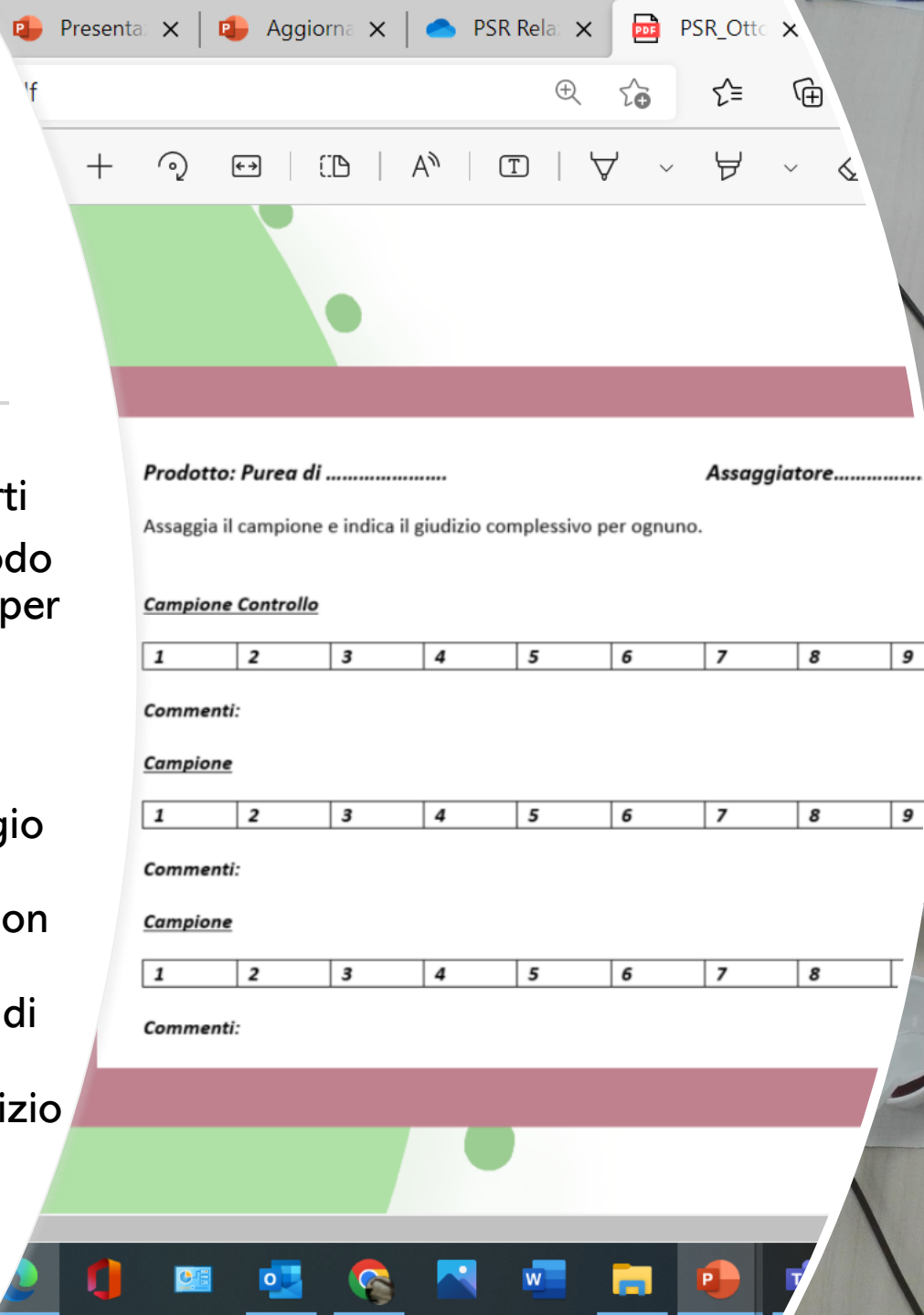
1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Commenti:

