



crea

Consiglio per la ricerca in agricoltura
e l'analisi dell'economia agraria

Centro di ricerca
olivicoltura, frutticoltura e agrumicoltura



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo
Fondo Europeo di Sviluppo Regionale



*Ministero dell'Università
e della Ricerca*



PON
RICERCA
E INNOVAZIONE
2014 - 2020



I batteri lattici come agenti di biocontrollo nella frutta di IV gamma

Flora V. Romeo, Cinzia Caggia, Giuseppe Spano

Struttura OR7

Attività	ID	Tipologia	Titolo	Responsabile	mail	Soggetto proponente
1	7.1	RI	Selezione ed uso di batteri antagonisti per la sicurezza e la shelf-life di frutta di IV gamma	Flora Valeria Romeo	floravaleria.romeo@crea.gov.it	OFA-AC
2	7.2	RI	Validazione della stabilità microbiologica dei prodotti per l'individuazione di obiettivi di sicurezza alimentari (FSO)	Cinzia Caggia	ccaggia@unict.it	UNICT
3	7.3	RI	Design di colture protettive per incrementare shelf-life e sicurezza dei prodotti ortofrutticoli di IV gamma	Giuseppe Spano	giuseppe.spano@unifg.it	UNIFG
4	7.4	SS	Utilizzo di ortofrutta di IV gamma per veicolare microrganismi probiotici (next generation probiotics)	Giuseppe Spano	giuseppe.spano@unifg.it	UNIFG

Il mercato globale dei prodotti freschi pronti per il consumo è cresciuto rapidamente negli ultimi anni a causa di cambiamenti nell'atteggiamento alimentare dei consumatori. La frutta fresca e di IV gamma rappresenta una matrice favorevole per i microrganismi patogeni e agenti di *spoilage*, che causano perdite economiche e malattie.



OBIETTIVO DI OR



Selezionare microrganismi utili e benefici per prolungare la shelf-life e incrementare la sicurezza dei prodotti di IV gamma



Frutta di IV
gamma

1



Isolamento e
caratterizzazione
di LAB

2



Ottenimento e
caratterizzazione
del CFS

3



Aggiunta del
CFS in frutta di
IV gamma

4



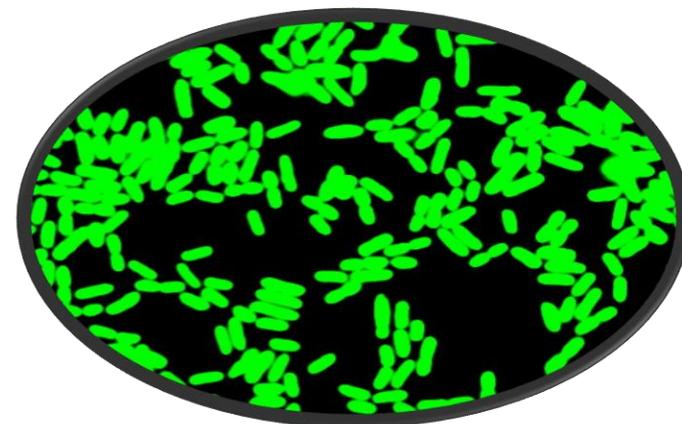
Monitoraggio della
shelf life

5

Attività multifunzionale di batteri lattici ed effetto antimicrobico in arilli di IV gamma (Punica granatum L. cv Jolly Red)



Sono stati isolati batteri lattici da arance rosse, da melograno, goji, ecc. Sono state effettuate le analisi chimico-fisiche su **melograno** in vaschette inoculate con patogeni e trattate con surnatante (CFS) di batteri lattici, come agente di biocontrollo.

