

RELAZIONE

BISCOTTO BIOLOGICO

RICOPERTO DI CIOCCOLATO

**Studio per la realizzazione di biscotti ricoperti di
cioccolato dell'Antica Forneria Prezioso
con aggiunta di probiotici Synbiotec**

Camerino, li 12 febbraio 2009

Indice

Obiettivo dello studio	Pag. 3
Protocollo operativo	Pag. 4
Campioni	Pag. 4
Analisi del cioccolato di copertura dei biscotti	Pag. 5
Test di conservazione	Pag. 5
Test aggiuntivi	Pag. 5
Panel d'assaggio	Pag. 5
Analisi dei risultati	Pag. 6
Analisi sensoriale	Pag. 8
<i>Risultati analisi sensoriale</i>	Pag. 9

Obiettivo dello studio

L'obiettivo è stato quello di verificare la compatibilità di una miscela di due ceppi probiotici, brevettati dalla Synbiotec s.r.l. (brev. N. RM2004A000166 e PCT-WO 2005/095656A1), *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501TM (RHM) e *Lactobacillus paracasei* IMC 502TM (PRC) con un campione di biscotti biologici ricoperti di cioccolato, sia in termini di vitalità dei ceppi stessi che di eventuali alterazioni nel tempo, dei parametri chimico-fisici ed organolettici. I parametri presi in considerazione ai fini della prova sono stati:

1. la vitalità dei due ceppi e il mantenimento di una concentrazione degli stessi non inferiore a 10^6 UFC/g di cioccolato di copertura, durante tutto il tempo di conservazione del prodotto a temperatura ambiente (15-23 °C)
2. la variazione di pH
3. parametri organolettici

Protocollo operativo

Campioni

I campioni di biscotti, pervenuti nel nostro laboratorio in data 4 luglio 2008, forniti dalla pasticceria “**Antica Forneria Prezioso**” sono stati:

- 1- **Biscotti con farina di farro ricoperti di cioccolato con aggiunta di *L. rhamnosus* IMC 501TM e *L. paracasei* IMC 502TM** in miscela (1:1) alla concentrazione di 4g/Kg di cioccolato di copertura
- 2- **Biscotti con farina di farro ricoperti di cioccolato** senza aggiunta di probiotici come campione controllo.
- 3- **Biscotti con farina di Kamut ricoperti di cioccolato con aggiunta di *L. rhamnosus* IMC 501TM e *L. paracasei* IMC 502TM** in miscela (1:1) alla concentrazione di 4g/Kg di cioccolato di copertura
- 4- **Biscotti con farina di Kamut ricoperti di cioccolato** senza aggiunta di probiotici come campione controllo.

Analisi del cioccolato di copertura dei biscotti

1. PRELEVAMENTO DEL CIOCCOLATO DAL BISCOTTO
2. OMOGENIZZAZIONE
3. MISURA del pH dei campioni in esame
4. DILUIZIONI SERIALI 1:10 fino alla diluizione 10^{-10} .
5. SEMINA su terreno colturale MRS agar + Vancomicina dalla diluizione 10^{-1} alla 10^{-10}
6. INCUBAZIONE in termostato a 37°C per 48-72 h.
7. CONTA delle Unità Formanti Colonie (UFC/g di cioccolato di copertura)
8. VERIFICA della presenza dei ceppi batterici probiotici
9. REGISTRAZIONE dei dati raccolti ed analisi dei risultati

Test di conservazione

1. CONSERVAZIONE dei campioni di biscotto con e senza probiotici a temperatura ambiente (15 -23°C)
- 2 RIPETIZIONE della procedura di analisi (1-9) sui campioni in esame a tempi diversi di conservazione dalla data di produzione

Test aggiuntivi

1. OSSERVAZIONE AL MICROSCOPIO dei batteri, prelevati da una o più colonie isolate
2. ANALISI MOLECOLARE sul prodotto in esame per l'individuazione dei probiotici aggiunti (*Lactobacillus rhamnosus* IMC 501TM e *Lactobacillus paracasei* IMC 502TM)

Panel d'assaggio

Analisi sensoriale dei biscotti ricoperti di cioccolato

L'analisi sensoriale è stata effettuata sulle diverse tipologie di biscotti ricoperti di cioccolato della pasticceria “**Antica Forneria Prezioso**” con aggiunta di batteri probiotici (*Lactobacillus rhamnosus* IMC 501TM e *Lactobacillus paracasei* IMC 502TM) della ditta Synbiotec s.r.l.

L'assaggio dei biscotti ricoperti di cioccolato con probiotici e di quelli di controllo, per la valutazione dei parametri organolettici è stato effettuato in tempi diversi da un panel di assaggiatori.

Analisi dei risultati

Come riportato in Tab.1 e mostrato in Fig. 1 i valori di pH dei campioni di cioccolato di copertura dei biscotti in esame risultano di $6,33 \pm 0,2$ per i campioni di controllo e di $6,22 \pm 0,1$ per quelli con aggiunta di probiotici. Tali valori rimangono pressoché costanti anche a 215 giorni di conservazione a temperatura ambiente.

La carica micrbiica dei batteri probiotici *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501TM e *Lactobacillus paracasei* IMC 502TM Synbiotec nei campioni di **cioccolato di copertura dei biscotti trattati**, (Tab. 2 e Fig. 2), rimane pressoché costante con valori intorno a 10^{11} UFC/ g di cioccolato fino al 215° giorno di conservazione.

Tabella 1. Valori di pH del cioccolato di copertura.

Campioni	Giorno di produzione	60 giorni	215 giorni
Cioccolato di copertura dei biscotti di controllo	$6,33 \pm 0,2$	$6,30 \pm 0,1$	$6,31 \pm 0,2$
Cioccolato di copertura dei biscotti + <i>L. rhamnosus</i> IMC 501 TM e <i>L. paracasei</i> IMC 502 TM (4g/Kg)	$6,22 \pm 0,1$	$6,29 \pm 0,1$	$6,25 \pm 0,2$

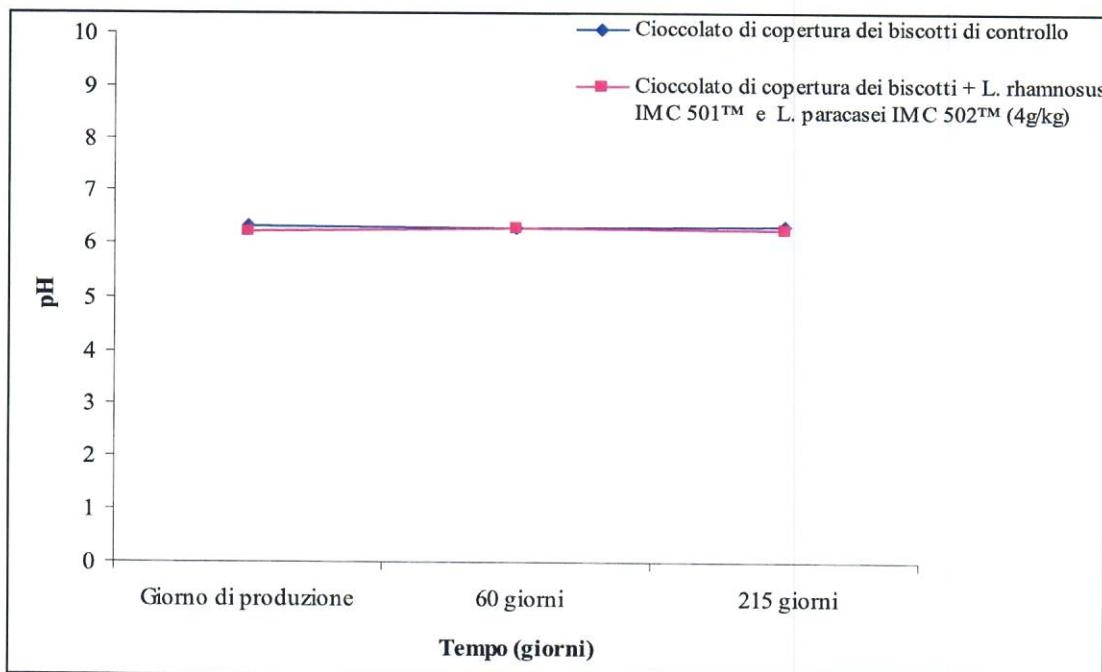


Figura 1. Andamento dei valori di pH del cioccolato di copertura nel tempo.

Tabella 2. Presenza nel tempo dei ceppi probiotici (*L. rhamnosus* IMC 501TM e *L. paracasei* IMC 502TM), nei campioni trattati e di controllo, espressa come UFC/g* di cioccolato di copertura.

Campioni	Giorno di produzione	60 giorni	215 giorni
Cioccolato di copertura dei biscotti di controllo	0	0	0
Cioccolato di copertura dei biscotti + <i>L. rhamnosus</i> IMC 501 TM e <i>L. paracasei</i> IMC 502 TM (4g/Kg)	$3,9 \times 10^{11} \pm 1,2 \times 10^{11}$	$3,5 \times 10^{11} \pm 1,1 \times 10^{11}$	$2,2 \times 10^{11} \pm 1,1 \times 10^{11}$

* i valori sono riferiti alle medie ± deviazione standard di due determinazioni di conta batterica su piastra.

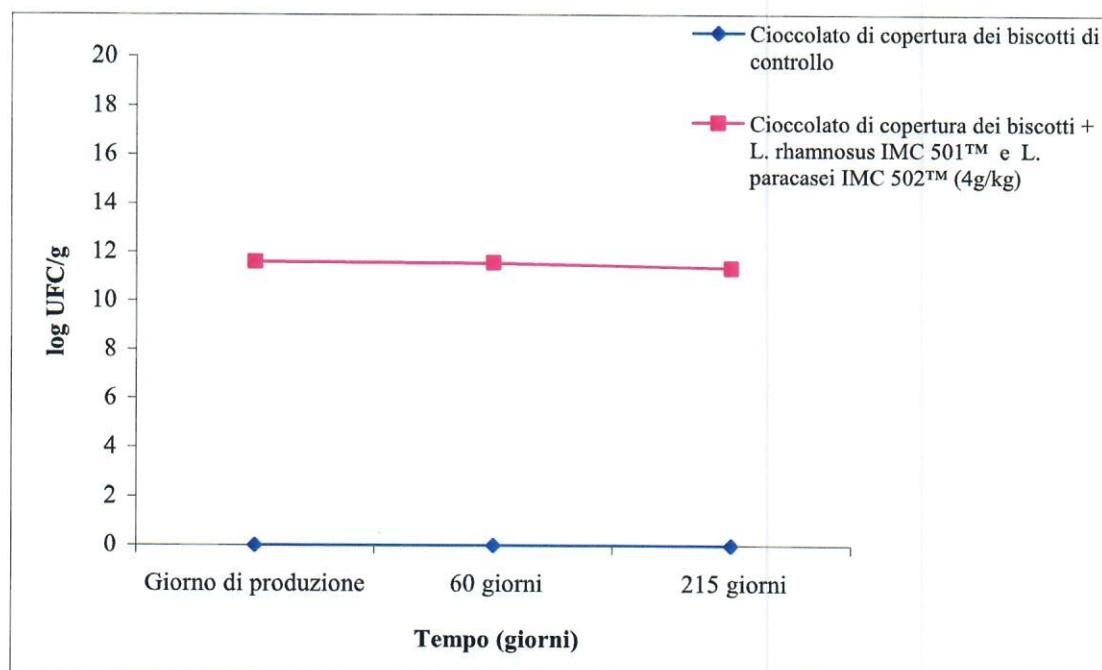


Figura 2. Andamento dei valori delle UFC (espressi in log UFC) di batteri probiotici Synbiotec per grammo di cioccolato di copertura nei campioni trattati e di controllo.

Analisi sensoriale

L'analisi sensoriale è stata eseguita sui campioni delle diverse tipologie di biscotti (con farina di kamut e di farro) ricoperti con cioccolato ai probiotici e su quelli senza (controllo) per la valutazione dei parametri organolettici, durante i giorni dell'esperimento.

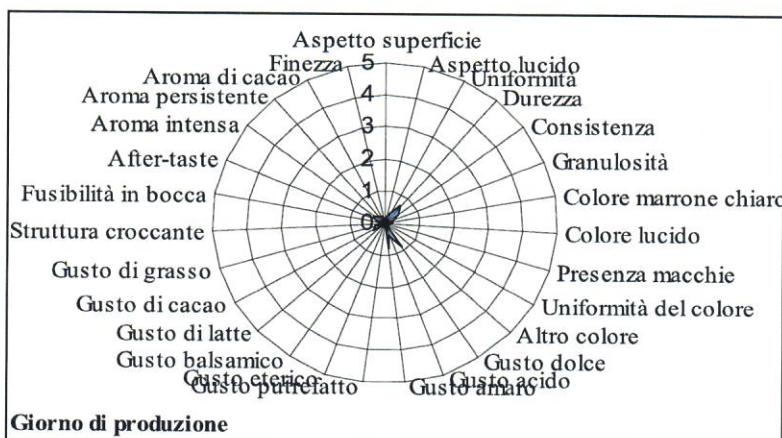
Soggetti per il test

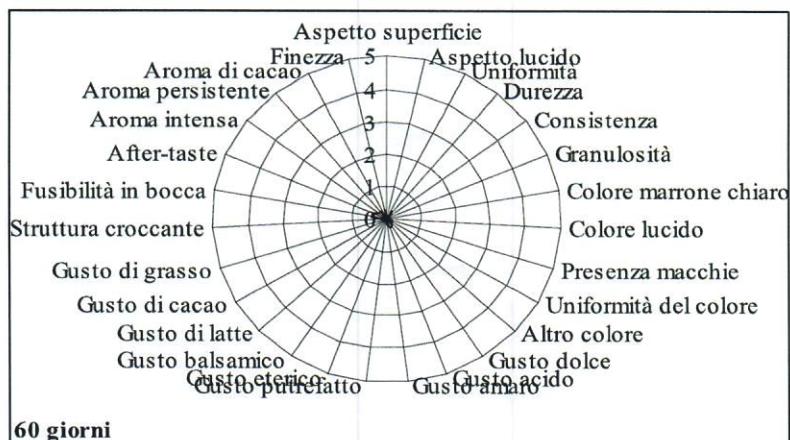
Il test è stato effettuato da un panel di 10 assaggiatori sui campioni in esame, conservati a temperatura ambiente, fino al 215° giorno dalla produzione.

Il panel è formato da assaggiatori che hanno ricevuto un precedente addestramento nell'uso di scale strutturate. Il numero di assaggiatori minimo per ottenere una risposta valida è in funzione dello specifico prodotto analizzato e del livello di attendibilità raggiunto dal panel. Ogni prova permette la valutazione dell'attendibilità della medesima, mediante l'inserimento di una replica cieca fra i campioni posti in analisi. Mediante questo sistema di controllo il numero degli assaggiatori da utilizzare e il numero delle risposte ottenibili è verificabile di volta in volta in funzione delle problematiche operative contingenti.

Risultati analisi sensoriale

Nella Figura 3 di seguito riportata sono rappresentate le caratteristiche sensoriali del biscotto ricoperto di cioccolato trattato con i probiotici (considerando esclusivamente i differenti parametri organolettici del cioccolato), confrontato con i campioni di controllo, espresse come medie dei punteggi ottenuti per il prodotto testato e per ciascun descrittore. L'assaggio è stato effettuato il giorno di produzione e dopo 215 giorni dalla data di produzione.





60 giorni

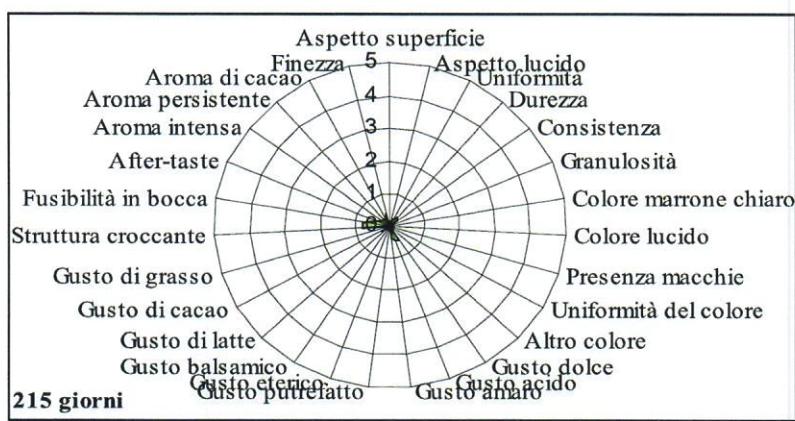


Figura 3. Profilo sensoriale del cioccolato di copertura con probiotici, dei biscotti con farina di farro e di kamut, sottoposto all'assaggio il giorno di produzione e dopo 215 giorni.

Le prove sensoriali effettuate nel corso della sperimentazione hanno permesso di definire con precisione gli effetti dei batteri probiotici aggiunti, sulle caratteristiche organolettiche nelle diverse tipologie di campioni di biscotti ricoperti di cioccolato con probiotici. Il trattamento con i ceppi batterici probiotici *L. rhamnosus* IMC 501TM e *L. paracasei* IMC 502TM non ha modificato nel tempo le caratteristiche sensoriali del cioccolato di copertura dei biscotti in esame. Gli assaggiatori hanno avuto un'ottima impressione dopo la degustazione dei biscotti ricoperti con il cioccolato trattato con i batteri probiotici.