Campione

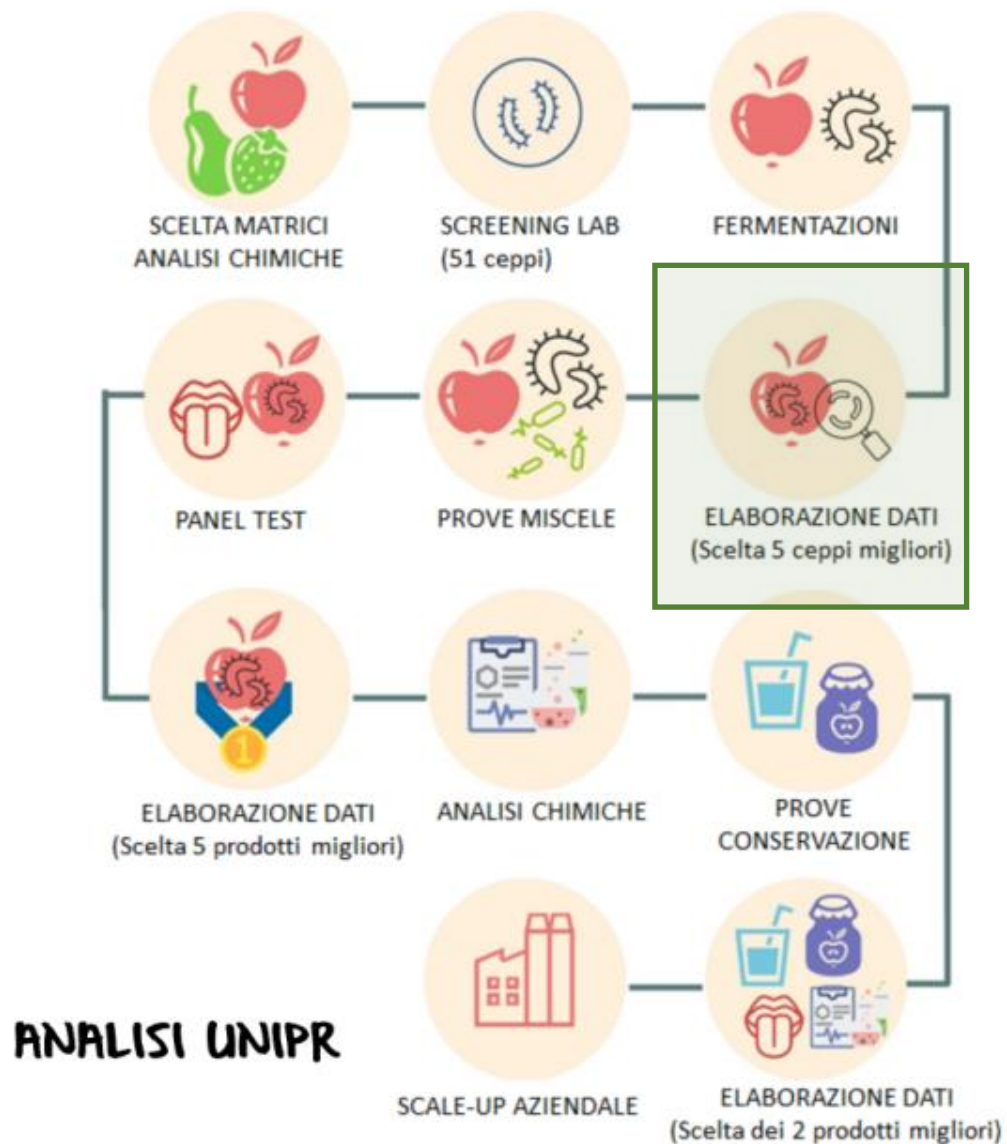
1	2	3	4	5	6	7	8
---	---	---	---	---	---	---	---

Commenti:



4. SCELTA 5 MIGLIORI

In base alle valutazioni precedenti sono selezionati i 5 ceppi migliori di ogni matrice, con cui sono state allestite le diverse co-culture, come previsto da progetto.



Scelta 5 ceppi migliori

CRITERI SELEZIONE

1. Cresce ed è più buono del controllo
2. mantiene l'inoculo iniziale ed è più buono
3. Non cresce ma è più buono

ALBICOCCA

L. plantarum 4932
L. brevis 4198
P. acidilattici 2467, 2089
L. rhamnosus 2462

PESCA

L. paracsei 2093, 4341
L. lactis 224
P. acidilattici 2089
L. rhamnosus 2411

MELA

L. citreum 4461
L. paracasei 2093, 4186
P. acidilattici 2184
L. rhamnosus 2462

NETTARINA

L. plantarum 4199
L. citreum 4452
L. mesenteroides 105
L. rhamnosus 1019, 2001

LAMPONE

L. plantarum 4932
L. citreum 4453
L. paracasei 2125, 4341
L. rhamnosus 2233

15- 16 LUGLIO 2021 PANEL TEST PRESSO EcorNaturaSì



Sono state ricondotte fermentazioni per 4 matrici, MELA, ALBICOCCA, LAMPONE, PESCA NETTARINA, con i 4 migliori ceppi/miscele per matrice (2 monoculture e 2 miscele) e un controllo non fermentato (non dichiarato).