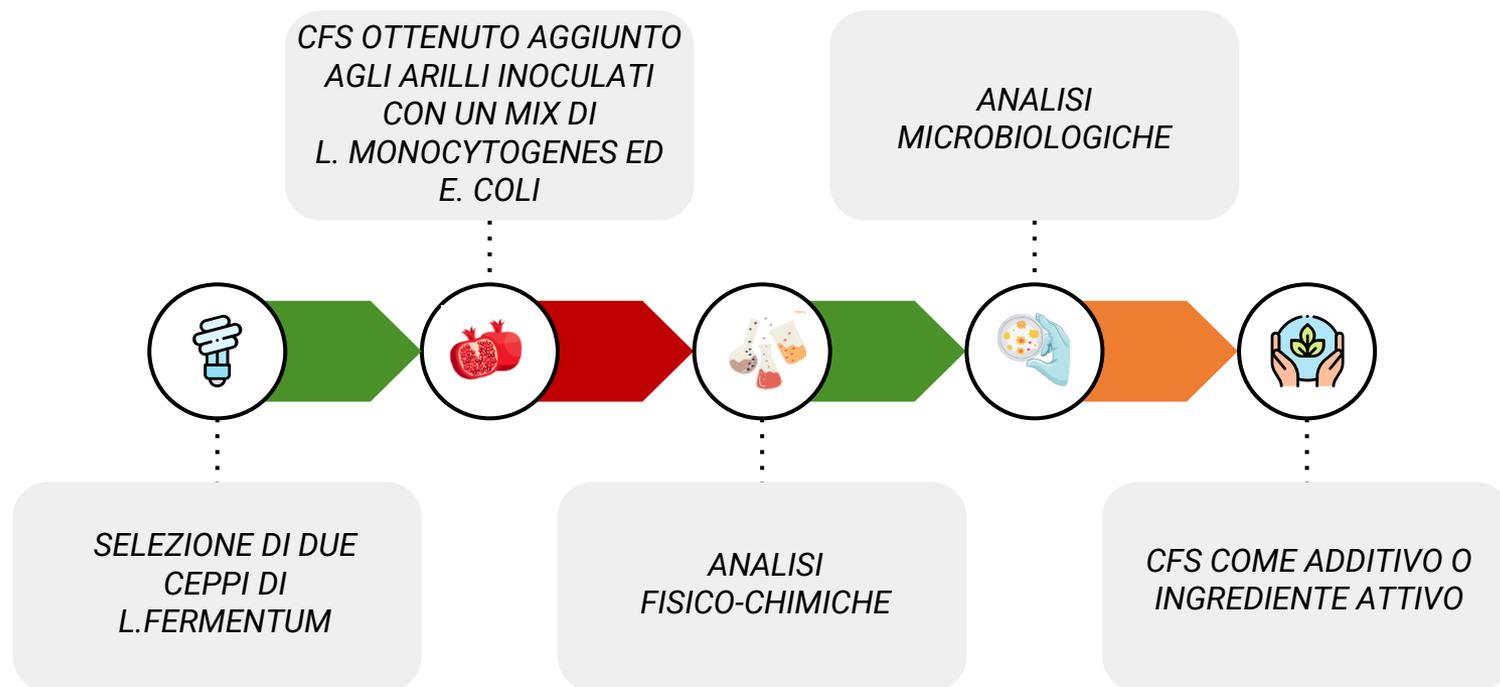




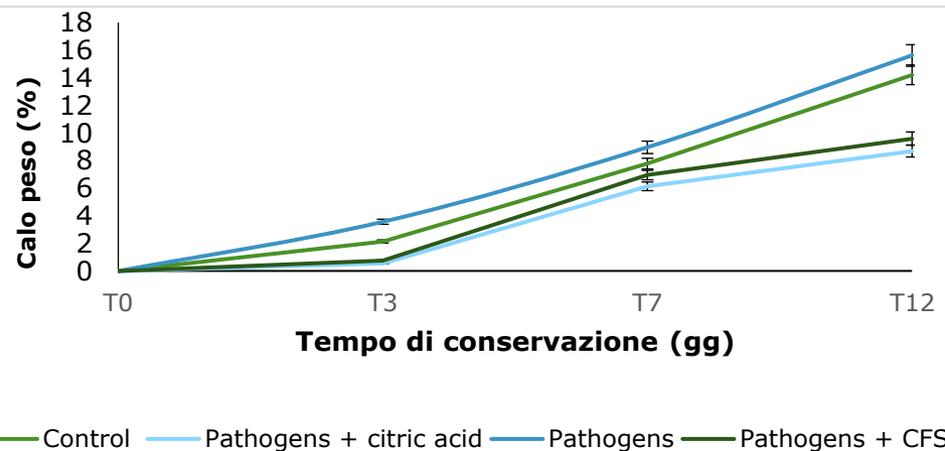
Article

Multi-Functional Potential of Lactic Acid Bacteria Strains and Antimicrobial Effects in Minimally Processed Pomegranate (*Punica granatum* L. cv Jolly Red) Arils

Leila Ben Farhat ^{1,2}, Flora Valeria Romeo ³, Paola Foti ², Nunziatina Russo ^{2,4,*}, Cinzia Lucia Randazzo ^{2,4,5}, Cinzia Caggia ^{2,4,5,†} and Ferid Abidi ^{1,†}

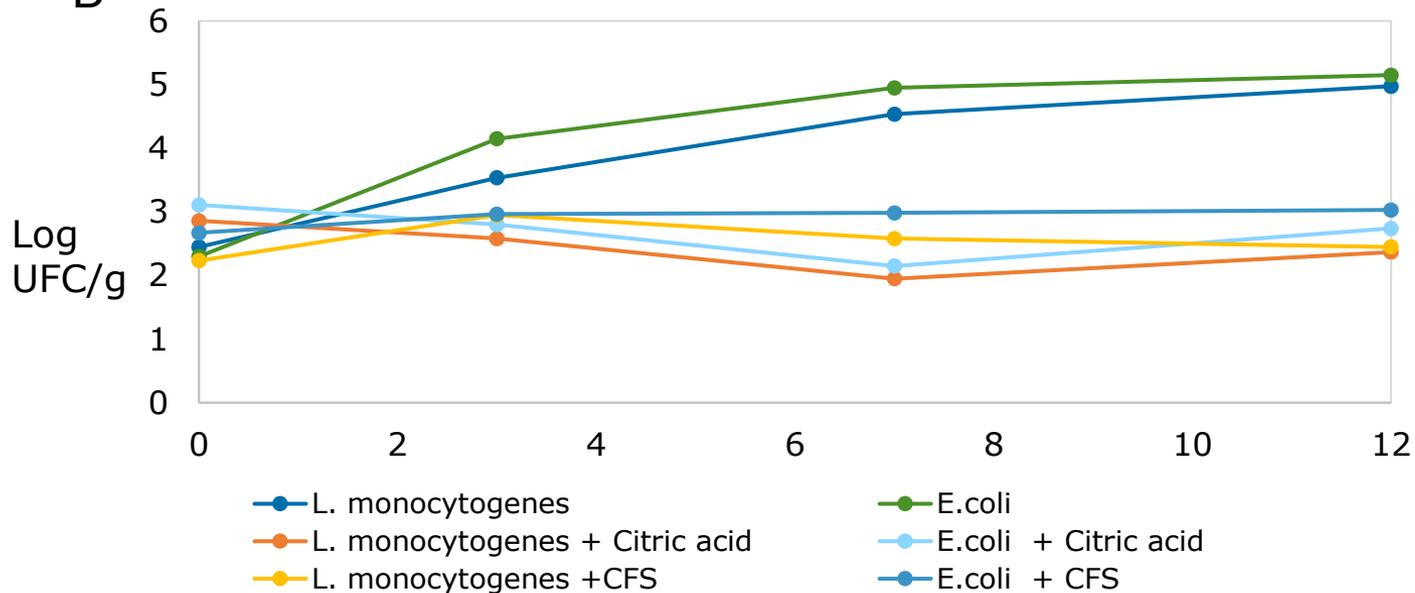


A



CALO PESO E CONTE MICROBICHE

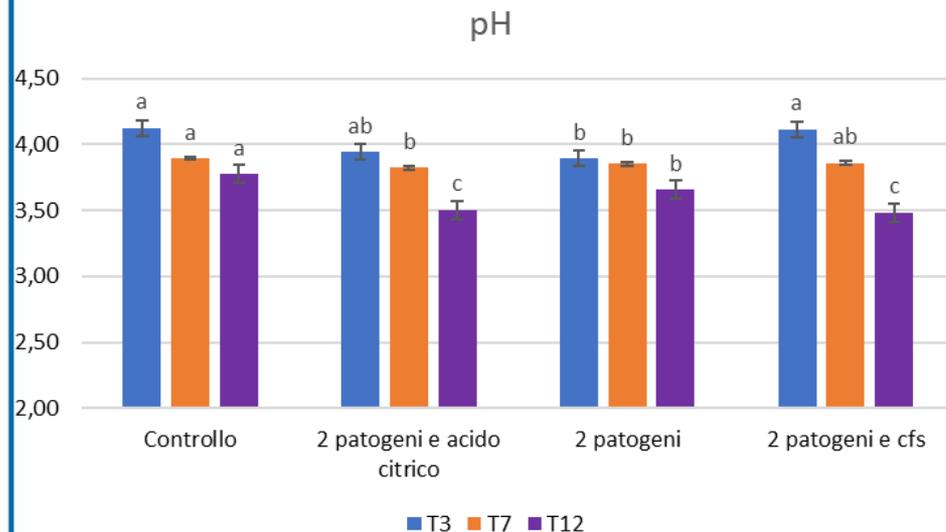
B



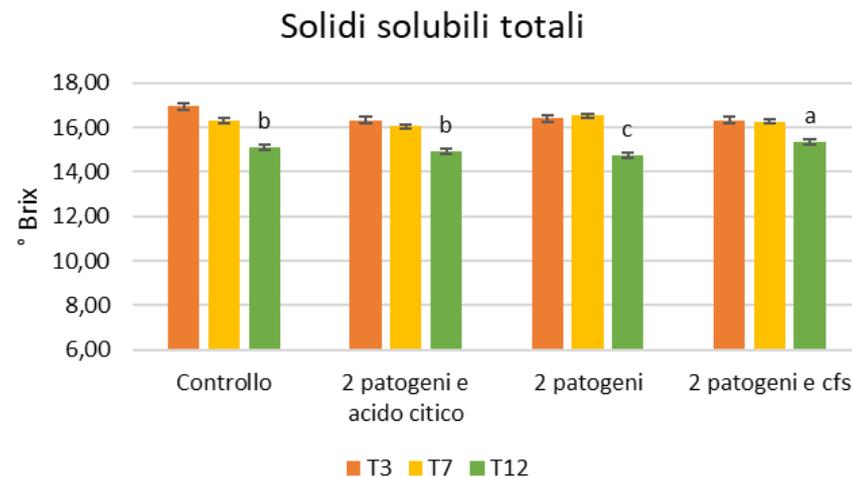
A) La perdita di peso (%) nei campioni di arilli di melograno ha mostrato risultati diversi durante la conservazione a condizioni di refrigerazione.