DA CHI?

Il panel test è stato svolto da 10 panelisti «allenati», maschi e femmine, in un range di età compresa tra i 25 ai 65 anni.

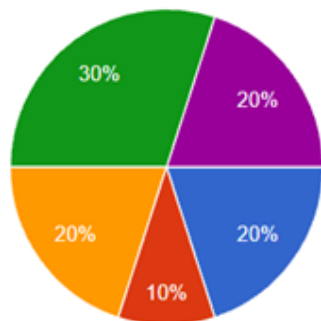
DOMANDE

- Conoscete i prodotti fermentati?
- Assegnare un punteggio in una scala da “per niente gradevole” a “eccellente” in base a **colore e densità, profumo, aroma, dolcezza, asprezza e intensità del sapore** della matrice.
- Indicare il **grado di dolcezza** di ogni singolo campione su una scala.
- **Mettere in ordine di preferenza i campioni e indicare il preferito.**

RISULTATI PANEL TEST

COMPOSTA DI LAMPONE - quale preferisci?

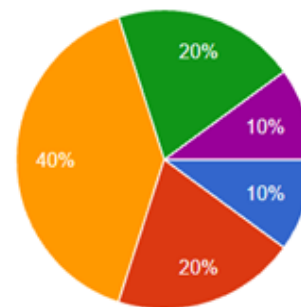
10 risposte



- *L. plantarum* 4932
- *L. citreum* 4453
- *L. plantarum* 4932 + *L. paracasei* 2125
- *L. plantarum* 4932 + *L. paracasei* 4341
- Controllo

COMPOSTA DI PESCA - quale preferisci?

10 risposte

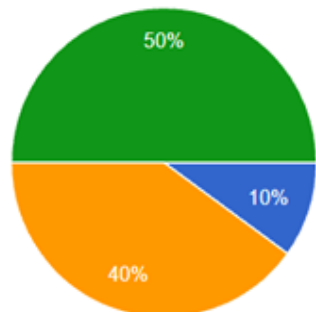


- *L. mesenteroides* 105
- *L. plantarum* 4199
- *L. mesenteroides* 105 + *L. plantarum* 4199
- *L. mesenteroides* 105 + *L. rhamnosus* 2001
- Controllo

- Dal punto di vista sensoriale, per tutte le matrici è sempre presente un fermentato più apprezzato del controllo non fermentato

Succo ALBICOCCA - quale preferisci?

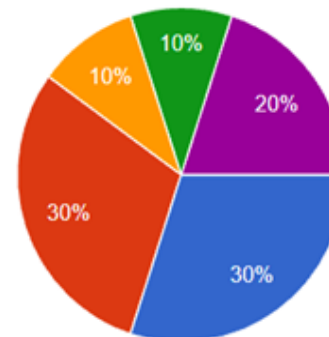
10 risposte



- *L. rhamnsosus* 2462
- *L. plantarum* 4198
- *L. plantarum* 4932 + *P. acidilattici* 2467
- *L. plantarum* 4198 + *P. acidilattici* 2467
- Controllo

Succo MELA - quale preferisci?

10 risposte



- *L. paracasei* 2093
- *L. citreum* 4461
- *L. paracasei* 2093 + *L. citreum* 4461
- *L. paracasei* 4186 + *L. citreum* 4461
- Controllo



Programma di Sviluppo Rurale dell'Emilia-Romagna 2014-2020



UNIONE EUROPEA Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

AZIONE 3: OTTIMIZZAZIONE DEL PROCESSO DI FERMENTAZIONE

Obiettivo: al T0 e dopo 3 mesi (shelf life refrigerazione e pastorizzazione) - PUREA DI ALBICOCCA

- Valutazione del contenuto in molecole di interesse per i succhi/puree fermentati selezionati:

Contenuto in polifenoli totali (Folin-Ciocalteu) profilo in polifenoli (HPLC-MS/MS) e attività antiossidante (DPPH).

Profilo vitaminico e contenuto in zuccheri (LC-MS e GC-MS).

Caratterizzazione del profilo aromatico (HS-SPME/GC-MS).