B) Conta di *L. monocytogenes* ed *E. coli* in campioni di arilli di melograno trattati in modo diverso durante la conservazione in condizioni di refrigerazione.

PH e SOLIDI SOLUBILI TOTALI



Different letters indicate statistical differences among the columns of the same sample (Significance at $p \leq 0.05$).

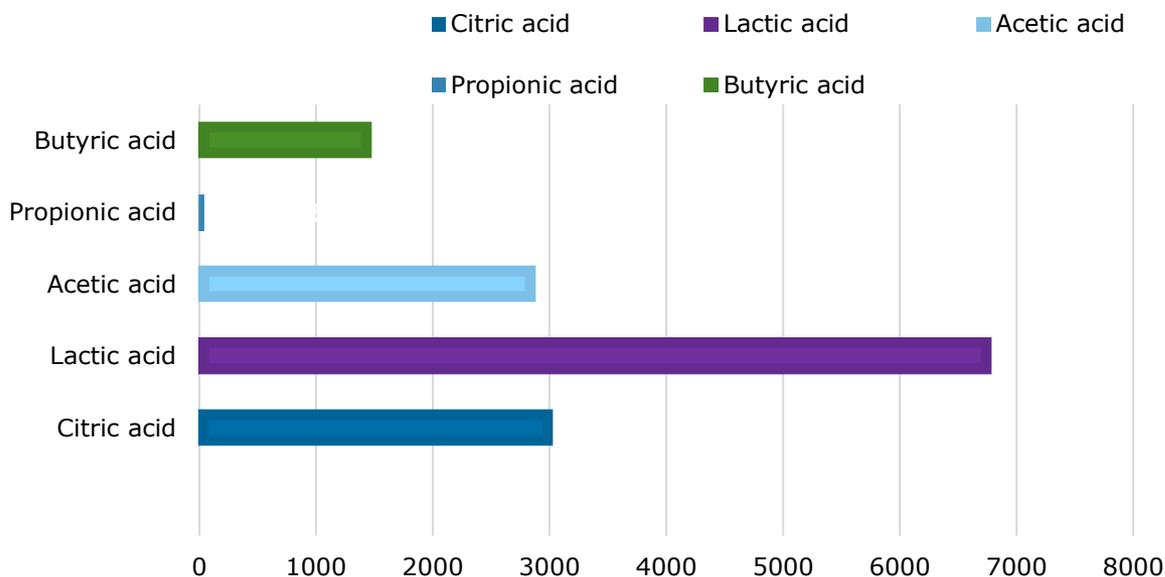


Per quanto riguarda il pH, i valori di tutti i campioni analizzati sono diminuiti durante la conservazione, mentre non è stata osservata alcuna differenza significativa per il valore di TSS fino al settimo giorno di conservazione. Infatti, al dodicesimo giorno di conservazione, i valori di TSS sono diminuiti, raggiungendo i valori più bassi nei campioni inoculati con i patogeni (14,7 °Brix).

CARATTERIZZAZIONE ACIDI ORGANICI



CFS



Concentrandosi sul CFS, i risultati delle analisi strumentali hanno mostrato la presenza di acido lattico (6788,38 mg/L), citrico (3023,48 mg/L), acetico (2878,54 mg/L), butirrico (1476,23 mg/L) e propionico (31,63 mg/L).

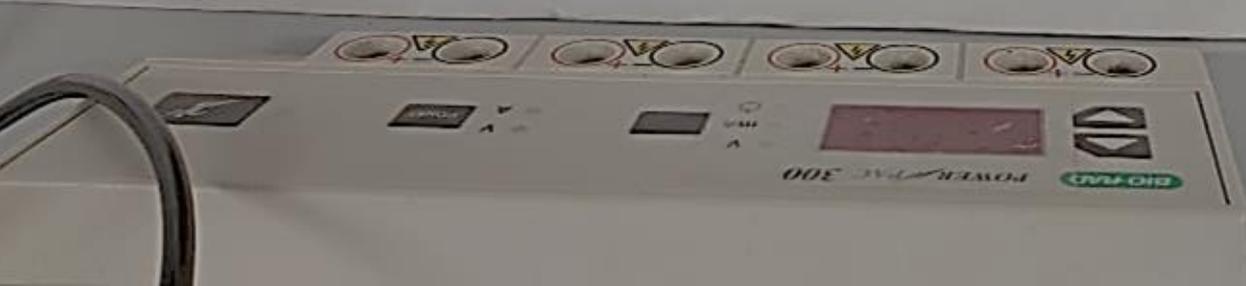
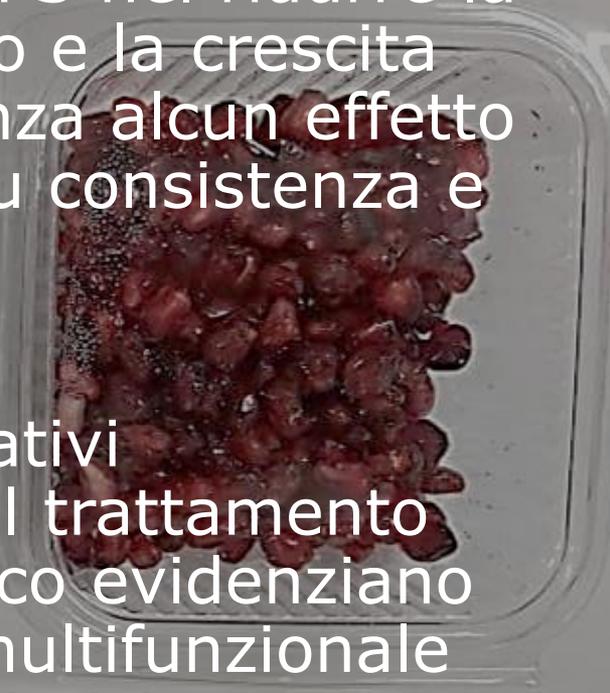
CARATTERIZZAZIONE ACIDI ORGANICI

Sample	Time (days)	ACIDO CITRICO (mg/L)	ACIDO LATTICO (mg/L)	ACIDO ACETICO (mg/L)	ACIDO PROPIONICO (mg/L)
Controllo	T3	2458.12±25.32 a	2155.86±169.16 a	0.00±0.00 b	453.05±7.77 n.s.
Patogeni + acido citrico	T3	2374.97±0.01 ab	1405.00±33.05 b	0.00±0.00 b	452.76±0.89 n.s.
Patogeni	T3	2311.49±41.66 b	2305.90±33.12 a	228.63±20.64 a	420.83±23.67 n.s.
Patogeni+ CFS	T3	2425.13±24.64 a	1625.35±92.74 ab	0.00±0.00 b	372.00±3.00 n.s.
Controllo	T7	2317.06±6.46 n.s.	1575.06±75.89 n.s.	175.50±32.10 n.s.	434.90±8.29 a
Patogeni + acido citrico	T7	2307.32±4.66 n.s.	1541.71±176.52 n.s.	183.24±8.06 n.s.	341.11±9.00 c
Patogeni	T7	2314.23±18.37 n.s.	1767.40±105.99 n.s.	204.33±20.23 n.s.	413.45±30.75 ab
Patogeni + CFS	T7	2386.38±14.7 n.s.	1430.47±203.20 n.s.	159.13±5.02 n.s.	380.83±8.52 bc
Controllo	T12	2317.39±13.45 a	1327.94±201.57 a	568.72±59.13 b	434.33±5.51 n.s.
Patogeni + acido citrico	T12	2288.66±15.54 ab	895.26±43.98 b	1072.07±29.41 a	407.34±16.70 n.s.
Patogeni	T12	2248.04±12.16 b	916.13±23.14 b	601.48±72.15 b	368.14±26.11 n.s.
Patogeni + CFS	T12	2287.71±6.57 ab	1165.06±41.77 a	1179.62±8.21 a	425.32±20.91 n.s.

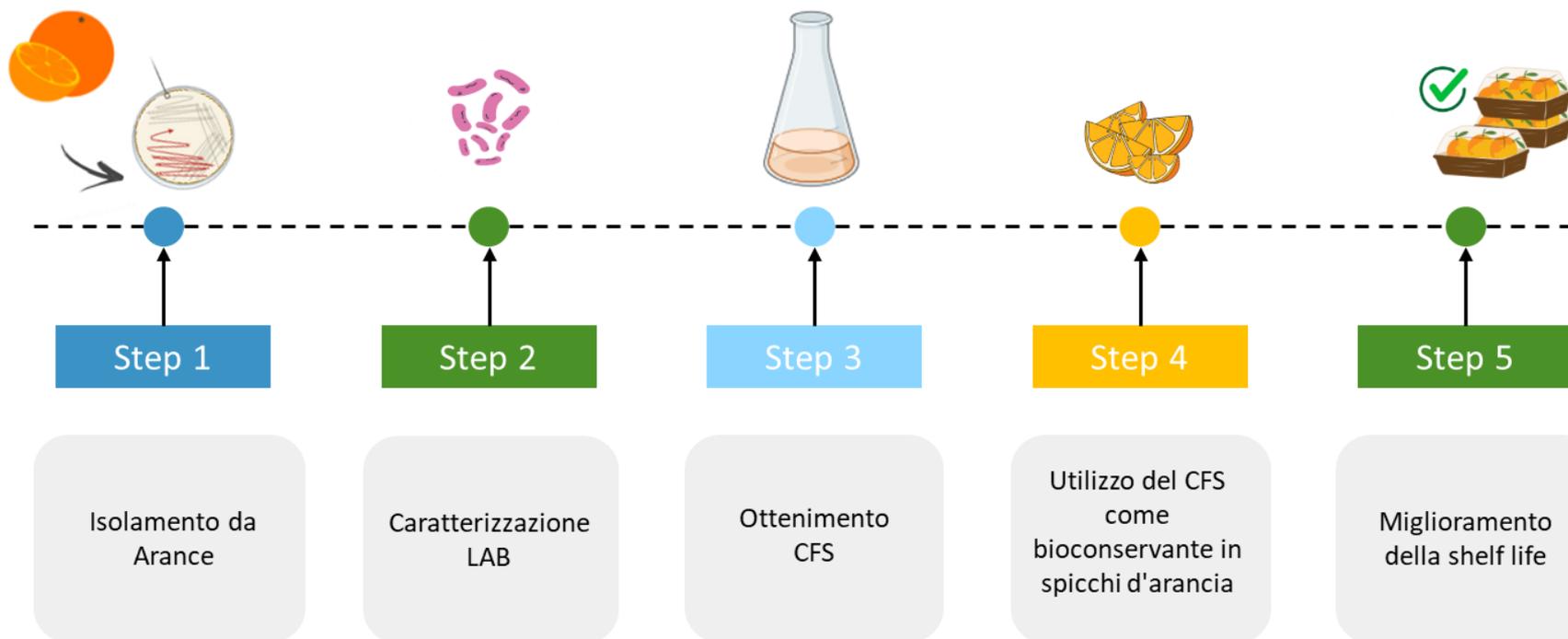
Per quanto riguarda il contenuto di acidi, il tempo di conservazione ha mostrato un effetto significativo sugli acidi **citrnico** e **lattico** per tutti i trattamenti, diminuendo significativamente in tutti i campioni principalmente al dodicesimo giorno di conservazione. Al contrario, non è stata rilevata alcuna differenza significativa per il contenuto di acido propionico. La presenza di acido **acetico** è aumentata in tutti i campioni al settimo giorno di conservazione.

I risultati hanno rivelato efficacia del CFS nel ridurre la perdita di peso e la crescita microbica, senza alcun effetto significativo su consistenza e colore.

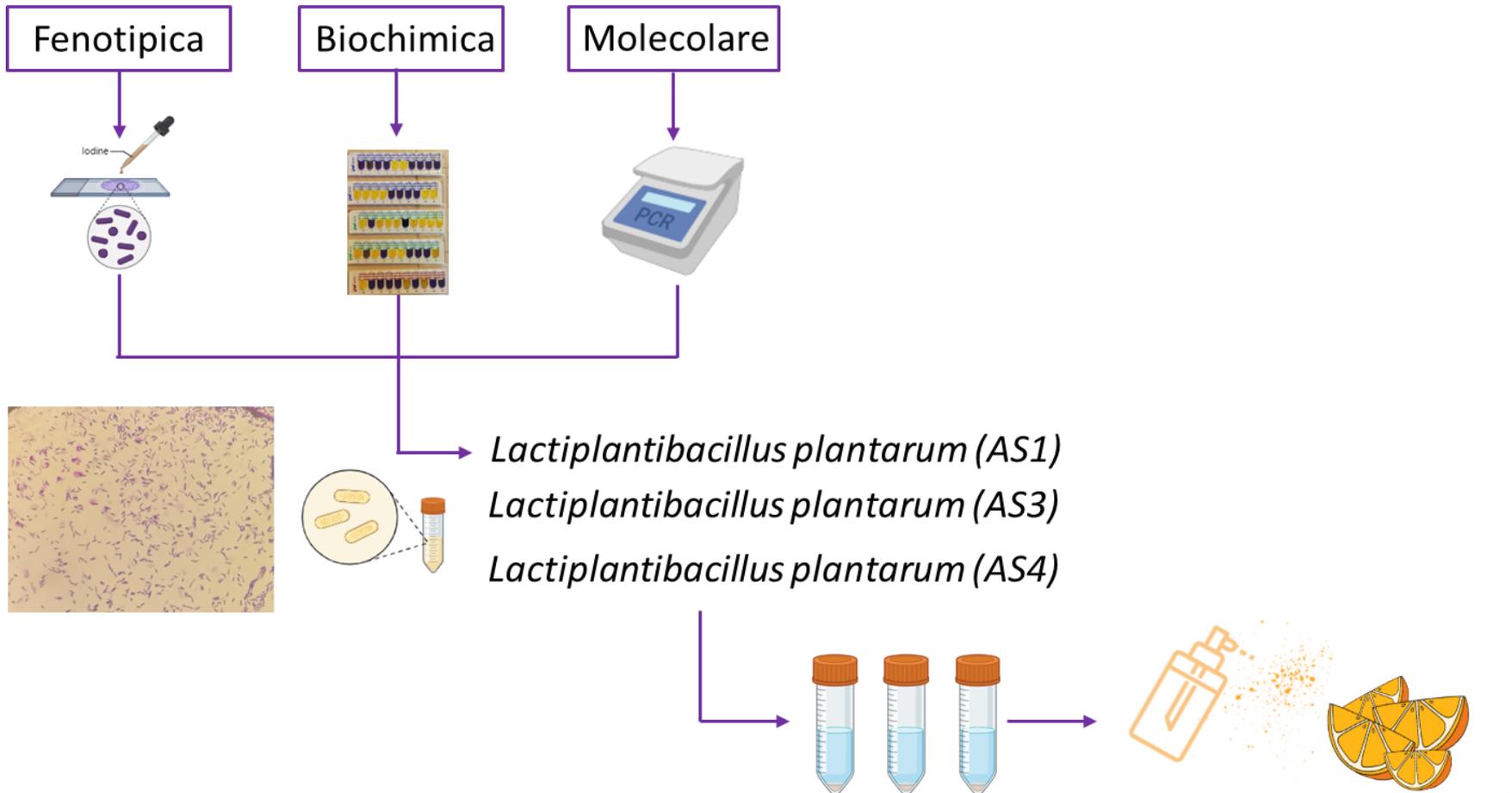
Effetti significativi paragonabili al trattamento con acido citrico evidenziano il potenziale multifunzionale dei ceppi probiotici selezionati.



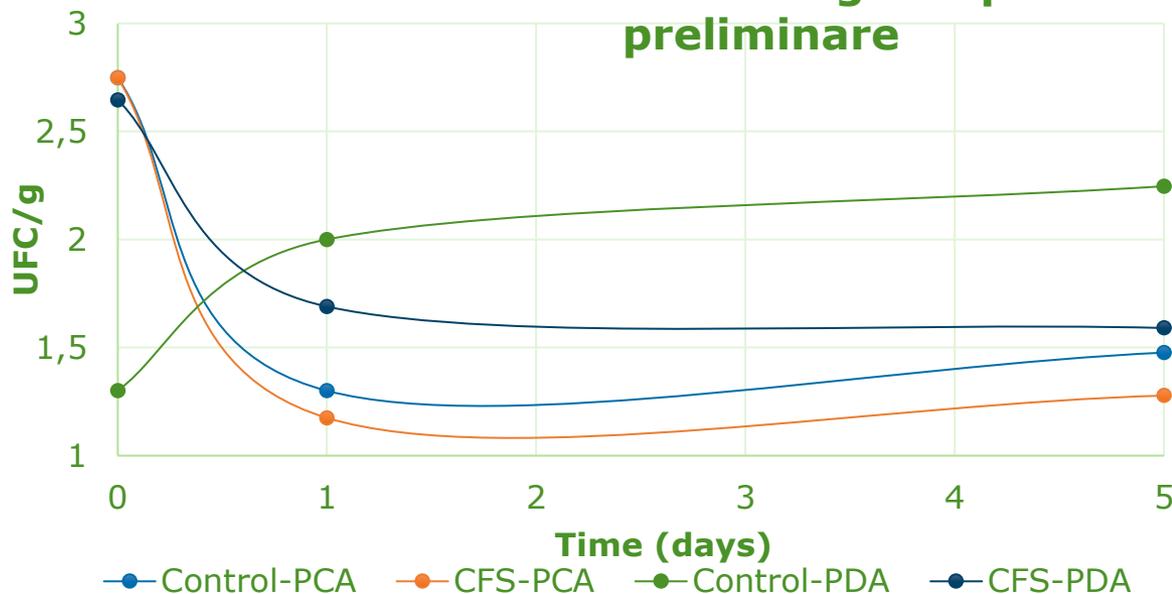
Attività funzionale di batteri lattici ed effetto antimicrobico in fette di arancia bionda



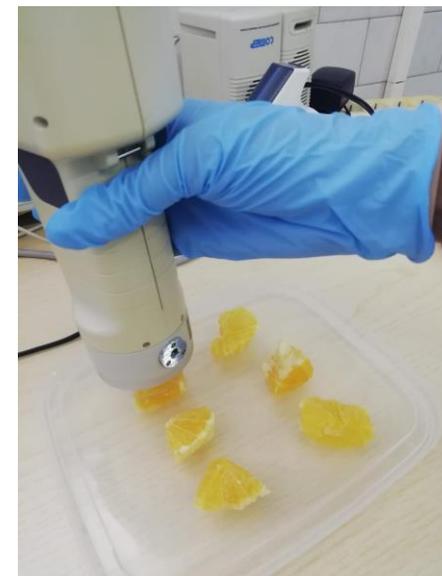
ISOLAMENTO E CARATTERIZZAZIONE LAB



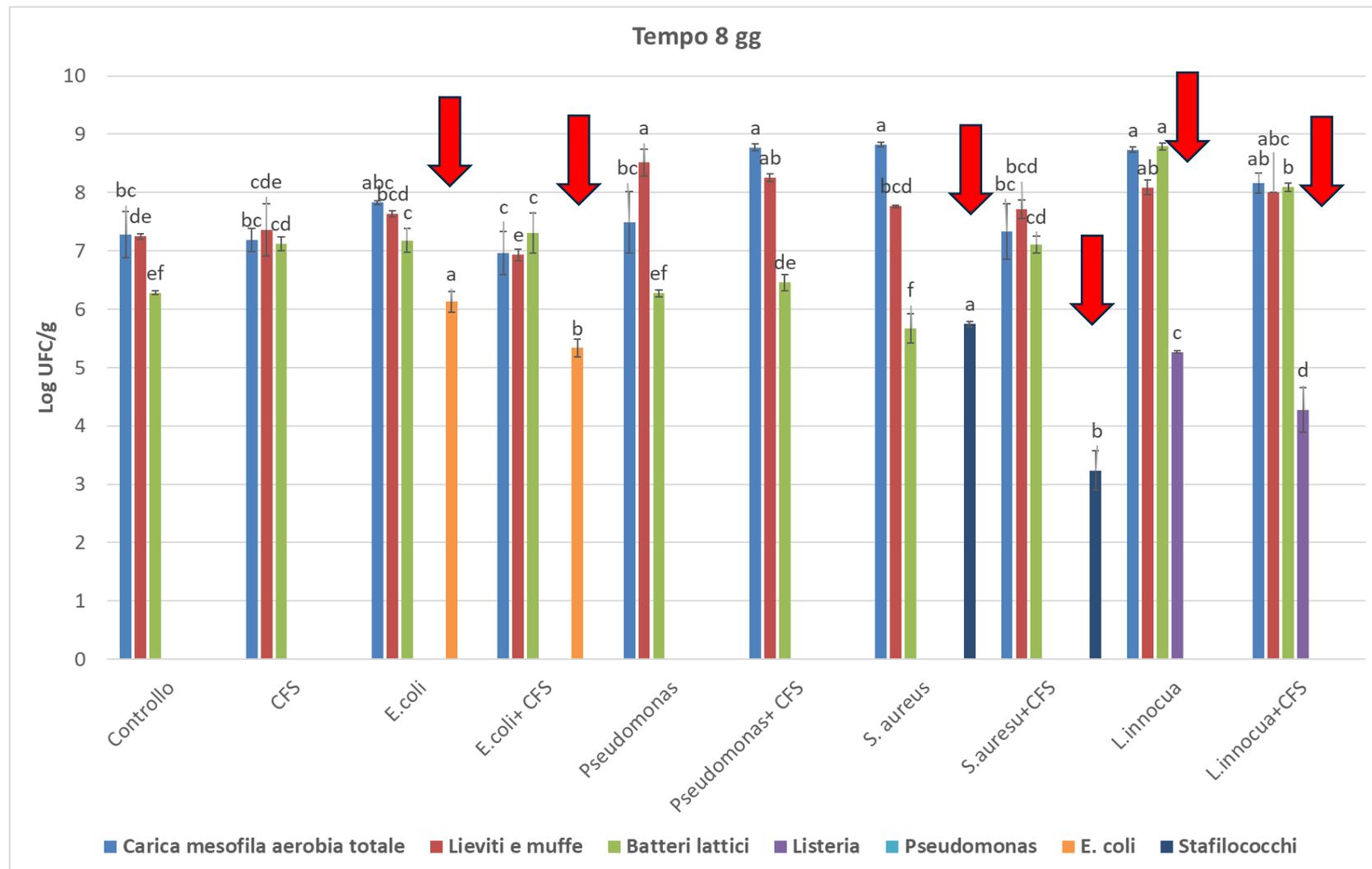
Analisi microbiologiche prova preliminare



Il CFS ha mostrato un decremento della carica mesofila aerobia totale e di lieviti e muffe rispetto al campione controllo fino a 5 giorni di frigoconservazione. Nessuna differenza è stata riscontrata per la consistenza ed il colore.



ANALISI MICROBIOLOGICHE SULLE FETTE DI ARANCIA

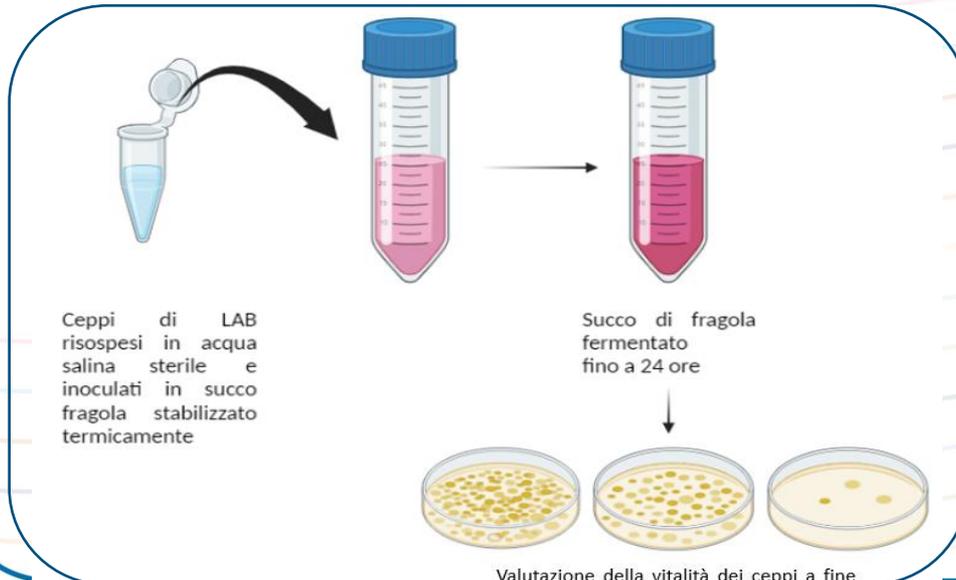
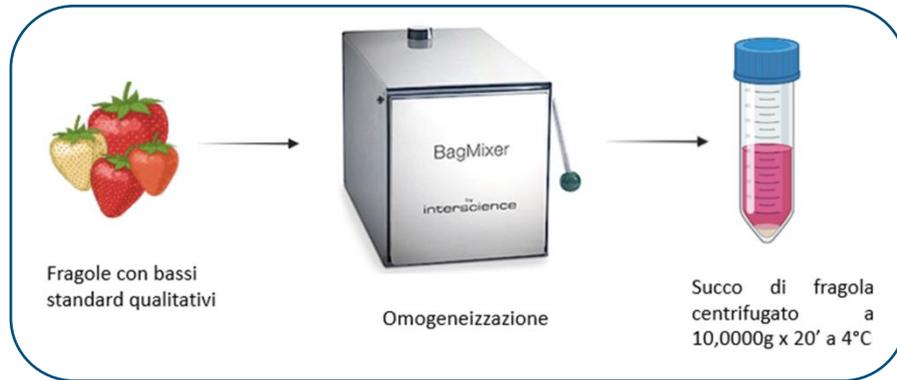


I risultati hanno evidenziato l'efficacia del CFS ottenuto dal mix dei tre LAB nel ridurre la crescita microbica senza mostrare alcun effetto significativo su consistenza e colore fino a 5 giorni di frigoservazione.

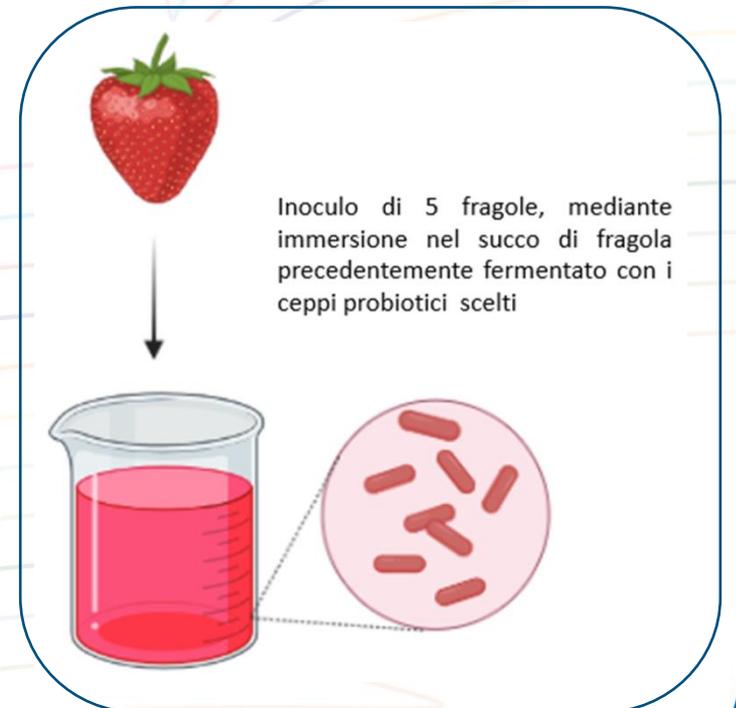
Ulteriori prove sono in corso per la valutazione del CFS su spicchi e fette di arancia di IV gamma.

Utilizzo di Scarti di Lavorazione come Substrato Innovativo per la Crescita ed il Trasferimento su Fragole di Probiotici della Specie *Lactiplantibacillus plantarum*

- Deliverable 8.1 – Produzione di probiotici a partire da scarti vegetali



- Deliverable 7.3 e 7.4



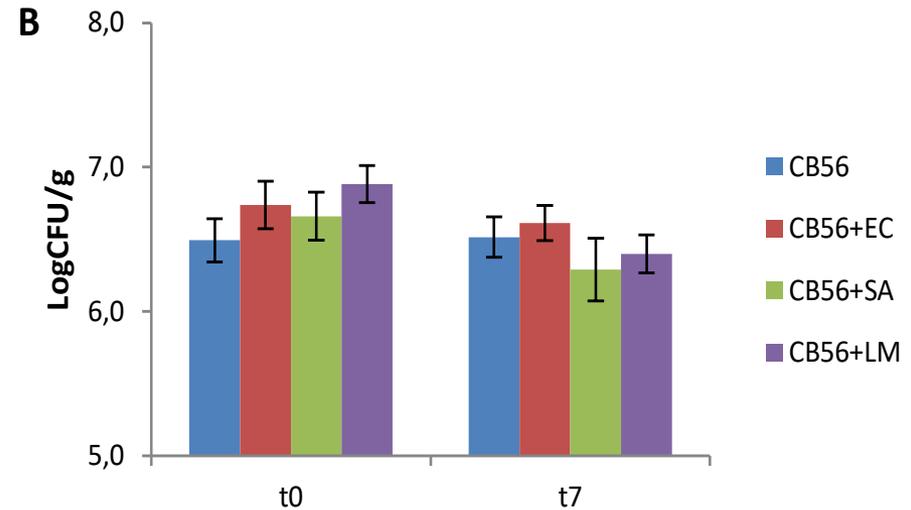
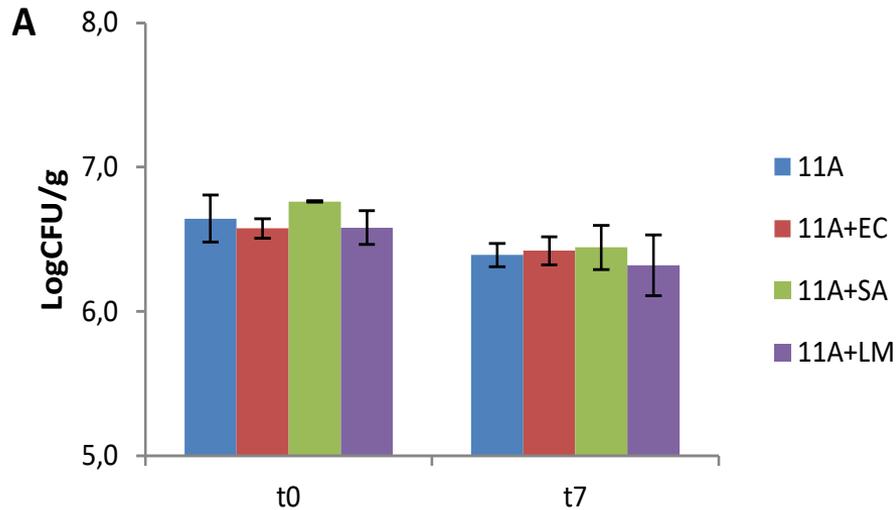
Deliverable 7.4 – ottenimento di frutta di IV gamma probiotica

Tabella 1. Vitalità dei ceppi di *L. plantarum* utilizzati in questo studio, dopo 24 ore di crescita a 30°C in succo di fragola a pH 6.0 diluito a diverse concentrazioni e valori di pH a fine fermentazione.

	100%		75%		50%		25%	
	LogCFU/mL	pH	LogCFU/mL	pH	LogCFU/mL	pH	LogCFU/mL	pH
<i>L. plantarum</i> 11A	8,94 ± 0,02	4,80	8,62 ± 0,05	4,83	7,85 ± 0,03	4,89	7,01 ± 0,04	5,03
<i>L. plantarum</i> CB56	9,18 ± 0,20	4,78	8,68 ± 0,04	4,80	7,89 ± 0,02	4,77	7,16 ± 0,17	4,95

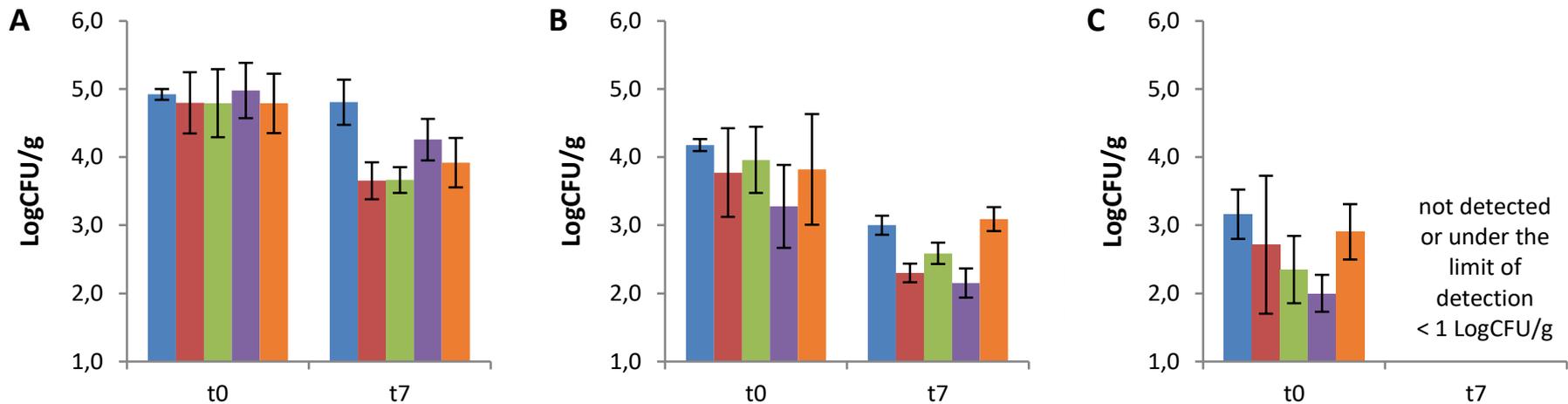
Tabella 2. Vitalità dei ceppi di *L. plantarum* al momento dell'inoculo, dopo 24 ore di crescita a 30°C in succo di fragola 100% a pH 6.0, e sulla superficie di fragole dopo trattamento di immersione.

	LogCFU/mL (inoculo)	LogCFU/mL (24-h fermentazione)	LogCFU/g (Fragola dopo immersione)
<i>L. plantarum</i> 11A	6,29 ± 0,16	9,38 ± 0,03	7,29 ± 0,08
<i>L. plantarum</i> CB56	6,44 ± 0,07	9,36 ± 0,05	7,46 ± 0,04

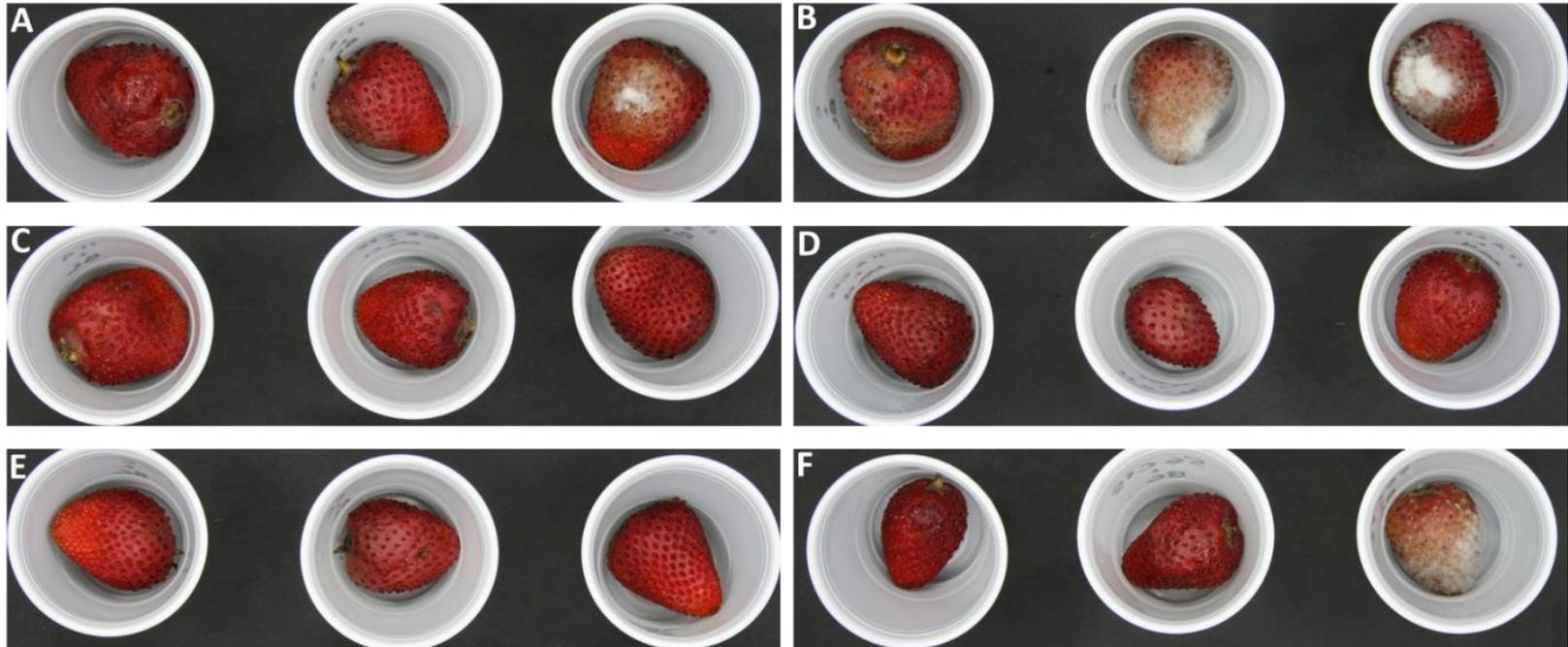


Vitalità di *Lactiplantibacillus plantarum* 11A (A) e CB56 (B) su fragole inoculate artificialmente con il solo ceppo LAB (blu) o con ceppi LAB con *Escherichia coli* O157:H7 (EC - rosso), *Staphylococcus aureus* (SA - verde) e *Listeria monocytogenes* (LM - viola). La vitalità è stata monitorata dopo 7 giorni di conservazione a 4°C in atmosfera passiva modificata. Sono indicati i valori medi e le deviazioni standard di tre repliche.

Deliverable 7.3 – LAB con attività protettiva su frutta di IV gamma



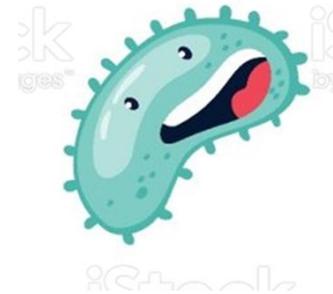
Vitalità di *Escherichia coli* O157:H7 (A), *Listeria monocytogenes* (B) e *Staphylococcus aureus* (C) su fragole inoculate artificialmente con i soli ceppi patogeni (blu), con *L. plantarum* 11A (rosso) e CB56 (verde) o con il rispettivo fermentato privo di cellule (11A - viola e CB56 - arancione). La vitalità è stata monitorata dopo 7 giorni di conservazione a 4°C in atmosfera passiva modificata. Sono indicati i valori medi e le deviazioni standard di tre repliche.



Fragole non contaminate artificialmente (A), o contaminate artificialmente con *B. cinerea* (B) e immerse in succo di fragola fermentato con *L. plantarum* 11A (C) o *L. plantarum* CB56 (E) o immerse in succo di fragola sterilizzato per filtrazione dopo essere stato fermentato con *L. plantarum* 11A (D) o *L. plantarum* CB56 (F).

CONCLUSIONI

- Il processo di selezione, caratterizzazione e identificazione di batteri lattici da matrici vegetali continuerà, visti i risultati fin qui ottenuti
- Sia le cellule dei batteri lattici che il loro CFS hanno dimostrato attività di biocontrollo, in relazione al patogeno testato
- I risultati confermano il grande potenziale dei batteri lattici come agenti di biocontrollo in alternativa a molecole di sintesi



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Contatto: floravaleria.romeo@crea.gov.it

**Centro di Ricerca
Olivicoltura, Frutticoltura e
Agrumicoltura (CREA-OFA)
Acireale (CT), Italy**



**Si ringrazia per la
collaborazione alle
attività:**

**Dott.ssa Gloria Sciuto
Dott.ssa Paola Foti
Dott. Nicola De Simone**