- Analisi sensoriale/ assenza di microrganismi indesiderati

SUCCO/PUREA CON METABOLITI FUNZIONALI



*Per un prodotto
da scaffale*

Fermentazioni in monocoltura (*L. plantarum*) su purea di Albicocca:
CRESCITA CEPPO, POLIFENOLI TOTALI e ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE





Incubazione (48h) e trattamento termico (pastorizzazione) al
fine di stabilizzare il prodotto per il periodo di shelf life (3 mesi):
ASSENZA MICRORGANISMI, ONGOING

AZIONE 4: TRASFERIMENTO TECNOLOGICO E PRODUZIONE DI PROTOTIPI FERMENTATI



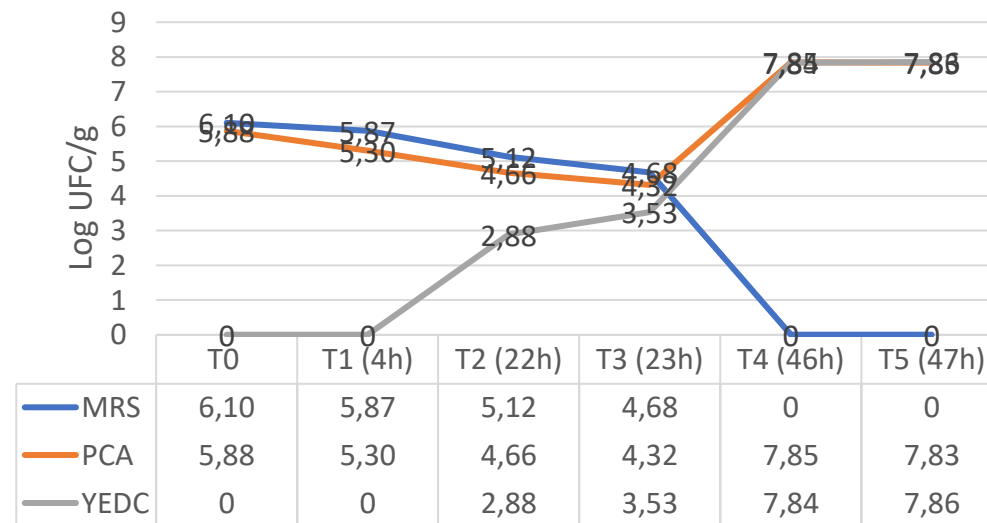
Presso l'Azienda Vespignani è stata fermentata per 48 ore a 37°C la purea di **Lampone** mediante la reidratazione del **ceppo liofilizzato**.

Attraverso conte microbiche si è valutato l'andamento delle prove:

- Assenza microrganismi nella purea da fermentare 
- Calo della concentrazione del ceppo inoculato dopo 22 h (*L. plantarum*)
- Increme  della concentrazione dei lieviti dopo 22 h



Campionamento a diversi tempi

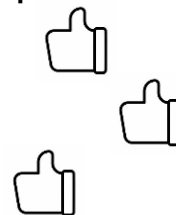


AZIONE 4: TRASFERIMENTO TECNOLOGICO E PRODUZIONE DI PROTOTIPI FERMENTATI

Presso l'Azienda Punto Verde è stata fermentata per 48 ore a 25°C la purea di Albicocca mediante la reidratazione del **ceppo liofilizzato**. Quindi è stato aggiunto lo zucchero e le puree fermentate e sono state stabilizzate.

Attraverso conte microbiche si è valutato l'andamento delle prove:

- Assenza microrganismi nella purea da fermentare
- Corretta crescita del ceppo inoculato (*L. plantarum*)
- Assenza di batteri in seguito al trattamento termico



AZIONE 5: STUDI DI MERCATO E ANALISI DI FATTIBILITA'

Obiettivo:

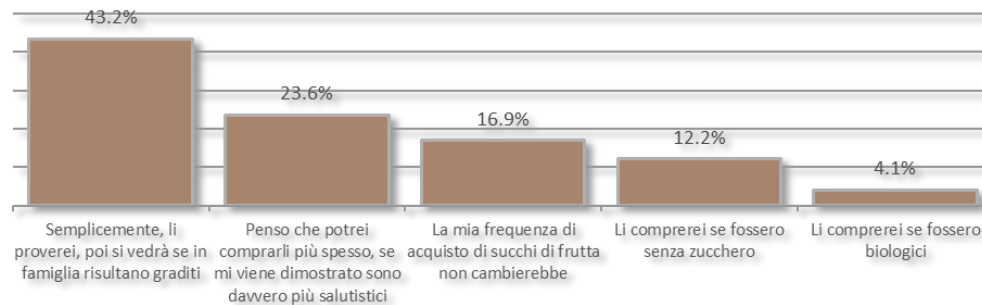
- Comprensione del potenziale di mercato
- Spunti per la scelta della gamma di prodotto, dei prezzi e dei canali di commercializzazione

Utilizzo dei dati di vendita **Naturasì** per valutare le dinamiche della domanda e la struttura dell'offerta

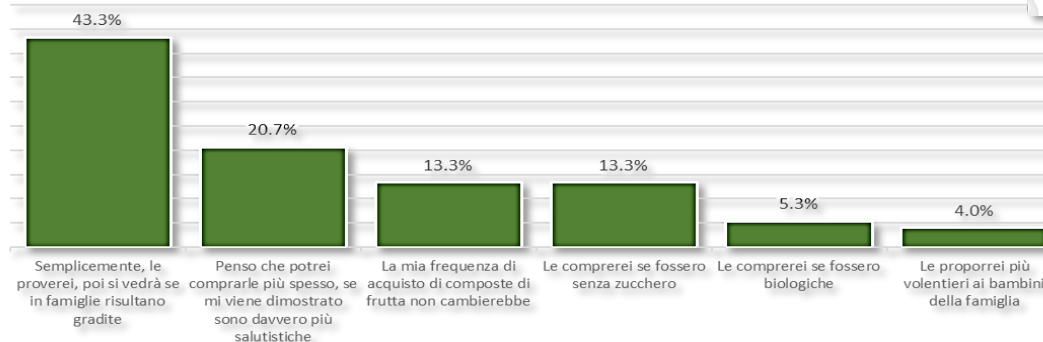
Valutazione, tramite **indagine ad hoc**, dell'interesse del consumatore

Foglio di calcolo per il economico di base del progetto

Domanda 4 - Come cambierebbe la sua propensione ad acquistare succhi di frutta se fossero proposti, in commercio, dei succhi di frutta fermentati?



Domanda 8 - Come cambierebbe la sua propensione ad acquistare composte di frutta se fossero proposte, in commercio, delle composte di frutta fermentate?



150 rispondenti: c'è interesse a provare il prodotto, tutelando il sapore e fornendo garanzie di effettiva maggiore salubrità

Ipotesi di linee di sviluppo



- o Ipotizzando un succo+polpa:
 - o Mela / Albicocca / Nettareina
 - o Mela + lampone

- ❖ con quale grammatura?
 - ❖ 200 -250 ml
 - ❖ a quale prezzo al pezzo (range min-max)
 - ❖ 2 -3 €
 - ❖ a quale prezzo al kg (range min max.)
 - ❖ 10-15 €
 - ❖ Claim :
 - ❖ «ricco di ..»
 - ❖ Succo e polpa



- o Ipotizzando una composta :
 - o Nettareina
 - o Lampone

- ❖ con quale grammatura?
 - ❖ 200 -250 gr
 - ❖ a quale prezzo al pezzo (range min-max)
 - 3,00 – 3,50 € Nettareina
 - 3,50 – 4,00 € Lampone
 - ❖ a quale prezzo al kg (range min max.)
 - 15,00 – 17,50 € Nettareina
 - 17,50 – 20,00 € Lampone
 - ❖ Claim :
 - ❖ «ricco di ..»
 - ❖ Ridotto contenuto di in zuccheri

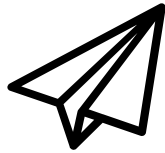
Riguardo ai canali di commercializzazione, molto dipende dai volumi disponibili. Sui bassi volumi, anche per il mancato sfruttamento di economie di scala, è preferibile la vendita diretta o in negozi specializzati, mentre al crescere dei volumi la grande distribuzione specializzata nel biologico, di cui fa parte Naturasì, potrebbe risultare un canale privilegiato per il «terreno fertile» costituito dai consumatori di tale catena.

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

- Apprezzamento da parte dei consumatori (panel test e questionari)
- Combinazione CEPPO x MATRICE con crescita LAB e aumento dell'attività antiossidante e del contenuto in polifenoli totali
- Protocollo per trasferimento in azienda con ceppo liofilizzato
- Produzioni aziendali possibili con un minimo investimento



C'È FERMENT



- S.FOLLONI@OPENFIELDS.IT
- WWW.GOCEFIMENTO.IT



**Programma di
Sviluppo Rurale**
dell'Emilia-Romagna
2014 - 2020



UNIONE EUROPEA
Fondo Europeo Agricolo
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali