

# **CURRICULUM DELL'ATTIVITÀ SCIENTIFICA E PROFESSIONALE**

**Prof. Carlo Giuseppe Rizzello**

## Dati anagrafici

**Nome:** Carlo Giuseppe

**Cognome:** Rizzello

## Sommario

1. STUDI COMPIUTI.....	3
2. ATTIVITÀ DIDATTICA .....	4
2.1 Insegnamenti e Commissioni d'esame.....	4
2.1.1 Insegnamenti nell'ambito di Corsi di Laurea.....	4
2.1.2 Insegnamenti nell'ambito di altri corsi universitari .....	4
2.1.3 Svolgimento di seminari, cicli di lezioni ed esercitazioni .....	5
2.2 Attività di Relatore (tutor ufficiale) e collaborazione alla stesura delle tesi di laurea, dottorato e master .....	6
2.2.1 Attività di Relatore (tutor ufficiale) .....	6
2.2.2 Collaborazione alla stesura delle tesi di laurea, dottorato e master .....	9
2.3 Incarichi istituzionali.....	10
3. ATTIVITÀ SCIENTIFICA.....	11
3.1 Convegni e congressi nazionali ed internazionali.....	11
3.1.1 Relazioni .....	11
3.1.2 Altre partecipazioni.....	13
3.2 Progetti di ricerca .....	13
3.2.1 Progetti finanziati da industrie .....	13
3.2.2 Progetti con finanziamenti pubblici (Europei, Nazionali, Regionali).....	16
3.2.3 Progetti di Ricerca di Ateneo (Università degli Studi di Bari) .....	17
3.3. Attività di revisore per riviste a diffusione internazionale .....	17
3.4. Temi di ricerca affrontati .....	17
3.5 Pubblicazioni scientifiche .....	28
3.5.1 Pubblicazioni su riviste internazionali .....	29
3.5.2 Contributo in volume (Capitolo o Saggio).....	36
3.5.3 Pubblicazioni su riviste nazionali .....	38
3.5.4 Brevetti.....	38
3.5.5 Pubblicazioni su atti di convegni e congressi nazionali ed internazionali.....	39
3.6 Creazione nuove imprese e prodotti commercializzati .....	45

## 1. STUDI COMPIUTI

- Ha conseguito la **maturità agraria e la specializzazione in Enologia e Viticoltura** (6° anno) presso l'Istituto Tecnico Agrario di Locorotondo (Bari), con votazione 60/60 (anno scolastico 1996-97).
- Ha ottenuto la borsa di studio per la frequenza del **corso post-diploma di specializzazione "Tecniche di produzione di materiale vegetale certificato"** presso l'Istituto Tecnico Agrario di Locorotondo, nel 1997.
- Ha conseguito la **laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie** con votazione 110 e lode/110 presso la Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Bari, discutendo la tesi dal titolo "Produzione di peptidi bioattivi da idrolizzati di Na-caseinato mediante proteinasi di *Lactobacillus helveticus*" (anno accademico 2001-02), ricevendo il riconoscimento come studente più meritevole dell'anno accademico 2001-02. (ALLEGATO 1)
- Ha conseguito il titolo di **Dottore di Ricerca in Microbiologia, Sanità e Chimica degli Alimenti** (XVIII ciclo) presso il Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata dell'Università degli Studi di Bari, sviluppando l'argomento "Proteine e peptidi fisiologicamente attivi", nel 2006. (ALLEGATO 2)
- È stato **Assegnista di ricerca** presso il Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata dell'Università degli Studi di Bari, da maggio 2006 a dicembre 2008. (ALLEGATO 3)
- È stato **ricercatore** presso il Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti dell'Università degli Studi di Bari (settore scientifico-disciplinare AGR 16) dal 2 gennaio 2009 al 30 ottobre 2015 (ALLEGATO 4)
- E' **professore Associato** presso il Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti dell'Università degli Studi di Bari (settore scientifico-disciplinare AGR 16) dal 31 Ottobre 2015. (ALLEGATO 5)

## 2. ATTIVITÀ DIDATTICA

### 2.1 Insegnamenti e Commissioni d'esame

Ha tenuto, in qualità di **docente ufficiale**, i seguenti insegnamenti, facendo parte delle relative commissioni di valutazione d'esame.

#### 2.1.1 Insegnamenti nell'ambito di Corsi di Laurea (ALLEGATO 6)

- 2008-2009 “Microbiologia applicata alle produzioni forestali” (3 cfu) nell'ambito del corso di laurea “Gestione Dell'ambiente e del Territorio Forestale” dell'Università degli Studi di Bari
  - 2009-2010: “Biologia dei Microrganismi” (3 cfu) e “Microbiologia Agraria” (3 cfu) nell'ambito del corso di laurea “Scienze e Tecnologie Agrarie” dell'Università degli Studi di Bari
  - 2010-2011: “Biologia dei Microrganismi” (3 cfu) e “Microbiologia Agraria” (3 cfu) nell'ambito del corso di laurea “Scienze e Tecnologie Agrarie” dell'Università degli Studi di Bari
  - 2011-2012: “Biologia dei Microrganismi” (3 cfu) e “Microbiologia Agraria” (3 cfu) nell'ambito del corso di laurea “Scienze e Tecnologie Agrarie” dell'Università degli Studi di Bari
  - 2012-2013: “Biologia dei Microrganismi” (3 cfu) e “Microbiologia Agraria” (3 cfu) nell'ambito del corso di laurea “Scienze e Tecnologie Agrarie” dell'Università degli Studi di Bari
  - 2013-2014: “Biologia dei Microrganismi” (3 cfu) e “Microbiologia Agraria” (3 cfu) nell'ambito del corso di laurea “Scienze e Tecnologie Agrarie” dell'Università degli Studi di Bari
  - 2014-2015: “Biologia dei Microrganismi” (3 cfu) e “Microbiologia Agraria” (3 cfu) nell'ambito del corso di laurea “Scienze e Tecnologie Agrarie” dell'Università degli Studi di Bari
  - 2015-2016: “Biologia dei Microrganismi” (3 cfu) e “Microbiologia Agraria” (3 cfu) nell'ambito del corso di laurea “Scienze e Tecnologie Agrarie” dell'Università degli Studi di Bari e “Biotecnologie Alimentari” (6 cfu) nell'ambito del corso di laurea Biotecnologie per la Qualita' e la Sicurezza dell'alimentazione.
  - 2016-2017 “Biologia dei Microrganismi” (3 cfu) e “Microbiologia Agraria” (3 cfu) nell'ambito del corso di laurea “Scienze e Tecnologie Agrarie” dell'Università degli Studi di Bari; “Biotecnologie Alimentari” (6 cfu) nell'ambito del corso di laurea Biotecnologie per la Qualita' e la Sicurezza dell'alimentazione;
- “Microbiologia degli Alimenti Fermentati” (9 cfu) nell'ambito del corso di laurea “Scienze e Tecnologie Alimentari” La Sapienza Università di Roma.

#### 2.1.2 Insegnamenti nell'ambito di altri corsi universitari (ALLEGATO 7)

- 2011-2012: "Didattica e laboratorio di Microbiologia degli Alimenti" (3cfu) nell'ambito del Corso di TFA – Tirocinio Formativo Attivo (classe di concorso A057) dell'Università degli Studi di Bari
- 2013-2014 "Didattica di microbiologia degli alimenti" (3cfu) nell'ambito del Corso PAS - Percorso Abilitante Speciale (classe di concorso A057) dell'Università degli Studi di Bari
- 2014-2015 "Didattica e laboratorio di Microbiologia degli Alimenti" (3cfu) nell'ambito del Corso di TFA - Tirocinio Formativo Attivo (classe di concorso A057) dell'Università degli Studi di Bari.

### *2.1.3 Svolgimento di seminari, cicli di lezioni ed esercitazioni (ALLEGATO 8)*

Seminario dal titolo "Identificazione di peptidi antimicrobici in formaggi italiani" nell'ambito del Dottorato di Ricerca in Microbiologia, Sanità e Chimica degli Alimenti (XVIII ciclo) presso il Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata dell'Università degli Studi di Bari, 10/11/2003

Seminario dal titolo "Attività proteolitica di microrganismi probiotici su proteine coinvolte nel morbo celiaco e allergeni da frumento" nell'ambito del Dottorato di Ricerca in Microbiologia, Sanità e Chimica degli Alimenti (XVIII ciclo) presso il Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata dell'Università degli Studi di Bari, 16/12/04

Seminario dal titolo "Sviluppo di bevande a base di latte arricchite in peptidi bioattivi", 2° Convegno Dairy.it, non solo latte: I prodotti funzionali & prebiotici. Cremona, 27 ottobre 2006

Seminario dal titolo "Il glutine", Tavola Rotonda "La tossicità del glutine: dalla celiachia all'autismo". Collegio Ghislieri, Pavia, 29 maggio 2007

Ciclo di lezioni "Norme e procedure per la certificazione della qualità e sicurezza alimentare" (ore 20) nell'ambito della Scuola di Dottorato di Ricerca "Produzioni vegetali, alimenti e ambiente (anno accademico 2006/2007)

Ciclo di lezioni "Microbiologia enologica" (ore 20) nell'ambito del Master Universitario di II livello "Manager della filiera viti-vinicola nel distretto agroalimentare dell'area Jonico-Salentina" (anno accademico 2006/2007)

Ciclo di lezioni "Il ruolo dei microrganismi nelle fermentazioni e nella maturazione di prodotti. Trasformazione dei costituenti la materia prima e metaboliti che possono influenzare le proprietà chimico-fisiche ed organolettiche dei prodotti agro-alimentari" (ore 10) nell'ambito del Master Universitario "Valorizzazione e Commercializzazione dei Prodotti Regionali Pugliesi relativi ai settori produttivi del Sistema Agro-Alimentare" (anno accademico 2006/2007)

Ciclo di lezioni "Criteri generali per il professionista che opera nel contesto della certificazione agroalimentare" (ore 8) relative al corso di specializzazione "Sviluppo e

auditing di sistemi di gestione per la qualità, sicurezza alimentare e rintracciabilità nel settore agroalimentare". Bari, Settembre 2007. Area Formazione Check Fruit S.r.l., Bologna

Ciclo di lezioni "Microbiologia generale ed agraria" (20 ore) Formazione prevista nell'ambito del progetto strategico regionale sul miglioramento della qualità e sicurezza dei vini "INNOWINE" (Bando di evidenza pubblica in materia di Progetti Strategici di ricerca – 2008-2012, CNR ISPA Lecce)

Ciclo di lezioni "Applicazioni biotecnologiche per la produzione di alimenti funzionali" (20 ore) Master Universitario di 2<sup>do</sup> livello "Manager delle biotecnologie innovative per la produzione di alimenti" presso DiSSPA Università degli Studi di Bari, luglio-settembre 2014

Ciclo di lezioni "Casi studio: la degradazione dei fattori antinutrizionali" (20 ore) Master Universitario di I livello "Tecnico Esperto in formulazione di prodotti e gestione di processi innovativi nell'industria alimentare" presso DiSSPA Università degli Studi di Bari, ottobre-novembre 2014

Svolgimento di esercitazioni, in collaborazione con il docente ufficiale, riguardanti tecniche microbiologiche di base, proteomica microbica ed enzimologia nell'ambito dei seguenti corsi:

- Biotecnologie Alimentari con Laboratorio di Biotecnologie del Corso di Laurea in Biotecnologie per le produzioni Agricole ed Alimentari, Facoltà di Scienze Biotecnologiche dell'Università degli Studi di Bari (anno accademico 2004-2005)
- Sistemi di qualità e HACCP: aspetti microbiologici (Master Universitario "Manager dei processi di approvvigionamento e distribuzione dei prodotti agro-alimentari", presso la Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Bari) (anno accademico 2003-2004)
- Microbiologia dei prodotti lievitati da forno (Master Universitario di 1° livello "Sistemi di Qualità nell'Industria dei Prodotti Lievitati da Forno" (anno accademico 2003-2004)
- Sviluppi di Filiera: Aspetti Microbiologici (Corso di Laurea in Tecnologie delle Trasformazioni e Qualità dei prodotti Agro-alimentari, Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Bari) (a.a. 2004-2005, 2005-2006, 2006-2007)
- Biologia e Biotecnologia dei Microrganismi negli Alimenti (Corso di Laurea in Tecnologie delle Trasformazioni e Qualità dei prodotti Agro-alimentari, Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Bari) (a.a. 2004-2005, 2005-2006, 2006-2007)
- Caratterizzazione chimica, fisica e igienica dei prodotti lattiero-caseari (MASTER "Esperto dell'Innovazione nella Filiera Lattiero-Casearia - INFIL", Università degli Studi di Foggia) (anno accademico 2007-2008)

## **2.2 Attività di Relatore (tutor ufficiale) e collaborazione alla stesura delle tesi di laurea, dottorato e master**

### **2.2.1 Attività di Relatore (tutor ufficiale) (ALLEGATO 9)**

Ha coordinato, come **docente tutor ufficiale**, l'attività di laboratorio e le ricerche sperimentali, l'elaborazione e la stesura dei dati di laureandi, dottorandi, masterandi e altri

corsi (es. TFA) frequentanti il Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari, nei periodi e per le attività di seguito indicate:

1. Luigi Nigro (Anno Accademico 2008-09) "Biotecnologia dei lattici fermentati" Corso di Laurea in Tecnologie delle Trasformazioni e Qualità dei Prodotti Agro-Alimentari;
2. Francesco Fischetti (Anno Accademico 2011-2012) "Qualità microbiologica delle acque destinate al consumo umano" Corso di Laurea in scienze e Tecnologie Alimentari;
3. Francesco De Mastro (Anno Accademico 2011-2012) "Produzione di biogas mediante digestione anaerobica" Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie;
4. Francesco De Santis (Anno Accademico 2011-2012). Relazione finale dell'attività di tirocinio (TFA, Tirocinio Formativo Attivo, Bari, Classe Scienza degli Alimenti – A057);
5. Claudia Lippolis (Anno Accademico 2011-2012). Relazione finale dell'attività di tirocinio (TFA, Tirocinio Formativo Attivo, Bari, Classe Scienza degli Alimenti – A057);
6. Fabio Cazzorla (Anno accademico 2012-2013) "Qualità microbiologica del latte e dei prodotti lattiero caseari" Corso di Laurea in Tecnologie delle Trasformazioni e Qualità dei Prodotti Agro-Alimentari;
7. Antonella Laveneziana (anno accademico 2013-2014) "La contaminazione microbica nei prodotti lievitati da forno" Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie;
8. Angela Roncone (anno accademico 2013-2014) "Funghi tossigeni e micotossine su frumento duro prodotto nell'Italia Meridionale" Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari;
9. Vito Russo (anno accademico 2013-2014) Master Universitario di II livello Manager delle Biotecnologie Innovative per la Produzione di Alimenti. Tesi dal titolo "Utilizzo di batteri lattici autoctoni per la sintesi di peptidi antiossidanti da quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*), Università degli Studi di Bari, DiSSPA;
10. Vito Michele Chimienti (anno accademico 2013-2014), Master universitario di I livello in "Tecnico esperto in formulazione di prodotti e gestione di processi innovativi nell'industria alimentare", Università degli Studi di Bari, DiSSPA Tesi dal titolo "Pasta alimentare: filiera produttiva e aspetti tecnologici legati alla pasta gluten-free";
11. Dario Decataldo, (anno accademico 2013-2014), Master universitario di I livello in "Tecnico esperto in formulazione di prodotti e gestione di processi innovativi nell'industria alimentare", Università degli Studi di Bari, DiSSPA Tesi dal titolo "Filiera della pasta alimentare: aspetti tecnologici e microbiologici";
12. Giancippoli Elena (Anno Accademico 2014-2015). Relazione finale dell'attività di tirocinio (TFA, Tirocinio Formativo Attivo, Bari, Classe Scienza degli Alimenti – A057);
13. Grazioso Giuseppe (Anno Accademico 2014-2015). Relazione finale dell'attività di tirocinio (TFA, Tirocinio Formativo Attivo, Bari, Classe Scienza degli Alimenti – A057);
14. Sacco Luana (Anno Accademico 2014-2015). Relazione finale dell'attività di tirocinio (TFA, Tirocinio Formativo Attivo, Bari, Classe Scienza degli Alimenti – A057);
15. Sistino Annalisa (Anno Accademico 2014-2015). Relazione finale dell'attività di tirocinio (TFA, Tirocinio Formativo Attivo, Bari, Classe Scienza degli Alimenti – A057);
16. Tortosa Federica (Anno Accademico 2014-2015). Relazione finale dell'attività di tirocinio (TFA, Tirocinio Formativo Attivo, Bari, Classe Scienza degli Alimenti – A057);

17. Ubaldo Daniela (Anno Accademico 2014-2015). Relazione finale dell'attività di tirocinio (TFA, Tirocinio Formativo Attivo, Bari, Classe Scienza degli Alimenti – A057);
18. Flavia Nigro (Anno Accademico 2014-2015) “Applicazione e gestione della biotecnologia del lievito naturale“ Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie.
19. Serena Fragasso (Anno Accademico 2014-2015) “Leguminose: potenzialità della lievitazione naturale” Corso di Laurea Specialistica in Scienze e Tecnologie Alimentari.
20. Simone Ippolito (Anno Accademico 2014-2015) “Biotecnologie del lievito naturale: selezione di batteri lattici da impiegare come starter” Corso di Laurea Specialistica in Scienze e Tecnologie Alimentari.
21. Matteo Chinellato (Anno Accademico 2015-2016) “Biotecnologie del lievito naturale e aspetti funzionali dei lievitati da forno” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie.
22. Anna Netti (Anno Accademico 2015-2016) “La qualità microbiologica del latte e dei derivati lattiero caseari” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie.
23. Mariano Zonna (Anno Accademico 2015-2016) “Utilizzo dei batteri lattici come starter nell'industria della panificazione” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie.
24. Sergio De Gennaro (Anno Accademico 2015-2016) “Lieviti selezionati: applicazioni in campo enologico e prospettive future” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari.
25. Gianluigi Spadavecchia (Anno Accademico 2015-2016) “Caratteri di selezione ed impiego di starter in enologia: gestione della fermentazione malolattica” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari
26. Dayana Fumarola (Anno Accademico 2015-2016) “Starter selezionati nell'industria della panificazione” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie.
27. Vito Antonacci (Anno accademico 2015-2016) “Aspetti microbiologici e qualitativi nella filiera produttiva della birra” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari
28. Eugenia Tomaselli (Anno Accademico 2015-2016) “Impiego di starter selezionati in ambito enologico” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie.
29. Massimo Marmo (Anno Accademico 2015-2016) “Aspetti microbiologici e biotecnologici della produzione di vini biologici” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie.
30. Laura Quintieri, Dottorato di ricerca in Microbiologia, Sanità e Chimica degli Alimenti, ciclo XXV, “Control of Mozzarella cheese spoilage bacteria by using antimicrobial peptides from bovine lactoferrin” (2013)
31. Anna Lorusso, Dottorato di ricerca in: Microbiologia, Tecnologia, Sanità e Chimica degli Alimenti, XIX ciclo, “Lactic acid bacteria fermentation as a tool to improve technological, nutritional, functional, and sensory properties of quinoa (Chenopodium quinoa)” (2017)
32. Vincenzo Calabrese (Anno accademico 2016-2017) “Starter nel settore dei lievitati da forno: prospettive e applicazioni innovative” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari
33. Francesco Saracino (Anno accademico 2016-2017) “Selezione di starter nel settore enologico: prospettive future e impiego di lieviti non *Saccharomyces*” Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari

34. Rosa Schettino (Anno accademico 2016-2017) "Impiego di batteri lattici e sfarinati alternativi al frumento per il miglioramento delle proprietà nutrizionali, tecnologiche e organolettiche dei lievitati da forno"

35. Simona Caradonio (Anno accademico 2016-2017) "Miglioramento delle proprietà nutrizionali dei grani africani attraverso la fermentazione lattica"

#### 2.2.2 Collaborazione alla stesura delle tesi di laurea, dottorato e master (ALLEGATO 10)

Ha coordinato, in **collaborazione** con il tutor ufficiale, l'attività di laboratorio di tesisti e dottorandi e le ricerche sperimentali, l'elaborazione e la stesura dei dati dei laureandi e masterandi frequentanti il Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari, nei periodi e per le attività di seguito indicate:

1. Paolo Caricasole (Anno Accademico 2002-2003) "Effetto dei batteri lattici non starter sulla maturazione del formaggio", Corso di laurea in Scienze e tecnologie Agrarie;
2. Silvia de Candia (Anno Accademico 2003 - 2004) "Isolamento e purificazione di peptidi antimicrobici da diverse varietà di formaggi italiani", Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie;
3. Riccardo Lombardi (Anno Accademico 2003 - 2004). "Le allergie alimentari, il caso dei cereali fermentati e non";
4. Pasqualina Colasuonno (Anno Accademico 2003 - 2004). "Uso dei microrganismi probiotici per la degradazione di proteine allergeniche da frumento";
5. Rossana Coda (Anno Accademico 2003-2004) "Batteri lattici del lievito naturale: degradazione di proteine allergeniche e valutazione delle attitudini tecnologiche di starter liofilizzati" Master Universitario di 1° livello "Sistemi di Qualità nell'Industria dei Prodotti Lievitati da Forno" nell'ambito del Programma Operativo Nazionale per le Regioni Obiettivo 1 "Ricerca Scientifica, Sviluppo Tecnologico, Alta formazione 2000-2006";
6. Marianna Frinquello (Anno Accademico 2004 - 2005) "Attività proteolitica dei batteri lattici del lievito naturale sulle prolamine di segale ed orzo responsabili del morbo celiaco";
7. Davide Minervini (Anno Accademico 2004-2005) "Peptidi bioattivi da derivati lattiero caseari";
8. Angela Cassone (Anno Accademico 2004-2005) "Attività proteolitica di microrganismi probiotici su gliadine responsabili dell'intolleranza ai cereali";
9. Elisa Santovito (Anno Accademico 2005-2006) "Lattobacilli del lievito naturale e patologia celiaca";
10. Antonietta D'Onghia (Anno Accademico 2006-2007) "Selezione di lieviti per uso enologico" Corso di Laurea in Tecnologie delle Trasformazioni e Qualità dei Prodotti Agro-Alimentari
11. Serena Anna Minutillo (Anno Accademico 2006-2007) "Aspetti salutistici di impasti fermentati con lievito naturale";

12. Vito Ricchiuti (Anno Accademico 2006-2007) "Batteri lattici come starter funzionali nell'industria degli alimenti funzionali" Corso di Laurea in Tecnologie delle Trasformazioni e Qualità dei Prodotti Agro-Alimentari;
13. Luana Nionelli (Anno Accademico 2010-2011) "Exploitation of the potentialities of ancient grains and wheat by-products for the manufacture of sourdough baked goods" (Tesi dottorato in Microbiologia, Sanità e Chimica degli Alimenti);
14. Anna Lorusso (Anno Accademico 2011-2012) "Uso di batteri lattici selezionati per l'ottenimento di farina di frumento e lievitati da forno a ridotto contenuto in glutine", Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari.
15. Lorenzo Didonna (Anno Accademico 2014-2015) "Miglioramento della shelf-life dei prodotti lievitati da forno". Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari.
16. Filippo d'Alessandro (Anno Accademico 2015-2016). "Biotecnologie dei prodotti lievitati da forno: impiego e vantaggi del lievito naturale" Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari.

### **2.3 Incarichi istituzionali**

(ALLEGATO 11)

- **Componente** del Collegio dei Docenti del Dottorato di Ricerca in "Microbiologia, Sanità e Chimica degli alimenti";
- **Componente** del Consiglio di Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari presso l'Università degli Studi di Bari, Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti;
- **Componente** del Consiglio di Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie presso l'Università degli Studi di Bari (DiSAAT);
- **Componente** del Consiglio del Corso Tirocinio Formativo Attivo (Classe scienze degli Alimenti A057) dell'Università degli Studi di Bari (anni accademici 2012-2013 e 2014-2015);
- **Componente** della Commissione PAS Percorsi Abilitanti Speciali, nell'anno accademico 2013-2014,, classe Scienze degli Alimenti A057, Università degli Studi di Bari;
- **Componente** della Commissione di Orientamento del Dipartimento di Scienze del Suolo della pianta e degli Alimenti;
- **Responsabile** della Gestione e Smaltimento di rifiuti speciali per il Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti dell'Università degli Studi di Bari.
- Per i cicli XXVIII, XXX e XXXII è stato componente della Commissione giudicatrice per l'ammissione al Corso di Dottorato (D.R. n. 190 del 15 gennaio 2013, D.R. n. 2913 del 19.09.2014, D.R n.2753 del 12.09.2016)

### 3. ATTIVITÀ SCIENTIFICA

#### 3.1 Convegni e congressi nazionali ed internazionali

##### 3.1.1 Relazioni (ALLEGATO 12)

1. “10<sup>th</sup> Workshop on the developments in the Italian PhD research in food science and technology”, Foggia 7-9/09/05; Presentazione dal titolo “Probiotics as a potential tool for decreasing gluten intolerance”;
2. 2° Dairy.it, non solo latte Cremona, 27 ottobre 2006. Presentazione dal titolo “I prodotti funzionali & prebiotici”;
3. 8° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti (CISETA), Rho (MI) 7-8/05/2007. Presentazione dal titolo “Componenti funzionali del lievito naturale: peptidi anti-ipertensivi e acido- $\gamma$ -aminobutirrico”;
4. 4<sup>th</sup> International Symposium on Sourdough “from arts to science”, 14-17 October 2009, Freising – Germany. Presentazione dal titolo “Wheat germ stabilization by sourdough fermentation”;
5. “Conoscere la celiachia, degustarne la quotidianità”, 12 Dicembre 2010, Grottaglie (TA) Presentazione dal titolo: “Lievitazione naturale: nuove prospettive nel settore degli alimenti gluten free”;
6. 8° Convegno AISTEC “Evoluzione e rilancio della filiera dei cereali: biodiversità, sostenibilità, tecnologia e nutrizione. Aci Castello – Cannizzaro (CT), 11-13 maggio 2011. Presentazione dal titolo “Prolungamento della shelf-life dei lievitati da forno mediante l’utilizzo da forno mediante l’utilizzo di matrici vegetali e starter selezionati per l’attività antifungina”;
7. 9° Forum BCI “Bakery and confectionary innovation forum –“Innovation and Nutrition” Parma, 8-9 giugno 2011. Presentazione dal titolo “Safety for patients with celiac disease of baked goods made of wheat flour hydrolyzed during food processing”;
8. 1<sup>st</sup> International Conference on Microbial Diversity 2011: Environmental, stress and adaptation, 26-28 Dicembre 2011, Milano. Presentazione dal titolo “Effect of gluten-free diet on the duodenal and faecal microbiota of celiac children”;
9. “La tolleranza al glutine: diagnosi e terapia”, Presentazione dal titolo “Nuove prospettive nel settore degli alimenti gluten free”, 29 ottobre 2011, Nuoro;
10. Controversie in tema di malattia celiaca, (3 Dicembre 2011, Castellana Grotte, BA). Presentazione dal titolo: “Lievitazione naturale e innovazione nel settore degli alimenti gluten free”;
11. 5th international Dietary Fibre Conference. Presentazione dal titolo: “Use of micronized by-products from debranned durum wheat and sourdough fermentation to enhance the nutritional, texture and sensory features of white bread”, 7-9 May 2012, Rome, Italy;
12. III Convegno Nazionale SIMTREA, Bari 26-28 giugno 2012. Presentazione dal titolo “Degradation of immunogenic gluten peptides by sourdough lactobacilli: how to obtain baked goods of wheat flour safe for celiacs”;

13. V Symposium on Sourdough "Cereal Fermentation for Future Foods", Helsinki, Finland, 10-12 October 2012. Presentazione dal titolo: "Set up of a biotechnological protocol for the production of mild-gluten wheat flour bread by sourdough fermentation";
14. 9° Convegno AISTEC "Un mondo di cereali, Potenzialità e Sfide" Bergamo, 12-14 Giugno 2013, p.42. Presentazione dal titolo: "Uso di batteri lattici selezionati e lievitazione naturale per la sintesi di peptidi bioattivi in farine di cereali e pseudocereali";
15. Simposio Internacional Quinoa, San Salvador de Jujuy, Argentina, 28-29 Novembre 2013. Presentazione dal titolo: "Sourdough as tool to exploit the nutritional value of cereals and pseudocereals";
16. Giornate del CUIA (Consorzio Interuniversitario Italiano per l'Argentina) in Argentina 3-15 Aprile 2014, Buenos Aires, Argentina. Presentazione dal titolo: "La fermentazione lattica come strumento per migliorare le caratteristiche funzionali della quinoa".
17. Molfetta, 27.11.2014 Congresso "Marchi e Brevetti, Ingegno e Tutela". Presentazione dal titolo: "Ricerca e Innovazione nell'agroalimentare";
18. La civiltà del pane, Convegno Internazionale di studio, Brescia 1-6 Dicembre 2014. Presentazione dal titolo: "Pane e salute, un binomio per la vita";
19. BCI forum 2015, Baggiovara MO, 18-19 giugno 2015. Presentazione dal titolo: "Miglioramento della qualità nutrizionale e funzionale dei lievitati da forno mediante l'utilizzo del lievito naturale";
20. ICC/AISTEC Conference at the World Expo Milan 2015 "Grains for feeding the world" 1-3 Luglio 2015. Presentazione dal titolo: "Wheat milling by-products and sourdough fermentation: nutritional, functional and technological advantages";
21. IFT (Institute of Food Technologists) Annual Meeting & Food Expo, Chicago, IL USA | July 11-14, 2015. Presentazione dal titolo: "Cereal fermentation for gluten-free products: the potential of sourdough biotechnology".
22. Nuovi Trend in Gastroenterologia, Bologna 15.9.2015. Presentazione dal titolo "Nuovi Alimenti".
23. VI Sourdough Symposium, Understanding natural complexity, Nantes, France, 30.09.2015-02.10.2015. Presentazione dal Titolo "Sourdough fermentation of Italian legumes: nutritional and functional advantages".
24. SUSFOOD Status Seminar, Brussel, Belgium, 13.10.2015 "Novel multifunctional plant protein ingredients with bioprocessing"
25. AACC International Centennial Meeting "Lactic fermentation as a tool for improving the nutritional quality of cereal and legume proteins" 18-21.10.2015 Minneapolis, Minnesota USA
26. BIOL – International Prize, "Lievitazione naturale, tradizione ed innovazione" Ostuni (BR, Italia) 19.03.2017.

### 3.1.2 Altre partecipazioni (ALLEGATO 13)

1. Forum BCI "Bakery and confectionary innovation forum natural sourdough and formation bread flavour" Bologna, 19/06/03;
2. 6° Convegno Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti (CISETA), Cernobbio (CO) 18-19/09/03;
3. "Probiotics in the digestive tract: mechanisms and efficacy", Roma 16-17/04/04;
4. Convegno Internazionale "Celiachia: dalla ricerca di base alle prospettive terapeutiche", Firenze 15-16/04/05;
5. 7° Convegno Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti (CISETA), Cernobbio (CO) 19-20/09/05;
6. 1° Congresso Nazionale SIMTREA (Società Italiana di Microbiologia Agro-Alimentare ed Ambientale) Ruolo della Microbiologia nei settori agro-alimentare ed ambientale. Bologna 17-18 luglio 2006;
7. 5° Forum BCI "Bakery and confectionary innovation forum" Strumenti e soluzioni per il miglioramento dei prodotti da forno industriali attraverso l'uso dell'analisi sensoriale". Parma, 16/05/2007;
8. GE Healthcare "Ettan MDLC Basic Training Course", Bari 26-29/03/2007;
9. 6° Forum BCI "Bakery and confectionary innovation forum - Prodotti da forno industriali: differenziazione come chiave di successo" Parma, 29/05/2008;
10. 7° Forum BCI "Innovation and Nutrition - Segmentazione del Mercato" - Parma 19-20/05/2009;
11. 2° Congresso Nazionale SIMTREA (Società Italiana di Microbiologia Agro-Alimentare ed Ambientale) Ruolo della Microbiologia nei settori agro-alimentare ed ambientale. Sassari 10-12 giugno 2008.

### 3.2 Progetti di ricerca

Il Prof. Carlo Giuseppe RIZZELLO ha svolto attività di ricerca, collaborazione e coordinazione scientifica nell'ambito dei seguenti progetti, attuati presso il Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari.  
Ove indicato, ha svolto il ruolo di Responsabile scientifico dell'intero progetto.

#### 3.2.1 Progetti finanziati da industrie (ALLEGATO 14)

1. **Puratos nv** (Bruxelles, Belgio) "Sourdough from wheat flour varieties of *Triticum durum*", (gennaio-aprile 2003);
2. **Barilla S.p.a.** (Parma) "Selezione di associazioni batteri lattici - lieviti sulla base della produzione di composti volatili, peptidi ed aminoacidi", (gennaio-giugno 2003);
3. **F. Divella S.p.a.** (Rutigliano, Bari) "Produzione di pasta alimentare secca da destinare ad individui affetti da celiachia" (luglio 2003-gennaio 2004);
4. **VSL Pharmaceuticals Inc.** (Gaithersburg MD, USA) "Probiotic microorganisms and human gluten tolerance" (giugno - ottobre 2003);

5. **VSL Pharmaceuticals Inc.**, Gaithersburg MD, USA "Probiotic micro-organisms and allergenic globulins and albumins" (2004);
6. **VSL Pharmaceuticals Inc.**, Gaithersburg MD, USA "Isolamento e caratterizzazione di peptidi ACE inibitori da derivati lattiero caseari" (2005);
7. **Interpan S.p.A. (Terni)**: "Gestione del lievito naturale per la produzione di diverse tipologie di pane" (2005);
8. **Barilla S.p.A. (Parma)**: "Riproducibilità per produzione di starter contenenti *Lactobacillus sanfranciscensis* A15" (2005);
9. **Copharma-Giuliani S.r.l. (Milano)**: "Uso di batteri lattici per migliorare le caratteristiche organolettiche e nutrizionali di prodotti naturalmente gluten-free" (2005);
10. **Puratos n.v. (Brussels-Belgium)**: "Sourdough and health: effect on glycemix index" (2005);
11. **Magus S.p.A., (Teramo)**: "Produzione di una crema di latte/yogurt destinata alla farcitura di merendine caratterizzata per la presenza di fermenti lattici probiotici" (2005);
12. **Puratos n.v. (Brussels-Belgium)** "Health aspects induced by sourdough: organisms and metabolites" (2005);
13. **Interpan S.p.A. (Terni)**: "Biotecnologie dei prodotti lievitati da forno" (2006);
14. **Barilla S.p.A. (Parma)**: "Selezione di composti antimicrobici per il miglioramento della conservabilità microbiologica dei prodotti lievitati da forno" (2006);
15. **Barilla S.p.A. (Parma)** "Biotecnologia dei prodotti lievitati da forno" (2006);
16. **Copharma-Giuliani S.r.l. (Milano)** "Biotecnologia dei prodotti lievitati da forno gluten-free" (2006);
17. **Barilla S.p.A. (Parma)**: "Miglioramento delle caratteristiche sensoriali della pasta secca alimentare mediante l'impiego di lievito naturale" (2007);
18. **Barilla S.p.A. (Parma)**: "Ottimizzazione della produzione di eso-polisaccaridi in fermentazioni liquide con batteri lattici selezionati" (2007);
19. **Panificio e Biscottificio F.lli DiGesù snc (Bari)**: "Utilizzo di lieviti naturali selezionati per la produzione del pane di Altamura DOP" (2007);
20. **Barilla S.p.A. (Parma)**: "Ottimizzazione della produzione di eso-polisaccaridi (EPS) in *Lactobacillus curvatus/sakei* 10XF1 e parziale purificazione degli EPS ottenuti" (2007);
21. **Giuliani Srl (Milano)**: "Selezione dei batteri lattici per la produzione di un integratore a base di GABA (acido g-amminobutirrico) su matrici alimentari a basso costo (2007);
22. **Beldem S.A., Puratos (Belgio)** "Spelt and emmer flours: characterization of the lactic acid bacteria microbiota and selection of mixed starters for bread making" (2008);
23. **Barilla S.p.a. (Parma)** "Produzione di semilavorati fermentati a base di fiocchi di avena" (2010-2011) (responsabile scientifico);
24. **Polaris Alimenti Srl (Ostuni, BR)**: "Trasferimento tecnologico relativo all'impiego di lievito naturale nei processi produttivi dei lievitati da forno aziendali (2011-2013) (responsabile scientifico) ;
25. **Giuliani Srl (Milano)** "Messa a punto di una miscela arricchita di isoflavoni-agliconi, equolo e lunasina a base di soia fermentata, procedimento per la sua preparazione e relativi usi in campo alimentare, medico e cosmetico" (2011-2013);
26. **Giuliani Srl (Milano)** "Protocollo per la produzione di matrici vegetali fermentate a base di aloe, echinacea, liquirizia per uso alimentare, medico e cosmetico" (2011-2013);

27. **Beldem S.A.** (Puratos), Andenne, Belgio: "Selection of non-conventional yeasts with antifungal activity to be used as starters for baked goods manufacturing (2011);
28. **Ferrero** (Soremartec Italia S.r.l.) (Alba CN) "Biotecnologia del lievito naturale e miglioramento della stabilità e delle caratteristiche organolettiche e nutrizionali del germe di grano" (2011-2013) (responsabile scientifico);
29. **Ferrero** (Soremartec Italia S.r.l.) (Alba CN) "Definizione di un protocollo biotecnologico per la produzione di una bevanda lattica a base di cereali e di una bevanda simil-yogurt a base di una miscela di cereali, frutta e mosto d'uva" (2011-2012);
30. **Barilla S.p.a.** (Parma) "Messa a punto di fermentazioni naturali per l'ottenimento di semilavorati a base di vegetali e sfarinati da cereali e leguminose" (2011-2012). (responsabile scientifico);
31. **Ferrero (Soremartec Italia S.r.l.)** (Alba CN) "Definizione di un protocollo biotecnologico per la produzione di una bevanda lattica a base di cereali e di una bevanda simil-yogurt a base di una miscela di cereali, frutta e mosto d'uva" (2011-2012);
32. **Fondazione Caripuglia** "Miglioramento della qualità nutrizionale e funzionale di sfarinati di legumi tipici mediante fermentazione con batteri lattici selezionati" (2012-2013);
33. **Ferrero (Soremartec Italia S.r.l.)** (Alba CN) "Messa a punto di protocolli biotecnologici per il prolungamento della conservabilità microbiologica di lievitati da forno aziendali" (2013) (responsabile scientifico);
34. **Beldem S.A.** (Puratos), Andenne, Belgio: Use of milling by-products from durum wheat (*Triticum durum* sp.) to improve the nutritional, functional and sensory features of baked goods (2013) (responsabile scientifico);
35. **Beldem S.A.** (Puratos), Andenne, Belgio: Impiego di starter selezionati ed attenuati come ingrediente nell'industria dei prodotti lievitati da forno per controllare l'eccessiva acidificazione del lievito naturale e migliorarne le proprietà sensoriali (2013) (responsabile scientifico);
36. **Vallefiorita Srl, Ostruni (BR)** "Messa a punto di prodotti lievitati da forno a basso indice glicemico mediante l'utilizzo di lievitazione con batteri lattici selezionati e sottoprodotti della molitura" (2013-2015) (responsabile scientifico);
37. **Novelbread, Acquaviva delle Fonti (BA)** "Industrializzazione di nuovi prodotti lievitati da forno, dall'alta qualità nutrizionale ed organolettica tramite sottoprodotti della molitura e lievitazione naturale" (2014-2016) (responsabile scientifico);
38. **Ferrero, Alba (CN)** "Prolungamento della *shelf-life* dei prodotti da forno mediante utilizzo di matrici vegetali e *starter* selezionati (2014-2015) (responsabile scientifico);
39. **ToscanaPane (Altopascio, LU)** "Uso di lievito naturale selezionato per il miglioramento delle caratteristiche sensoriali e di shelf life di pane a media e lunga conservazione, confezionato in atmosfera protettiva con film a barriera" (2015-2016) (responsabile scientifico);
40. **Puratos (Belgio)** Use of non-conventional starters and flours for making novel sourdough baked goods (2016-2017) (responsabile scientifico). € 20.000,00
41. **Vallefiorita Catering Srl (Ostuni)** Industrializzazione, presso lo stabilimento aziendale, di processi biotecnologici di lievitazione naturale tramite l'utilizzo di starter autoctoni selezionati (2016-2017) (responsabile scientifico). € 20.000,00
42. **Puratos (Belgio)** The digestibility of baker's yeast (commercial bread) *versus* sourdough fermented breads (traditional bread)" (2017-2018) (responsabile scientifico). € 50.000,00

3.2.2 Progetti con finanziamenti pubblici (Europei, Nazionali, Regionali)  
(ALLEGATO 15)

1. Piano di potenziamento della rete scientifica e tecnologica, titolo del piano "Microrganismi e agenti infettivi di interesse agro-alimentare (MAIA), sottoprogetto n. 6 2.2 cluster C 06 + 07 dal titolo "Studio dei lieviti naturali per la valorizzazione dei pani tipici del Mezzogiorno"; (soggetto attuatore: Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata), aprile 2001- aprile 2005;
2. Progetto afferente al programma di ricerca "Qualità Alimentare" (Cereali e Salute, CERES) "Miglioramento delle caratteristiche nutrizionali e salutistiche dei prodotti alimentari a base di grano e di altri cereali"; (2004-2006);
3. D.M. n. 41775 del 26/06/2001 Tematica 1: Tecnologie Innovative per il Settore Agro-forestale, progetto "Strategie Innovative per il Miglioramento della sicurezza e per la differenziazione di prodotti lattiero-caseari" (FORMINNOVA), presentato dal Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agro-alimentare dell'Università degli Studi di Bologna; sottoprogetto dell'Unità Operativa del Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata "Identificazione e caratterizzazione della microflora autoctona di produzioni casearie tipiche pugliesi", (2002 – 2005);
4. "Programmi di ricerca di Interesse Nazionale" (PRIN), con la nota Prot. n. 202 del 5/02/2003 dal titolo: "Proteomica per lo studio dell'adattamento ambientale in batteri lattici coinvolti in processi di trasformazione alimentare" dicembre 2002 – dicembre 2004;
5. "Produzione di bevande lattiche fermentate contenenti peptidi ad attività anti-ipertensiva" Progetto PRIN COFIN (2005);
6. "Produzione di una bevanda lattica funzionale a base di latte di asina" PRIN-COFIN (2006);
7. Programma Operativo Nazionale "Ricerca, Sviluppo tecnologico, alta formazione" (2000-2006), settore agro-industria misura 1.3 Ricerca e Sviluppo nei settori strategici per il Mezzogiorno "Miglioramento delle competitività delle produzioni tipiche", titolo del Progetto: Miglioramento delle caratteristiche organolettiche, nutrizionali e salutistiche dei pani tipici da semola di grano duro (2005-2009);
8. Programma Operativo Nazionale "Ricerca, Sviluppo tecnologico, alta formazione" (2000-2006), settore agro-industria misura 1.3 Ricerca e Sviluppo nei settori strategici per il Mezzogiorno "Miglioramento delle competitività delle produzioni tipiche", titolo del Progetto: "Pasta alimentare: Miglioramento della qualità tecnologica e riduzione dell'intolleranza alimentare al glutine" (2005-2009);
9. Trasferimento di innovazioni biotecnologiche al sistema agro-alimentare Pugliese (RIDDIT), (2006);
10. Sviluppo di prodotti alimentari innovativi mediante soluzioni biotecnologiche, impiantistiche e tecnologiche: tramezzino light. (Progetti PON REC 2007-2013, PROINNO\_BIT - DARE) (2011-2015) (responsabile scientifico);
11. Impiego di sottoprodotti e scarti dell'industria enologica per la produzione di principi attivi di interesse mediante biotecnologie microbiche (Progetti PON REC 2007-2013, ECO P4 – DARE) (2011-2015);
12. Pesto di olive biologiche fermentato. (Progetti PON REC 2007-2013, ECO P4 – DARE) (2011-2015);

13. Progetto europeo: "BIOPROT: Novel Multifunctional Ingredients with Bioprocessing" (call: Innovation in food processing technologies and food products to support e sustanaible food chain SUSFOOD) (2014-2016);
14. "Processing for healthy cereal foods" Programmi di Ricerca di Interesse Nazionale" (PRIN), con D.D. n. 1826 del 20.09.2016 (responsabile scientifico);
15. Progetto Europeo "Biotechnological functionalization of bakery waste - WASTEBAKE" (2017-2019) (Call: EUROTRANSBIO) Responsabile Scientifico di unità
16. BIOTECA - Biotecnologie degli alimenti per l'innovazione e la competitività delle principali filiere regionali: estensione della conservabilità e aspetti funzionali, FSC 2007-2013 "Cluster Tecnologici Regionali 2014". Regione Puglia

### 3.2.3 Progetti di Ricerca di Ateneo (Università degli Studi di Bari)

1. "Risposta allo stress da alte temperature in batteri lattici non starter del settore lattiero-caseario" (2003);
2. "Biodiversità dei batteri lattici del "lievito naturale": caratterizzazione mediante sistema BIOLOG e Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)" (2004);
3. "Uso dei batteri lattici non starter per la produzione di lattici fermentati ad attività ipotensiva (ACE-inibitoria)" (2005);

### 3.3. Attività di revisore per riviste a diffusione internazionale (ALLEGATO 16)

Ha svolto attività di **revisore** per le seguenti riviste scientifiche a diffusione internazionale, recensite dall'ISI:

African Journal of Biotechnology (n.2 articoli);  
 Annals of Microbiology (n. 1 articolo);  
 Applied and Environmental Microbiology (n.2 articoli);  
 Annual Review & Research in Biology (n.1 articolo);  
 Brazilian Journal of Microbiology (n.1 articolo);  
 Dairy Science and Technology (n.1 articolo);  
 Electronic Journal of Biotechnology (n.1 articolo);  
 Engineering in Food Science (n.1 articolo);  
 Food Microbiology (n. 7 articoli);  
 Food Research International (n. 2 articoli);  
 International Journal of Food Microbiology (n. 8 articoli);  
 International Journal of Molecular Sciences (n.1 articolo);  
 Italian Journal of Food Science (n. 5 articoli);  
 Journal of Agricultural and Food Chemistry (n.2 articoli);  
 Journal of Food Science (n.1 articolo);  
 LWT - Food Science and Technology (n.8 articoli);  
 Microbial Cell Factories (n.1 articolo);  
 New Biotechnology (n.1 articolo);  
 Process Biochemistry (n.1 articolo);  
 Trends in Food Science and Technology (n.1 articolo);

### 3.4. Temi di ricerca affrontati

L'attività di ricerca del Prof. Carlo Giuseppe RIZZELLO è stata condotta, dal 2002 ad oggi, presso

L'attuale Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti dell'Università degli Studi di Bari. Oggetto di studio la microbiologia degli alimenti, con particolare riferimento ai batteri lattici (metabolismo, attività enzimatica, impiego biotecnologico, implicazioni salutistiche e nutrizionali). In sintesi, le attività di ricerca documentate dalle pubblicazioni su riviste a diffusione internazionale possono essere ricondotte, per la maggior parte, alle seguenti linee di ricerca:

- a) Sintesi di composti bioattivi mediante l'uso di batteri lattici
- b) Bioteologie per la produzione di alimenti ed ingredienti funzionali e gluten-free mediante fermentazioni microbiche di matrici vegetali
- c) Bioteologie per la valorizzazione di sottoprodotti della molitura, cereali minori, leguminose e pseudocereali, mediante l'impiego di batteri lattici selezionati, per il miglioramento degli aspetti tecnologici/nutrizionali/funzionali/sensoriali dei lievitati da forno
- d) Bioteologie per il prolungamento della conservabilità microbiologica dei lievitati da forno

Segue breve descrizione delle attività con indicazione delle pubblicazioni su riviste internazionali relative agli argomenti trattati.

#### **a) Sintesi di composti bioattivi mediante l'uso di batteri lattici**

Le proteine di origine animale e vegetale contengono sequenze aminoacidiche potenzialmente bioattive. La proteolisi ad opera di enzimi endogeni del latte (es. plasmina e catepsine), l'azione di coagulanti usati in caseificazione ed in particolare l'azione di enzimi di batteri lattici starter e non, possono portare alla generazione di peptidi bioattivi durante i processi caseari, arricchendone così i prodotti alimentari. Una volta prodotti, i peptidi bioattivi possono assumere un ruolo fisiologico nell'ospite ed esercitare un'azione ormonosimile. Come conseguenza, tali peptidi possono rappresentare un potenziale "health enhancing nutraceutical" per le applicazioni alimentari e farmaceutiche (*pubblicazioni 2,3*).

##### *a1) peptidi antipertensivi e antimicrobici da proteine del latte;*

Sono stati prodotti idrolizzati proteici contenenti peptidi bioattivi utilizzando Na-caseinato ottenuto da latte di sei specie animali (bovino, suino, caprino, ovino, umano e bufalino), impiegando una proteinasi parzialmente purificata da *Lactobacillus helveticus* PR4 (*pubblicazione 1*) Successivamente tali idrolizzati sono stati analizzati mediante RP-FPLC e separati in frazioni, di cui è stata saggiata l'attività anti-ipertensiva (che si esplica attraverso l'inibizione dell'ACE, enzima che regola la pressione sanguigna periferica) e l'attività antimicrobica nei confronti di diversi batteri lattici e batteri patogeni. Si è quindi proceduto alla purificazione delle frazioni dotate di attività anti-ipertensiva, e all'identificazione delle sequenze peptidiche bioattive, alcune delle quali sono state sintetizzate chimicamente per riconfermare e caratterizzarne l'attività in vitro. E' stato dimostrato che tutti i tipi di latte utilizzati per la produzione di idrolizzati sono potenzialmente in grado di generare peptidi anti-ipertensivi. Si è proceduto alla purificazione anche della frazione della caseina umana risultata antimicrobica, giungendo ad identificare in essa un unico peptide, corrispondente al frammento 184-210 della  $\beta$ -CN umana. Con lo stesso approccio, estratti idrosolubili ottenuti da nove varietà di formaggi italiani differenti per il tipo di latte utilizzato come materia prima, tempo di stagionatura, tipo di caglio e starter microbico sono stati utilizzati per lo studio di peptidi antimicrobici, mediante purificazione, cromatografia e saggi di attività antimicrobica su vari indicatori microbici d'interesse. Sono state ritrovate frazioni attive per sei dei nove formaggi presi in considerazione. Le frazioni attive sono state ulteriormente analizzate mediante HPLC (High Performance Liquid Chromatography) accoppiata ad uno spettrometro di massa (Electrospray Ionization-Ion Trap Mass Spectrometry). La complessità delle matrici ha posto problemi non indifferenti all'identificazione dei peptidi contenuti nelle frazioni attive, dovuti alla coeluzione di alcune specie ed alla risoluzione insoddisfacente dei picchi adiacenti risultanti dalle analisi HPLC (*pubblicazioni 4, 9*). I peptidi identificati hanno mostrato una elevata omologia con intere sequenze o frammenti C- ed N-terminali di peptidi bioattivi antimicrobici o multifunzionali ampiamente riconosciuti e riportati in letteratura. La ricerca ha evidenziato che formaggi prodotti con latte di diverse specie animali e con l'impiego di

tecnologie differenti hanno potenzialità di generare peptidi antimicrobici aventi caratteristiche similari (pubblicazione n.1).

### a2) peptidi antipertensivi e antiossidanti da matrici vegetali

Recentemente, le fermentazioni con lievito naturale sono state messe in relazione alle proprietà funzionali di frumento, segale e avena, dimostrando una stabilizzazione dei composti bioattivi (es. phytochemicals), riduzione dell'indice glicemico e incremento della biodisponibilità di minerali, principalmente grazie all'attività dei batteri lattici presenti in tale agente lievitante. Molte delle bioattività sono spesso associate a peptidi criptati nella struttura primaria delle proteine e richiedono processi proteolitici perché ne avvenga il rilascio dai precursori. Alcuni peptidi bioattivi hanno capacità antiipertensive, essendo in grado di inibire l'ACE (angiotensin converting enzyme), e possono essere utilizzati per prevenire o curare alcuni stati di ipertensione. Sebbene la maggior parte dei peptidi bioattivi sia stata studiata in prodotti lattiero caseari, perché derivanti da caseine e sieroproteine, solo recentemente peptidi antipertensivi sono stati isolati ed identificati in idrolizzati proteici di cereali, ottenuti con l'utilizzo di enzimi microbici e fungini. Questi presupposti fanno pensare che durante la fermentazione di cereali mediante batteri lattici selezionati per l'attività proteinasica e peptidasica, si possa verificare il rilascio di sequenze potenzialmente attive. Oltre agli alimenti arricchiti in peptidi antiipertensivi, anche gli alimenti contenenti acido  $\gamma$ -aminobutirrico (GABA) hanno la capacità di modulare la pressione arteriosa, come dimostrato in vivo su ratti spontaneamente ipertesi e uomo. Il lavoro di ricerca svolto (pubblicazione 18) ha avuto lo scopo di valutare la sintesi di peptidi inibitori dell'ACE e di acido gamma amino butirrico durante la fermentazione con lievito naturale di farina di frumento, bianca ed integrale, e di segale. Lattobacilli isolati da lievito naturale, precedentemente selezionati per l'attività proteinasica e peptidasica su proteine da frumento o per la capacità di sintetizzare GABA, sono stati utilizzati per le fermentazioni. L'attività anti-ACE maggiore è stata ritrovata fermentando le farine in condizioni semi liquide e in modo particolare quando è stata utilizzata farina integrale di frumento. Quattordici peptidi, non riportati precedentemente come ACE-inibitori, sono stati identificati nell'estratto acquoso ottenuto dall'impasto ottenuto da farina di frumento integrale ( $IC_{50}$  delle frazioni purificate: 0,19-0,54 mg/ml). La maggior parte dei peptidi identificati contiene l'epitopo VAP, ben caratterizzato e contenuto in numerosi peptidi antipertensivi da derivati lattiero caseari. La sintesi di GABA aumenta quando gli impasti sono ottenuti con DY 160. La sintesi maggiore (258,71 mg/kg) è stata riscontrata per l'impasto prodotto con farina integrale di frumento, grazie alla maggiore attività enzimatica endogena e all'apporto dei tegumenti esterni della cariosside.

Con lo stesso approccio, un pool di batteri lattici isolati da lievito naturale e selezionati per l'attività proteolitica e peptidasica nei confronti di sequenze ricche di prolina è stato utilizzato per la fermentazione di impasti a base di sfarinati di diversi cereali, con lo scopo di valutare la sintesi di peptidi ad attività antiossidante. L'attività *radical-scavenging* degli estratti acquosi ottenuti dagli impasti fermentati con batteri lattici è risultata maggiore rispetto ai controlli acidificati chimicamente. Nel dettaglio, l'attività più elevata è stata riscontrata per gli impasti di frumento integrale, farro, segale e kamut. Tale risultato è stato confermato mediante rilevazione dell'autossidazione su acido linoleico. Gli estratti acquosi sono stati purificati mediante RP-FPLC e le frazioni ottenute dalla separazione sono state saggiate singolarmente per l'attività antiossidante. Le frazioni attive sono risultate essere resistenti ad una successiva proteolisi da enzimi digestivi. Venticinque peptidi (sequenze aventi da 5 a 57 residui aminoacidici) aventi le caratteristiche biochimiche tipiche dei peptidi ad attività antiossidante precedentemente caratterizzati in altre matrici, sono stati identificati mediante spettrometria di massa. Le frazioni purificate hanno inoltre mostrato elevate attività antiossidante in saggi effettuati su fibroblasti murini in coltura che erano stati precedentemente sottoposti a stress ossidativo artificiale. Questo studio dimostra le potenzialità dei batteri lattici di poter rilasciare peptidi ad attività antiossidante durante la fermentazione di farine di cereali di diverso tipo, lasciando ipotizzare effetti diretti sull'alimento ed indiretti sul consumatore (pubblicazione 45).

### a3) isoflavoni agliconi ed equolo

Più di cento isolati di batteri lattici isolati da differenti matrici sono stati saggiati per l'attività  $\beta$ -glucosidasi su substrato p-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside. *Lactobacillus plantarum* DPPMA24W e DPPMASL33, *Lactobacillus fermentum* DPPMA114, e *Lactobacillus rhamnosus* DPPMAAZ1, aventi la maggiore attività, sono stati selezionati ed impiegati in pool per la fermentazione di diversi substrati a base di latte di soia (preparazioni commerciali o artigianali caratterizzati da diversa composizione chimica e tecnologia di ottenimento). Tra questi, il latte di soia preparato da legume fresco è stato selezionato come miglior substrato. Tutti i ceppi selezionati hanno mostrato buona capacità di sviluppo in substrato (densità cellulari finali pari a

ca. 8,5 log ufc/ml). Dopo 96 h di fermentazione, il latte di soia è stato caratterizzato per concentrazioni pari a 57,0  $\mu$ M di daidzeina, 140,3  $\mu$ M di genisteina, 20,4  $\mu$ M di gliciteina, e 37,3  $\mu$ M di equolo. Latte di soia fermentato e non (controllo) sono stati impiegati per saggi *in vitro* cellule intestinali umane Caco-2/TC7. Il latte di soia fermentato è stato in grado di inibire significativamente lo stato infiammatorio delle linee cellulari (indotto da trattamento con IFN- $\gamma$  1000 U/mL ed LPS 100 ng/mL), preservando l'integrità delle tight junctions, ed inibendo la sintesi di IL-8 (dopo trattamento con interleukina-1 $\beta$ , 2 ng/mL). Come dimostrato dalla comparazione con standard sintetici, tali effetti sono da attribuire alla concomitante presenza di agliconi ed equolo. La biotecnologia proposta può essere impiegata per l'ottenimento di preparazioni ad uso alimentare, medico e cosmetico (*pubblicazione 34*).

#### a4) lunasina

Il coinvolgimento di alcune proteine alimentari nei meccanismi di prevenzione e sviluppo del cancro è stato recentemente evidenziato dalla comunità scientifica. La bioattività di tali proteine è stata attribuita nella maggior parte dei casi, a sequenze peptidiche criptate nelle sequenze proteiche native. Il peptide denominato lunasina corrisponde ad una sequenza di 43 aminoacidi corrispondenti alla subunità minore dell'albumina 2S di soia, avente massa molecolare di 5400 Da, al quale è stato attribuito un ruolo preventivo nello sviluppo del cancro. Tale peptide è stato identificato anche in molti altre matrici vegetali, tra cui cereali e pseudocereali comunemente impiegati nell'industria alimentare. La variazione di concentrazione di lunasina è stata monitorata (mediante RP-HPLC e nano-LC-ESI-MS) durante la fermentazione di impasti a base di sfarinati di frumento, soia, orzo, amaranto e segale, ed inoculati con sei batteri lattici caratterizzati da differenti attività peptidasiche e proteasiche. Le analisi elettroforetiche ed HPLC hanno evidenziato come i differenti ceppi di batteri lattici siano caratterizzati da attività proteolitica e peptidasica differente, che conduce in ogni caso all'aumento della concentrazione di lunasina. *Lactobacillus curvatus* SAL33 e *Lactobacillus brevis* AM7 sintetizzano le maggiori concentrazioni di lunasina (fino a 4 volte la concentrazione iniziale). Le analisi spettrometriche hanno permesso di identificare, oltre alla sequenza completa del peptide, anche la presenza di numerosi frammenti dello stesso, che però conservano l'epitopo immunoreattivo della sequenza (*pubblicazione 43*).

#### a5) acido $\gamma$ -aminobutirrico

Il GABA è il principale aminoacido inibitorio del sistema nervoso centrale. E' attualmente considerato come un componente funzionale negli alimenti in quanto svolge anche effetti di prevenzione del diabete, ipotensivo e diuretico. In questo ambito, è stato condotto uno studio sul contenuto di GABA in 22 varietà di formaggi italiani, caratterizzate da differenze relative alla materia prima, tecnologia e tempo di maturazione. I formaggi caratterizzati da un breve o assente tempo di maturazione non hanno mostrato la presenza di GABA, mentre altri (es. Pecorino Umbro, Pecorino di Filiano) ne hanno accumulato un elevato quantitativo (114-391 mg/kg). Circa 210 batteri lattici isolati dalle 22 varietà di formaggi sono stati identificati mediante sistemi genotipici e saggiati per la produzione di GABA. I ceppi produttori appartengono alle specie di *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* e *Leuconostoc mesenteroides*. Per 4 biotipi maggiormente produttori è stato studiato l'enzima GAD con il parziale sequenziamento del gene Gadb. Alcuni biotipi resistono alle condizioni gastro-intestinali (GI) ed *in vitro* producono rilevanti quantità di GABA durante il transito GI (*pubblicazione 14*). In collaborazione con l'azienda Copharma-Giuliani S.r.l. è stato messo a punto un procedimento che prevede l'uso di batteri lattici selezionati per la produzione di GABA su surplus agro-alimentari come mosto d'uva o latticello da impiegare vantaggiosamente in campo dermatologico o come integratore alimentare (*pubblicazioni 27, 48*). L'utilizzo di mosto d'uva diluito fino ad ottenere una concentrazione finale di zuccheri fermentescibili pari all'1% o al 4% ha permesso di ottenere sintesi di GABA superiore rispetto a quella precedentemente riscontrata in latte. Le condizioni ottimali sono risultate essere: pH 6,0, densità cellulare iniziale del ceppo GABA-produttore (*Lactobacillus plantarum* DSM19463) pari a log 7,0 ufc/ml, aggiunta di 18,4 mM di L-glutammato. Tali condizioni hanno permesso la sintesi di GABA alla concentrazione di 4,83 mM (fermentazione a 30°C per 72 ore). Il mosto fermentato è stato inoltre caratterizzato per elevate concentrazioni di niacina, minerali, polifenoli, e per un contenuto in cellule vitali pari a log 10 ufc/g. Il preparato fermentato è stato utilizzato per trattamenti su epidermide umano ricostruito (SkinEthic® Reconstructed Human Epidermis ed FT-skin tissue). L'effetto sulla regolazione trascrizionale dei geni responsabili della sintesi di beta-defensina-2 (*HBD-2*), ialuronano sintetasi (*HASI*), filaggrina (*FGR*), e involucrina è stato studiato mediante RT-PCR. Comparando il liofilizzato a medesime concentrazione di

GABA di sintesi è stato riscontrato effetto di up-regolazione simile su *HBD-2*, maggiore sui geni *HAS1* ed *FGR* (*pubblicazione 27*)

Batteri lattici GABA produttori sono stati utilizzati con successo per la produzione di GABA (e contestualmente di peptidi ad attività ipertensiva) su farine di frumento e segale (*pubblicazione 18*), ottimizzando le condizioni di fermentazione degli impasti (DY 160, 24-48h, 30°C) con l'ottenimento di ca. 258 mg/kg di GABA. Seguendo lo stesso approccio, farine di amaranto, quinoa, grano saraceno e cece sono state fermentate con ceppi GABA-produttori ottenendo concentrazioni finali nell'intervallo 600-1100 mg/kg. Un impasto ottenuto dalla miscela delle quattro farine ed inoculato con *Lactobacillus plantarum* C48 (ca. 10<sup>7</sup> CFU/g) è stato utilizzato per la produzione di pane (con aggiunta di farina di frumento) seguendo la procedura comunemente impiegata per la produzione di lievitati da forno con lievito naturale (*pubblicazione 29*). Comparato ad un pane controllo ottenuto da sola farina di frumento, il pane sperimentale risultava contenere elevate concentrazioni di GABA, elevate attività antiossidante e ridotto indice glicemico.

#### *a6) chinoni ad attività antitumorale*

Negli ultimi anni, numerosi studi hanno descritto l'attività citotossica del germe di grano fermentato verso linee cellulari tumorali umane, raccogliendo evidenze dell'attività anticancerogena *in vitro* ed *in vivo*. Tale attività è principalmente legata alla presenza di due chinoni (2-methoxy benzoquinone e 2,6-dimethoxybenzoquinone). In quest'ottica, è stato condotto uno studio (*pubblicazione 51*) mirato a valutare la capacità di batteri lattici selezionati di rilasciare tali composti nella matrice (germe di grano) partendo dai precursori glicosilati, di cui la matrice è naturalmente ricca. Preliminarmente, isolati di batteri lattici autoctoni sono stati caratterizzati per l'attività  $\beta$ -glucosidasi, selezionando *Lactobacillus plantarum* LB1 e *Lactobacillus rossiae* LB5 per l'utilizzo come starter. Durante la lunga fermentazione degli impasti, il rilascio dei chinoni è stato monitorato e comparato ad un controllo non incubato, dimostrando che il rilascio è completo dopo le prime 24 ore di fermentazione. La concentrazione dei due composti aumenta rispettivamente di 4 e 6 volte rispetto al controllo. L'attività antiproliferativa del germe di grano fermentato è stata testata su numerose linee cellulari tumorali, incluse cellule del colon e ovariche umane, calcolando valori di IC<sub>50</sub> tra 0,105 ± 0,005 e 0,556 ± 0,071 mg/ml, valori che lasciano ipotizzare un impiego nel settore farmaceutico

### **b) Biotecnologie per la produzione di alimenti ed ingredienti funzionali e gluten-free mediante fermentazioni microbiche di matrici vegetali**

*b1) Uso di batteri lattici e microrganismi probiotici per la riduzione dei fenomeni di intolleranza al glutine e messa a punto di protocolli biotecnologici per la produzione di alimenti gluten-free o a ridotto contenuto in glutine a base di farina di frumento*

L'intolleranza al glutine (Celiac Sprue) è una delle intolleranze alimentari più diffuse al mondo. L'unico rimedio per la popolazione affetta da celiachia è rappresentato da una dieta assolutamente priva di glutine. Allo stato attuale delle conoscenze, le ricerche condotte al riguardo hanno considerato approcci di miglioramento genetico dei cereali e l'uso di sostanze protettive o enzimi come integratori nella dieta. Recenti studi hanno testimoniato le potenzialità proteolitiche di batteri lattici del lievito naturale nella degradazione di gliadine e peptidi, derivati da tali frazioni proteiche, responsabili dello stato infiammatorio intestinale alla base dell'intolleranza. Su questi presupposti si è inteso valutare la capacità di una miscela di microrganismi probiotici, di ridurre la tossicità delle farine di frumento durante una lunga fermentazione (*pubblicazione 6*). La miscela probiotica considerata è risultata attiva sui peptidi 62-75 (450  $\mu$ M) e 33mer (200  $\mu$ M), provocandone l'idrolisi completa. Analisi elettroforetiche bidimensionali e spettrometriche (MALDI-TOF) hanno confermato una idrolisi quasi totale delle prolamine in seguito alla lunga fermentazione degli impasti contenenti 10<sup>9</sup> ufc/g di microrganismi probiotici. Analisi immunologiche di tipo western-blot, che hanno previsto l'utilizzo dell'anticorpo monoclonale R5, hanno confermato che la degradazione delle prolamine coinvolge effettivamente gli epitopi immunoreattivi. Le prolamine trattate con la preparazione probiotica hanno provocato una minore riorganizzazione della F-actina in cellule IEC-6 di ratto e il rilascio di zonulina da parte di cellule dell'epitelio intestinale in presenza di gliadine subisce una drastica riduzione a seguito del trattamento con il preparato cellulare probiotico. Test di agglutinazione condotti su cellule K562 (S) hanno inoltre dimostrato che il digerito peptico-triptico di farina di frumento fermentato con la miscela probiotica ha incrementato la MAC (minimal agglutinating activity) di circa 100 volte. L'infiltrazione di linfociti CD3+

valutata su biopsie di mucosa intestinale di pazienti celiaci, è risultata simile al controllo negativo nel caso del trattamento delle prolammine con il preparato probiotico.

Attualmente le norme riguardanti etichettatura e commercializzazione degli alimenti per celiaci, riconoscono una quantità di glutine massima pari a 20 ppm (Codex Alimentarius). Recentemente è stato messo in evidenza che, anche in condizioni di dieta senza glutine, i soggetti celiaci sono soggetti a complicazioni gravi a lungo termine, come infertilità, sterilità, neoplasie. Nell'ottica di produrre alimenti a basso contenuto in glutine (meno di 20 ppm), tollerati dai celiaci, a base di farina di frumento, sono state condotte delle sperimentazioni in cui la proteolisi a carico di gliadine e glutenine (anch'esse implicate nei meccanismi di tossicità) è stata condotta complementariamente mediante lattobacilli selezionati per attività proteolitica e peptidasica (specifica verso peptidi contenenti prolina) e proteasi commerciali comunemente impiegate in panificazione (ottenute da *Aspergillus* sp.), durante lunghe fermentazioni degli impasti (*pubblicazioni 10, 12*). Scopo delle prove di laboratorio, mettere a punto un protocollo biotecnologico applicabile su scala industriale, per la produzione di alimenti da forno per celiaci. L'entità della degradazione proteica è stata stimata mediante elettroforesi SDS-PAGE e bidimensionale, analisi cromatografiche e spettrometriche, analisi immunologiche (R5 ELISA sandwich e competitiva, Western blot R5) ed *in vitro* su prelievi biotici da pazienti celiaci volontari, misurando la produzione di interferone gamma, la proliferazione linfocitaria e l'infiltrazione delle cellule CD3+. (*pubblicazione 12*).

Successivamente, la farina detossificata è stata utilizzata per la produzione di lievitati da forno dolci mediante aggiunta di burro, zucchero ed acqua. Tali prodotti sono stati utilizzati in due challenge clinici indipendenti, condotti presso il Dipartimento di Pediatria della "Sapienza", Università di Roma e presso il Dipartimento di Pediatria e Gastroenterologia dell'Università di Napoli Federico II. La sperimentazione ha previsto la somministrazione di prodotti contenenti circa 100 g di farina trattata, corrispondenti a 8-10g di glutine equivalente, a soggetti celiaci, in età pediatrica, in remissione (in regime di dieta gluten-free). I risultati degli indici immunochimici, istologici, sierologici, ematologici e di permeabilità intestinale di tutti i pazienti hanno confermato l'assenza di tossicità della farina di frumento dopo 60 giorni di assunzione continuativa. In particolare, il Marsh Grade, che rappresenta lo stato di integrità e funzionalità della mucosa intestinale, rilevato su prelievi biotici, è risultato identico allo stato rilevato nei medesimi soggetti all'inizio del trial (*pubblicazioni 33 e 36*). I meccanismi di degradazione del glutine durante la fermentazione sono stati approfonditi, impiegando, in modo complementare, tecniche elettroforetiche, cromatografiche e di spettrometria di massa, al fine di descrivere l'idrolisi del glutine e degli epitopi immunogenici coinvolti nella celiachia. Pertanto, nove peptidasi parzialmente purificate dagli estratti citoplasmatici dei lattobacilli selezionati sono state usate, in differenti combinazioni, per idrolizzare il peptide 33-mer, l'epitopo maggiormente immunogenico che si genera durante la digestione del glutine. E' stato osservato che per idrolizzare il 33-mer, senza generare altri peptidi immunogenici, è necessario l'uso contemporaneo di almeno tre peptidasi a diversa specificità. Inoltre, dopo 14 h di incubazione con una combinazione di almeno sei peptidasi a differente specificità, il 33-mer è stato completamente idrolizzato ad aminoacidi liberi. Lo stesso risultato è stato osservato anche con altri peptidi immunogenici, quali i frammenti 57-58 dell' $\alpha$ 9-gliadina, 62-75 della A-gliadina e 134-153 della  $\gamma$ -gliadina. Successivamente, un impasto di semola è stato incubato con una combinazione di tutte le differenti peptidasi. In questo caso, gli enzimi hanno causato l'idrolisi del glutine ad una concentrazione residua di ca. 2 ppm (*pubblicazione 28*).

La farina di frumento detossificata è stata successivamente impiegata per la produzione di pasta gluten-free (*pubblicazione 54*). Una volta messo a punto il protocollo biotecnologico per la produzione della pasta, un approccio integrato è stato impiegato per la caratterizzazione degli aspetti nutrizionali, tecnologici e sensoriali del prodotto, in comparazione a prodotti del medesimo comparto produttivo.

Il protocollo per la completa degradazione del glutine è stato inoltre modificato, ponendo come obiettivo la realizzazione di un pane sperimentale a ridotto contenuto in glutine, per cui in più moderate condizioni di idrolisi. Tale prodotto, caratterizzato da un punto di vista nutrizionale, tecnologico e sensoriale, può costituire una valida alternativa ai soggetti affetti da sensibilità al glutine, la cui prevalenza appare, ai nostri giorni, in continua crescita (*pubblicazione 53*).

A margine delle ricerche improntate sull'obiettivo della modifica della matrice proteica degli ingredienti mediante fermentazioni con batteri lattici, è stato effettuato uno studio riguardante lo studio del microbiota intestinale attraverso analisi microbiologiche di campioni fecali di pazienti celiaci al momento della diagnosi della celiachia o sotto regime alimentare gluten-free, comparando i risultati a quelli di pazienti sani. Lo studio ha incluso anche le analisi del metaboloma, confermando l'ipotesi che la celiachia comporti variazioni nel microbiota intestinale, e che la dieta gluten-free parzialmente ripristini gli equilibri tra i diversi gruppi microbici e il metaboloma relativo (*pubblicazione 24*).

### *b2) Uso di batteri lattici del lievito naturale e microrganismi probiotici per la degradazione di allergeni da cereali*

I cereali ed i prodotti da essi derivati sono tra gli alimenti maggiormente coinvolti in reazioni di ipersensibilità. E' stato stimato che più del 2% della popolazione adulta dei Paesi sviluppati soffre di reazioni di ipersensibilità mediate da Ig-E dovute all'ingestione di alimenti, tra cui cereali, e che tali patologie sono in continuo aumento. Il lavoro effettuato ha avuto il duplice obiettivo di identificare le proteine allergeniche e di individuare le condizioni di idrolisi utilizzando ceppi di batteri lattici isolati da lievito naturale e ceppi probiotici forniti dalla ditta VSL Pharmaceuticals (preparazione VSL#3).

Il lavoro di ricerca ha riguardato sia la degradazione delle proteine allergeniche da frumento durante la fermentazione degli impasti cui sono stati addizionati lattobacilli isolati dal lievito naturale e microrganismi probiotici, sia l'allergenicità dei prodotti da forno da questi ottenuti. La valutazione dell'allergenicità sui prodotti finali ha consentito di valutare la variazione del potenziale allergenico a seguito dei processi tecnologici, come la cottura. Indagini ulteriori hanno riguardato l'azione complementare operata sulle proteine allergeniche dei prodotti finiti sia dalla digestione enzimatica nel tratto gastro-intestinale che da microrganismi probiotici in grado di colonizzare il suddetto tratto. L'idrolisi degli allergeni è stata valutata mediante elettroforesi SDS-PAGE, RP-HPLC ed analisi immunologiche, per le quali è stato utilizzato un pool di sieri di pazienti affetti da allergie alimentari al frumento legate a sintomi gastrointestinali. La proteolisi di albumine, globuline e gliadine durante la fermentazione degli impasti è stata stimata mediante elettroforesi bidimensionale.

I risultati ottenuti dimostrano la capacità di lattobacilli del lievito naturale di idrolizzare sensibilmente gli allergeni della farina di frumento durante una prolungata fermentazione degli impasti. Tale capacità, combinata all'azione degradativa dovuta alla digestione gastrica e all'attività dei probiotici, porta ad una totale idrolisi degli allergeni nei prodotti lievitati da forno. Le prove di immunoblotting sono state ulteriormente condotte su lievitati da forno a base di farina di segale, sui quali l'attività degradativa operata dai batteri lattici e la successiva digestione enzimatica, portano ad una totale scomparsa del segnale delle bande allergeniche (70 e 35 kDa) (*pubblicazione 8*).

Come dimostrato mediante immunoblotting, molte proteine allergeniche persistono dopo la digestione enzimatica con pepsina e pancreatina dei pani ottenuti con solo lievito di birra; il segnale però non è più rilevabile in seguito all'ulteriore trattamento con la miscela di microrganismi probiotici VSL#3. E' stato inoltre dimostrato che VSL#3 utilizzato come starter nella produzione del pane, conduce ad una spinta degradazione delle proteine da frumento, alcune delle quali riconosciute da IgE specifiche del pool di sieri utilizzato (es. inibitore dell' $\alpha$ -amilasi, fattore di trascrizione APFI). Inoltre, il profilo relativo alle proteine immunoreattive di tale pane differisce notevolmente da quello di un pane ottenuto mediante fermentazione classica con lievito di birra, e nessuno degli allergeni riconosciuti persiste al trattamento di digestione enzimatica in vitro (*pubblicazioni 7, 11, 31*).

### *b3) Lievitazione naturale ed effetto sull'indice glicemico dei prodotti lievitati da forno*

L'indice glicemico (IG) è utilizzato come strumento per classificare gli alimenti in funzione del loro effetto sulla glicemia postprandiale. Nell'ultimo rapporto della FAO/WHO è fortemente raccomandato un incremento di alimenti a basso IG nella dieta quotidiana. Sulla base di studi epidemiologici, lo sviluppo di prodotti a basso IG sembra essere particolarmente rilevante da un punto di vista metabolico. Alcuni studi hanno difatti dimostrato l'effetto terapeutico di tali alimenti in pazienti con diabete e la loro potenziale azione preventiva contro il diabete di tipo II e contro infarti miocardiali. Una parte dell'attività di ricerca è stata dedicata allo sviluppo di un processo biotecnologico per abbassare l'IG di prodotti lievitati da forno. In collaborazione con l'industria Beldem S.A., Belgium è stato prodotto un pane con IG più basso rispetto al pane commerciale utilizzando come starter per la fermentazione alcuni batteri lattici isolati dal lievito naturale e addizionando al prodotto fibre alimentari. L'amido potenzialmente disponibile e l'amido resistente (RS) sono stati valutati mediante una procedura *in vitro*. Il pane integrale addizionato di farina di segale e crusca di frumento e fermentato con *Lactobacillus plantarum*, ha mostrato la più alta percentuale di amido resistente rispetto al pane controllo. L'IG, determinato in vivo, è risultato pari a 53.7%. In comparazione con il pane prodotto mediante uso esclusivo di lievito di birra, l'uso del lievito naturale selezionato, secondo il protocollo proposto e le relative varianti biotecnologiche, consente un miglioramento delle caratteristiche sensoriali e nutrizionali e sensibile riduzione del valore di IG (*pubblicazione 15*).

In collaborazione con l'azienda Interpan (Gruppo Novelli) sono state realizzate nuove prove, partendo da una selezione di batteri lattici da lievito naturale, basata sull'acidificazione. *Lb. sanfranciscensis* DPPMA12, *Lb. plantarum* DPPMA55 e DPPMA56, aventi le performance migliori, sono state monitorati quotidianamente per 30 giorni in lievito naturale. Tre pani sono stati prodotti: pane bianco con lievito naturale (WSB), pane bianco con lievito naturale arricchito con fibre di avena e segale (WSB-DF) e pane bianco con solo lievito di birra (WYB). Prima della cottura, i pani WSB-DF e WSB hanno mostrato una attività fitasica circa tre volte superiore rispetto al pane WYB. Inoltre, gli stessi pani hanno maggiore volume specifico e risultano migliori alle analisi sensoriali. Dal confronto fra le tre tipologie di pane, il pane WSB-DF ha un più alto livello di fibra alimentare (DF) ed un indice di idrolisi dell'amido in vitro (HI) più basso del pane WSB (59 e 86% rispettivamente). Il pane WYB è stato utilizzato come controllo (HI = 100%). Sulla base di queste caratteristiche, il pane WSB-DF è stato selezionato per le determinazioni *in vivo* dell'indice glicemico. Dallo studio su 20 volontari, il valore dell'indice glicemico (GI) per il pane WSB-DF è risultato 41%, utilizzando glucosio come controllo (*pubblicazione 17*).

#### *b4) Utilizzo di batteri lattici selezionati per la fermentazione di matrici vegetali e potenzialità probiotiche*

Nell'ottica di indagare sulla possibilità di ottenere nuovi alimenti funzionali, è stata presa in esame la produzione di olive da mensa con cellule probiotiche. L'ancoraggio sulle olive ha garantito l'integrità dei batteri e la stabilità delle popolazioni durante il trasferimento nel tratto gastro-intestinale umano e il loro rilascio in condizioni di vitalità. Una porzione di 10 olive può garantire un apporto di batteri probiotici -ceppi appartenenti alle specie *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum* e *B. longum*- superiore a  $10^6$  e fino a  $10^9$  ufc. In particolare, i risultati ottenuti con il ceppo *Lb. paracasei* LMG P-22043, avente importanti caratteristiche probiotiche, hanno dimostrato che le sue cellule, ancorate sulla superficie delle olive utilizzate nell'alimentazione, sono state in grado di colonizzare l'intestino dei soggetti utilizzatori incrementandone la microflora intestinale, dimostrando l'efficacia del prodotto nel "trasporto" di rilevanti popolazioni di batteri probiotici vitali. Il prodotto, preparato includendo sospensioni del microrganismo desiderato in preparazioni di olive da mensa, può essere conservato a temperatura ambiente per circa 3 mesi. Le olive e gli alimenti a base di olive "probiotiche" possono quindi apportare una quantità di batteri sufficiente ad esercitare una azione salutistica o possono contribuire al "fabbisogno" quotidiano di microrganismi probiotici necessari al mantenimento della salute gastro-intestinale (*pubblicazione 5*). L'uso del prodotto risulta particolarmente vantaggioso laddove non sia possibile la somministrazione di alimenti probiotici derivati del latte.

Gli alimenti di origine vegetale sono fortemente raccomandati nella dieta, poiché ricchi in antiossidanti, vitamine, fibra alimentare e sali minerali. Una consistente frazione di tali alimenti viene consumata dopo trattamenti tecnologici minimi, tra i quali può essere inclusa la fermentazione. Gli alimenti di origine vegetale minimamente trattati hanno una breve shelf-life a causa del deterioramento provocato dal microbiota contaminante. La fermentazione lattica dei vegetali consente di migliorare alcuni aspetti nutrizionali e di prolungare la shelf-life di tali prodotti, evitando al tempo stesso di sottoporre questi ultimi a trattamenti più drastici (es. pastorizzazione) che alterano negativamente le caratteristiche nutrizionali. Ceppi appartenenti alle specie *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* e *Weissella confusa* sono stati isolati da peperoni gialli e rossi, identificati sulla base della sequenza del gene 16S rDNA e tipizzati. *Lactobacillus plantarum* PE21, *Lactobacillus curvatus* PE4 and *weissella confusa* PE36 sono stati selezionati sulla base delle cinetiche di crescita ed acidificazione, ed usati come starter misto per la fermentazione. Il protocollo di produzione sperimentale ha previsto un trattamento termico a 85°C per 2 min (per agevolare la pelatura), fermentazione a 35°C per 15 h in salamoia (1% p/v), un trattamento termico a 85°C per 15 min, seguito da uno stoccaggio a temperatura ambiente con o senza immersione in olio di semi di girasole. La densità cellulare dei batteri lattici starter aumenta progressivamente durante la fermentazione sostituendo la i batteri lattici presenti nella materia prima e provocando una acidificazione (pH < 3,7) rapida, con una significativa riduzione degli zuccheri fermentescibili, e l'inibizione di enterobatteri e lieviti. Dopo 30 giorni di conservazione, i peperoni fermentati con il pool di starter selezionati sono stati caratterizzati per firmness e indici colorimetrici significativamente più elevati rispetto al controllo (*pubblicazione 22*).

Lo studio del microbiota su frutti freschi di ananas ha portato all'identificazione di isolati riconducibili alla specie *Pichia guilliermondii* e, tra i batteri lattici, di ceppi appartenenti principalmente alle specie *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus rossiae*. *L. plantarum* 1OR12 e *L. rossiae* 2MR10 sono stati selezionati, tra gli isolati, sulla base delle cinetiche di crescita ed acidificazione. Sono state valutate cinque differenti opzioni tecnologiche (incluso il "minimal processing") per il trattamento dei frutti: trattamento

termico a 72°C per 15 secondi (HP), fermentazione spontanea su frutto fresco (FP) o successiva al trattamento HP (FHP) e fermentazione con gli starter autoctoni *L. plantarum* 1OR12 e *L. rossiae* 2MR10 su frutti freschi (SP) o trattati termicamente (HSP). Dopo 30 giorni di conservazione a 4°C, la densità cellulare di batteri lattici in HSP ed SP è risultata da 1000 a 1000000 volte superiore rispetto alle altre tesi. Il numero di lieviti invece risultava inferiore rispetto alle altre tesi considerate. L'analisi del profilo di risposta catabolica ha confermato la migliore capacità degli starter di condurre la fermentazione rispetto alla microflora spontanea. Le tesi HSP ed SP, inoltre, hanno mostrato la più alta attività antiossidante e la maggiore firmness, assieme alla migliore conservazione del colore ed al più gradevole profilo organolettico (pubblicazione 26). Uno studio simile è stato portato avanti su melograno, frutto per il quale è stato messo a punto un protocollo biotecnologico per la fermentazione mediante batteri lattici selezionati e la produzione di un succo, caratterizzato per il profilo nutrizionale/funzionale (pubblicazione 49).

Ceppi delle specie *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* sono stati isolati su frutti di 8 differenti cultivar di ciliegio, identificati mediante parziale sequenziamento del gene 16SrRNA, e tipizzati mediante RAPD-PCR. Isolati rappresentativi di ciascuna specie e cultivar sono stati selezionati sulla base dei parametri di crescita ed acidificazione su purea contenente il 10% (vol/vol) di infusione di picciolo (CP-SI). Il lavoro di ricerca ha previsto la messa a punto di un protocollo per il processo e la conservazione, comprensivo di fermentazione con gli starter *P. pentosaceus* SWE5 e *L. plantarum* FP3 (started CP-SI) o spontanea (unstarted CP-SI). I batteri lattici starter hanno mostrato crescita rapida e vitalità elevata (log 9 ufc/g) durante la conservazione (60 giorni a 4 °C). Il numero di batteri lattici nei campioni non inoculati non ha superato log 3 ufc/g (pubblicazione 37).

Con lo stesso approccio, ceppi riconducibili alle specie *Weissella cibaria*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus* sp. e *Lactobacillus pentosus* sono stati isolati e poi identificati su base molecolare su more, prugne, kiwi, papaya e finocchio. Tra gli isolati è stata effettuata una selezione basata sulle cinetiche di crescita ed acidificazione in succo, con l'obiettivo di mettere a punto un protocollo biotecnologico per la produzione di vellutate (red/green smoothies: RS ed GS, rispettivamente) (pubblicazione 39). Durante la fermentazione e la conservazione delle puree sono state studiate le cinetiche di utilizzo dei carboidrati fermentescibili, così come sono stati evidenziati il consumo di acido malico e di aminoacidi liberi (questi ultimi utilizzati in maniera prevalente durante la conservazione). La concentrazione di polifenoli totali e antocianine nei fermentati è risultata invariata rispetto ai controlli. L'attività antiossidante, la viscosità e gli indici colorimetrici dei fermentati inoculati con gli starter selezionati sono risultati migliori rispetto ai controlli, così come gli attributi organolettici esaminati mediante analisi sensoriale.

Secondo un approccio destinato a migliorare le proprietà antiossidanti della materia prima, la fermentazione lattica mediante starter selezionati è stata anche impiegata su *Echinacea* spp. e *Myrtus communis* con lo scopo di formulare un integratore alimentare e/o una preparazione dermatologica (pubblicazioni 50 e 69).

Inoltre, sono state valutate le potenzialità adattative (pubblicazioni 57, 59) di *Lb. plantarum*, largamente isolato nelle matrici descritte precedentemente, e le potenzialità probiotiche dei batteri lattici isolati da vegetali (pubblicazione 46).

In particolare, la sopravvivenza dei ceppi alle condizioni gastro-intestinali simulate in vitro è stata osservata per il 35% degli isolati saggiati, quasi per la maggior parte appartenenti alla specie *Lb. plantarum*. Tali ceppi non inducono risposta immunitaria da parte delle cellule Caco-2, mentre stimolano la risposta immunitaria di cellule PBMC (peripheral blood mononuclear cells). È stato riscontrato un significativo aumento della maggior parte delle citochine e dei fattori di crescita. Anche la produzione di alcune chemochine è risultata stimolata. La produzione di immuno-mediatori correlati all'attività pro-infiammatoria IL-17, EOTAXIN e IFN $\gamma$  è risultata significativamente aumentata da tutti gli isolati selezionati, così come per IL-1b, IP-10, IL-6 ed MIP1 $\alpha\beta$ . La stimolazione di IL-12, IL-2 e IL-7 è invece risultata ceppo-dipendente. Solo alcuni ceppi sono in grado di stimolare la sintesi di citochine ad attività antinfiammatoria. Sei ceppi di *L. plantarum* risultano caratterizzati da elevata capacità di adesione (40 cellule batteriche per singola Caco-2), sono in grado di crescere utilizzando frutto-oligosaccaridi come unica fonte di carbonio, ed inibiscono la crescita di *Escherichia coli* K12 e *Bacillus megaterium* F6. Sulla base di queste caratteristiche si può concludere che anche alcuni ceppi isolati da matrici vegetali possano essere considerati potenziali probiotici, ipotizzandone un impiego nell'industria alimentare e farmaceutica.

**c) Biotecnologie per la valorizzazione di sottoprodotti della molitura, cereali minori, leguminose e pseudocereali, mediante l'impiego di batteri lattici selezionati, per il**

## miglioramento degli aspetti tecnologici/nutrizionali/funzionali/sensoriali dei lievitati da forno

### *c1) Cereali africani e dell'area del Mediterraneo*

Tra i cereali minori, l'utilizzo del farro (*Triticum spelta*, *T. monococcum*, *T. dicoccum*) è oggetto di una intensa rivalutazione, grazie alle proprietà nutrizionali e tecnologiche che lo caratterizzano. L'attività di ricerca è stata finalizzata allo studio del microbiota del farro e alla selezione di batteri lattici autoctoni da impiegare come starter nella produzione di lievitati da forno. L'identificazione dei ceppi di batteri lattici isolati dalla materia prima è stata condotta mediante il parziale sequenziamento dei geni 16S rDNA, *recA* e *pheS*. Tra le tre specie considerate, la farina di spelta ha mostrato la maggiore biodiversità, mentre *Lactobacillus plantarum* è risultata la specie dominante nelle farine di monococco e dicocco. Gli isolati sono stati tipizzati mediante RAPD-PCR e successivamente utilizzati singolarmente come starter per la fermentazione di impasti a base di farro e selezionati sulla base delle cinetiche di crescita ed acidificazione, quoziente di fermentazione e produzione di aminoacidi liberi. Gli starter selezionati sono stati impiegati per la produzione di pane secondo la tecnologia a due fasi tradizionalmente impiegata per i prodotti da forno a lievitazione naturale. Impasti inoculati con i medesimi starter, ma prodotti con farina di frumento, sono stati comparati ai pani di farro. I lieviti naturali prodotti con le farine di farro hanno mostrato, al termine della fermentazione, concentrazione in aminoacidi liberi, acidità di titolazione ed attività fitasica maggiori rispetto ai controlli ottenuti con farina di frumento. I parametri tecnologici dei lievitati (volume specifico, alveolatura della mollica) e le analisi sensoriali, hanno evidenziato potenzialità di utilizzo della materia prima. I risultati evidenziano la necessità e l'efficacia dell'utilizzo della lievitazione naturale, ed in particolare degli starter selezionati autoctoni, nel processo di produzione di lievitati da forno a base di farro (*pubblicazione 23*).

Con lo stesso approccio, la caratterizzazione microbiologica e la selezione di batteri lattici da utilizzare come starter sono stati effettuati sui cereali africani *acha* (*Digitaria exiliis*) e *iburu* (*Digitaria iburua*). Tali specie sono di particolare interesse per l'economia locale (Africa centrale). Gli starter selezionati sono stati utilizzati per la produzione di lieviti naturali da impiegare nella produzione di pani secondo il tradizionale processo a due step fermentativi. Durante la fermentazione degli sfarinati, gli starter hanno mostrato crescita simile a quella ottenibile su farina di frumento e maggiore acidificazione. Il lievito naturale prodotto con *iburu* è stato caratterizzato da maggiore acidità di titolazione, minore pH, maggiore concentrazione di aminoacidi liberi ed elevata attività fitasica. L'analisi della digeribilità delle proteine (in vitro) ha evidenziato valori simili al frumento per *acha*, inferiori per quanto concerne *iburu*. I pani sono stati caratterizzati per parametri nutrizionali, strutturali ed attributi sensoriali, concludendo che la lievitazione naturale con starter selezionati comporta un miglioramento qualitativo della materia prima e permette l'ottenimento di lievitati da forno nutrizionalmente ed organoletticamente validi (*pubblicazione 40*).

In una sperimentazione successiva, i batteri lattici autoctoni selezionati per la fermentazione del farro sono stati impiegati per la fermentazione di bevande di farro prodotte con farina tal quale, farina gelatinizzata e malto di farro in percentuali comprese nell'intervallo 5-30%. Analisi preliminari sono state condotte per stabilire la concentrazione di sfarinato (viscosità) e lo starter da impiegare (analisi sensoriali). *Lactobacillus plantarum* 6E è stato selezionato ed impiegato per la produzione di Quattro differenti tipologie di bevanda che sono state caratterizzate per concentrazione di acidi organici, carboidrati, aminoacidi, fibra alimentare, vitamine, attività fitasica ed antiossidante, profilo sensoriale, profilo dei composti volatili ed indice di idrolisi dell'amido (stima indiretta dell'indice glicemico). Tra le bevande, quella prodotta utilizzando il 30% di farina gelatinizzata è stata fermentata con ceppi produttori di EPS con lo scopo di migliorarne viscosità e palatabilità. E' stata inoltre riscontrata la sopravvivenza del probiotico *Lactobacillus rhamnosus* SP1 (aggiunto alla bevanda alla densità cellulare  $5 \times 10^8$  cfu/ml) per 30 giorni di conservazione a 4°C. Tra le differenti opzioni tecnologiche esaminate, quest'ultima sembra fornire il migliore protocollo applicativo per la produzione di una nuova bevanda funzionale (*pubblicazione 35*). Un protocollo simile, basato sull'impiego di batteri lattici come starter selezionati e fiocchi di avena come matrice da fermentare, è stato messo a punto successivamente (*pubblicazione n.61*) per l'ottenimento di una bevanda yogurt-like con proprietà funzionali.

Le farine ottenute da cultivar di grano Iraniane, Tunisine e Albanesi, sono state raccolte presso le nazioni di origine e caratterizzate chimicamente. L'analisi delle frazioni proteiche, nello specifico delle gliadine e glutenine, è stata effettuata mediante elettroforesi bi-dimensionale (2DE). Le farine sono state impiegate per la preparazione e propagazione di lieviti naturali spontanei mediante la procedura del rinfresco quotidiano (backslopping) allo scopo di investigarne la comunità microbica. La tipizzazione e identificazione dei batteri lattici ha messo in evidenza che le specie di *Pediococcus pentosaceus*, *Weissella cibaria*, *Lactobacillus plantarum*, e *Leuconostoc mesenteroides* erano dominanti. I batteri lattici isolati sono stati sottoposti ad una

caratterizzazione e selezione basata principalmente su alcuni tratti metabolici che si riflettono sulle principali proprietà tecnologiche del lievito naturale (cinetica di crescita e acidificazione, quoziente di fermentazione e attività proteolitica). Quelli che hanno mostrato le migliori performance sono stati impiegati per la preparazione di un pool di starter misto. L'impiego dei pool di starter, per la preparazione di lieviti naturali selezionati, ha favorito l'incremento delle concentrazioni di acidi organici e amminoacidi liberi, le attività fitasica e antiossidante, oltre che le proprietà tecnologiche dei pani ottenuti mediante l'impiego dei suddetti lieviti. I risultati di questi studi hanno evidenziato la peculiarità dei batteri lattici nel microbiota delle cultivar di grano provenienti da alcune aree del Mediterraneo e la loro potenzialità ad essere impiegati come starter selezionati allo scopo di valorizzare l'uso della lievitazione naturale (*pubblicazioni 62 e 64*).

### *c2) Sottoprodotti della molitura (germe di grano, crusche micronizzate)*

Il germe di grano rappresenta uno scarto della molitura, principalmente perché la frazione grassa in esso contenuta e l'elevata attività lipasica favoriscono l'irrancidimento delle farine che lo contengono. Il germe di grano costituisce però una importantissima fonte di proteine ad elevato valore biologico, sali minerali, fibra alimentare, vitamine e composti funzionali. I trattamenti di stabilizzazione mirati ad abbattere l'attività lipasica abbattano anche la qualità nutrizionale del prodotto. Per questo motivo, la possibilità di stabilizzare il germe di grano mediante la fermentazione con batteri lattici è stato oggetto di ricerca. In una prima fase della sperimentazione, il microbiota del germe di grano è stato studiato mediante metodi coltura dipendenti. I batteri lattici presenti sono stati identificati mediante parziale sequenziamento del gene 16S rDNA e tipizzati mediante RAPD-PCR. Gli isolati sono stati selezionati sulla base della rapidità di acidificazione e successivamente i ceppi *Lactobacillus plantarum* LB1 e *Lactobacillus rossiae* LB5 sono stati impiegati come starter misto per la fermentazione della materia prima (DY 160, 24h a 30°C). Le caratteristiche del germe di grano fermentato sono state comparate con la materia prima tal quale. Come conseguenza dell'acidificazione, l'attività lipasica nel fermentato è ca. 3 volte inferiore al controllo. Come dimostrato da analisi SPME/GC/MS, i composti volatili derivanti dall'ossidazione dei lipidi durante la conservazione (40 giorni a temperatura ambiente) risultano marcatamente inferiori rispetto al controllo conservato nelle medesime condizioni. La fermentazione con batteri lattici comporta inoltre l'aumento del 50% della concentrazione degli amminoacidi liberi, la riduzione del 40% del raffinoso (considerato fattore antinutrizionale), l'aumento della digeribilità delle proteine, della concentrazione totale di polifenoli, delle attività fitasica e antiossidante, della concentrazione in GABA (*pubblicazione 25*). Il germe di grano fermentato, liofilizzato e rimacinato, è stato utilizzato come ingrediente per migliorare la qualità del pane di frumento. Come dimostrato dalle determinazioni analitiche infatti, l'aggiunta di germe di grano fermentato comporta un miglioramento delle proprietà nutrizionali (amminoacidi liberi, digeribilità delle proteine), funzionali (attività fitasica ed antiossidante, contenuto in GABA, fibra alimentare), strutturali (volume specifico, hardness, fracturability, colore della crosta, alveolatura della mollica) ed organolettiche (*pubblicazione 30*). Con l'obiettivo di valorizzare i sottoprodotti della molitura, si sta recentemente diffondendo l'impiego di tecnologie alternative mirate a modificare le caratteristiche fisiche delle frazioni cruscali dei cereali, in modo da migliorarne le performance tecnologiche. In quest'ottica è frazioni cruscali sottoposte a micronizzazione combinata a frazionamento con aria in pressione sono state utilizzate per arricchire la farina di frumento raffinata da impiegare in processi di lievitazione naturale per l'ottenimento di prodotti da forno. In particolare, due frazioni cruscali caratterizzate da differenti granulometria, contenuto in fibra, grassi, e proteine sono state aggiunte al 5% alla formulazione di impasti di farina di frumento fermentati con i batteri lattici selezionati *Lactobacillus sanfranciscensis* DE9 e *Lactobacillus plantarum* 3DM. Gli impasti e i lievitati da forno sono stati comparati a controlli prodotti senza l'aggiunta delle frazioni cruscali o lievitati esclusivamente con lievito di birra. L'aggiunta delle frazioni cruscali non modifica le cinetiche di crescita ed acidificazione degli starter, ma incrementa la concentrazione in amminoacidi liberi, polifenoli totali, fibra alimentare e le attività fitasica ed antiossidante. La fermentazione con batteri lattici permette un miglioramento delle proprietà strutturali e sensoriali, un ulteriore aumento della qualità nutrizionale e una riduzione significativa dell'indice di idrolisi dell'amido (*pubblicazioni 44, 58, 66*).

### *c3) Leguminose*

I legumi sono una importantissima fonte alimentare proteica, essendo caratterizzati, inoltre, da un bilancio di amminoacidi essenziali migliore, nutrizionalmente, rispetto a quello dei cereali. Tuttavia, essi contengono diversi fattori antinutrizionali (lectine, inibitori di proteasi, tannini condensati, raffinoso) con effetti negativi sulla salute del consumatore. La decorticazione, la germinazione, la cottura e la

fermentazione sono tecniche largamente riconosciute per la diminuzione dell'effetto nocivo di tali composti. Diciannove varietà di legumi italiani, appartenenti alle specie *Phaseolus vulgaris*, *Cicer arietinum*, *Lathyrus sativus*, *Lens culinaris* e *Pisum sativum* sono state studiate (pubblicazione 65). La loro composizione e il potenziale ruolo della fermentazione con batteri lattici sul profilo nutrizionale/funzionale sono stati studiati. *Lactobacillus plantarum* C48 e *Lactobacillus brevis* AM7 sono stati utilizzati come starter per la fermentazione. Rispetto ai controlli, aumentano significativamente la concentrazione di aminoacidi liberi, GABA, fibre solubili, polifenoli, e le attività fitasica e antiossidante aumentano anch'esse. I fattori antinutrizionali raffinose e tannini condensati invece si riducono notevolmente. Con lo stesso approccio è stata trattata farina di fava, alla quale è stato preventivamente applicato un processo di separazione (air fractionation) basato sulla micronizzazione seguita da turbo-separazione (pubblicazione 63).

Sulla base dei risultati raccolti, farine di leguminose (cece, lenticchia e fagiolo) sono state impiegate per la produzione di pani a lievitazione naturale, in miscela con farine di cereali (pubblicazione 60). Lieviti naturali di tipo I, contenenti le farine singolarmente o in miscela e a diverse percentuali, sono stati preparati e propagati. Le specie isolate nei lieviti naturali maturi erano ascrivibili principalmente alle specie *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus fermentum*. Un pane contenente il 15% di lievito naturale prodotto con le farine di leguminose è stato prodotto e caratterizzato, dimostrando che concentrazione in aminoacidi e fibre, digeribilità e biodisponibilità di minerali risultavano maggiori rispetto al controllo, al contrario dell'indice di idrolisi dell'amido. Il pane è stato caratterizzato anche dal punto di vista sensoriale, evidenziandone l'apprezzamento da parte degli assaggiatori.

#### **d) Biotecnologie per il prolungamento della conservabilità microbiologica dei lieviti da forno:**

L'individuazione di composti ad effetto antimicrobico per ritardare le principali alterazioni dei prodotti lievitati da forno, dovute prevalentemente a contaminazioni fungine, appare un settore di ricerca di grande interesse, sia per la ricaduta applicativa ed industriale in termini di *shelf-life*, sia per la possibilità di sostituire gli attuali conservanti (etanolo e propionato di calcio) la cui salubrità e la cui influenza sul quadro organolettico sono molto dibattute.

L'individuazione di matrici naturali contenenti composti antifungini ha previsto lo screening di vegetali e sottoprodotti della molitura fermentati e non, batteri lattici isolati da lievito naturale e lieviti non convenzionali, utilizzando *Penicillium roqueforti* come indicatore.

Gli estratti acquosi di *Phaseolus vulgaris* cv Pinto (pubblicazione 20), *Amaranthus* spp. (pubblicazione 21), germe di grano fermentato (pubblicazione 38), da un idrolizzato di farina di *Pisum sativum* (pubblicazione 68) e quelli ottenuti dalla fermentazione di farina di frumento con *Lactobacillus brevis* AM7, *Lactobacillus plantarum* 1A7 e lieviti non convenzionali *Wickerhamomyces anomalus* LCF1695 (pubblicazione 42) e *Meyerozyma guilliermondii* (pubblicazione 47), hanno dimostrato una intensa attività antifungina *in vitro* e sono stati selezionati e caratterizzati per spettro e meccanismo d'azione.

Con lo scopo di individuare i composti responsabili dell'attività, gli estratti acquosi sono stati sottoposti a trattamenti termici, digestione enzimatica e purificati sequenzialmente mediante HPLC. I composti di natura proteica sono stati identificati mediante spettrometria di massa (nanoLC-ESI-MS/MS).

L'attività antifungina è stata attribuita a proteine di borlotto (phaseolin alpha-type precursor, phaseolin e erythroagglutinating phytohemagglutinin precursor), peptidi derivanti da agglutinine di amaranto, frammenti di proteine native di pisello con attività antifungina coinvolte nei meccanismi di difesa e ad una miscela di acidi organici (principalmente acido formico) nel caso del germe di grano fermentato. L'attività dei batteri lattici selezionati è risultata correlata a miscele di peptidi rilasciati durante la fermentazione, le cui sequenze non erano state riportate precedentemente in bibliografia. L'inibizione della crescita fungina da parte di *W. anomalus* è risultata correlata alla sintesi di una miscela di etanolo ed etil-acetato (rapporto molare 35:74), mentre nel caso di *M. guilliermondii* è stata riscontrata una elevata attività enzimatica litica nei confronti delle strutture cellulari esterne dei funghi contaminanti.

Prove di panificazione sono state effettuate in impianto pilota e la conservabilità microbiologica dei prodotti, opportunamente confezionati, monitorata per 21-28 giorni.

### **3.5 Pubblicazioni scientifiche (ALLEGATO 17)**

L'attività scientifica ha prodotto:

- **90** pubblicazioni su riviste internazionali (recensite ISI);
- **13** contributi in volume (capitoli o saggi);
- **8** pubblicazioni su riviste nazionali;
- **7** brevetti;
- **59** pubblicazioni su atti di convegni nazionali ed internazionali;

Il Prof. RIZZELLO ha ricevuto i seguenti **premi**:

- 1) "Great Taste and Wellness Award" alla ricerca scientifica dal titolo "Safety for patients with celiac disease of baked goods made of wheat flour hydrolyzed during food processing" conferito in occasione del Bakery and Confectionary Forum 2011, 9 Giugno 2011, Parma - IT.
- 2) Best poster award from the French Society for Microbiology (SFM) alla ricerca scientifica dal titolo "Antifungal activity of vegetable protein hydrolysates and selected sourdough starters during long-time storage of bread" conferito in occasione del VI Sourdough Symposium (Understanding the natural complexity), Nantes, France, 29.09.2015-02.10.2015. p. 97.

### 3.5.1 Pubblicazioni su riviste internazionali

- 1) Minervini F., Algaron F., **Rizzello C.G.**, Fox P.F., Monnet V., Gobbetti M. 2003. Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antibacterial peptides from *Lactobacillus helveticus* PR4 proteinase- hydrolyzed caseins of milk from six species. *Applied and Environmental Microbiology*, 69:5297-5305.
- 2) Gobbetti M., Minervini F., **Rizzello C.G.** 2004. Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. *International Journal of Dairy Technology*, 57:173-187.
- 3) Minervini F., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. 2004. Lactic acid bacteria: a tool to produce bioactive peptides. *Current Topics in Peptide & Protein Research*, 6:245-257.
- 4) **Rizzello C.G.**, Losito I., Gobbetti M., Carbonara T., De Bari M.D., Zambonin P.G. 2005. Antibacterial activities of peptides from the water-soluble extracts of Italian cheese varieties. *Journal of Dairy Science*, 88:2348-2360.
- 5) Lavermicocca P., Valerio F., Lonigro S.L., De Angelis M., Morelli L., Callegari M.L., **Rizzello C.G.**, Visconti A. 2005. Study of Adhesion and Survival of Lactobacilli and Bifidobacteria on Table Olives with the Aim of Formulating a New Probiotic Food. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 4233-4240.
- 6) De Angelis M., **Rizzello C.G.**, Fasano A., Clemente M.G., De Simone C., De Vincenzi M., Losito I., Gobbetti M. 2006. VSL#3 probiotic preparation has the capacity to hydrolyze gliadin polypeptides responsible for celiac sprue. *Biochimica et Biophysica Acta- Molecular Basis of Disease*, 1762: 80-93.
- 7) **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Coda R., Gobbetti M. 2006. Use of selected sourdough lactic acid bacteria to hydrolyze wheat and rye proteins responsible for cereal allergy. *European Food Research and Technology*, 223:405-411.

- 8) De Angelis M., Coda R., Silano M., Minervini F., **Rizzello C.G.**, Di Cagno R., Vicentini O., De Vincenzi M., Gobbetti M. 2006. Fermentation by selected sourdough lactic acid bacteria to decrease the intolerance to rye flour. *Journal of Cereal Science* 43:301-314.
- 9) Losito I., Carbonara T., De Bari M.D., Gobbetti M., Palmisano F., **Rizzello C.G.**, Zambonin P.G. 2006. Identification of antimicrobial peptides in cheese by electrospray ionization-ion trap mass spectrometry coupled to two-dimensional liquid chromatographic separation. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 20:447-454.
- 10) Gobbetti M., **Rizzello C.G.**, Di Cagno R., De Angelis M. 2007. Sourdough lactobacilli and celiac disease. *Food Microbiology*, 24:187-196.
- 11) De Angelis M., **Rizzello C.G.**, Scala E., De Simone C., Farris G.A., Turrini F., Gobbetti M. 2007. Probiotic preparation has the capacity to hydrolyze wheat protein responsible for food allergy. *Journal of Food Protection*, 70:135-144.
- 12) **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Di Cagno R., Camarca A., Silano M., Losito I., De Vincenzi M., De Bari M.D., Palmisano F., Maurano F., Gianfrani C., Gobbetti M. 2007. Highly efficient gluten degradation by lactobacilli and fungal proteases during food processing: new perspectives for celiac disease. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 4499-4507.
- 13) Di Cagno R., Miracle R.E., De Angelis M., Minervini F., **Rizzello C.G.**, Drake M., Fox P.F., Gobbetti M. 2007. Compositional, microbiological, biochemical, volatile profile and sensory characterization of four Italian semi-hard goats' cheeses. *Journal Dairy Research*, 74:468-477.
- 14) Siragusa S., De Angelis M., Di Cagno R., **Rizzello C.G.**, Coda R., Gobbetti M. 2007. Synthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by lactic acid bacteria isolated from Italian cheese varieties. *Applied Environmental Microbiology*, 73: 7283-7290.
- 15) De Angelis M., **Rizzello C.G.**, Alfonsi G., Arnault P., Cappelle S., Tossut P., Di Cagno R., Gobbetti M. 2007. Use of sourdough lactobacilli and oat fibre to decrease the glycemic index of white wheat bread. *British Journal of Nutrition*, 98:1196-1205.
- 16) Di Cagno R., **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Cassone A., Giuliani G., Benedusi A., Limitone A., Gobbetti M. 2008. Use of Selected Sourdough for Enhancing the Nutritional and Sensory Properties of Gluten-Free Bread. *Journal of Food Protection*. 71:1491-1495.
- 17) De Angelis M., Damiano N., **Rizzello C.G.**, Cassone A., Di Cagno R., Gobbetti M. 2009. Sourdough fermentation as a tool for the manufacture of low-glycemic index white wheat bread enriched in dietary fibre. *European Food Research and Technology*, 229:593-601.
- 18) **Rizzello C.G.**, Cassone A., Di Cagno R., Gobbetti M. 2008. Synthesis of Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE)-inhibitory peptides and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) during sourdough fermentation by selected lactic acid bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:6936-43.
- 19) M'hir S., **Rizzello C.G.**, Di Cagno R., Cassone A., Hamdi M. 2009. Use of selected enterococci and *Rhizopus oryzae* proteases to hydrolyse wheat proteins responsible for celiac disease. *Journal of Applied Microbiology*, 106:421-431.

- 20) Coda R., **Rizzello C.G.**, Nigro F., De Angelis M., Arnault P., Gobbetti M. 2008. Long-term fungi inhibitory activity of water-soluble extract from *Phaseolus vulgaris* cv Pinto and sourdough lactic acid bacteria during bread storage. *Applied and Environmental Microbiology*, 74:7391-7398.
- 21) **Rizzello C.G.**, Coda R., De Angelis M., Di Cagno R., Carnevali P., Gobbetti M. 2009. Long-term fungi inhibitory activity of water-soluble extract from *Amaranthus* spp. seeds during storage of gluten-free and wheat flour breads. *International Journal of Food Microbiology*, 131:189–196.
- 22) Di Cagno R., Surico R. F., Minervini G., De Angelis M., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. 2009. Use of autochthonous starters to ferment red and yellow peppers (*Capsicum annum* L.) to be stored at room temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 130:108-116.
- 23) Coda R., Nionelli L., **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Tossut P., Gobbetti M. 2010. Spelt and emmer flours: characterization of the lactic acid bacteria microbiota and selection of mixed autochthonous starters for bread making. *Journal of Applied Microbiology*, 108:925-935.
- 24) Di Cagno R., **Rizzello C.G.**, Gagliano F., Ricciuti P., Ndagijimana M., Francavilla R., Guerzoni M. E., Crecchio C., Gobbetti M., De Angelis M. 2009. Different Fecal Microbiotas and Volatile Organic Compounds in Treated and Untreated Children with Celiac Disease. *Applied and Environmental Microbiology*, 75: 3963-3971.
- 25) **Rizzello C.G.**, Nionelli L., Coda R., De Angelis M., Gobbetti M. 2010. Effect of sourdough fermentation on stabilization, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ. *Food Chemistry*, 119:1079-1089.
- 26) Di Cagno R., Cardinali G., Minervini G., Antonielli L., **Rizzello C.G.**, Ricciuti P., Gobbetti M. 2010. Taxonomic structure of the yeasts and lactic acid bacteria microbiota of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) and use of autochthonous starters for minimally processing. *Food Microbiology*, 27:381-389.
- 27) Di Cagno R., Mazzacane F., **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Giuliani G., Meloni M., De Servi B., Gobbetti M. 2010. Synthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus plantarum* DSM19463: Functional grape must beverage and dermatological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86: 731-741.
- 28) De Angelis M., Cassone A., **Rizzello C. G.**, Gagliardi F., Minervini F., Calasso M., Di Cagno R., Francavilla R., Gobbetti M. 2010. Mechanism of degradation of immunogenic gluten epitopes from *Triticum turgidum* L. var. *durum* by sourdough lactobacilli and fungal proteases. *Applied And Environmental Microbiology*, 76:508–518.
- 29) Coda R., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. 2010. Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA). *International Journal of Food Microbiology*, 137: 236-245.
- 30) **Rizzello C.G.**, Nionelli L, Coda R, Di Cagno R, Gobbetti M. 2010. Use of sourdough fermented wheat germ for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of the white bread. *European Food Research And Technology*, 230: 645-654.
- 31) De Angelis M., Di Cagno R., Minervini F., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. 2010. Two-dimensional electrophoresis and IgE-mediated food allergy. *Electrophoresis*, 31:1-11.

- 32) Minervini F., De Angelis M., Di Cagno R., Pinto D., Siragusa S., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. 2010. Robustness of *Lactobacillus plantarum* starters during daily propagation of wheat flour sourdough type I. *Food Microbiology*, 27:897-908.
- 33) Di Cagno R., Barbato M., Di Camillo C., **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Giuliani G., De Vincenzi M., Gobbetti M., and Cucchiara S. 2010. Gluten-free sourdough wheat baked goods appear safe for young celiac patients: a pilot study. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*. 51: 777-783.
- 34) Di Cagno R., Mazzacane F., **Rizzello C.G.**, Vincentini O., Silano M., Giuliani G., De Angelis M., Gobbetti M. 2010. Synthesis of isoflavone aglycones and equol in soy milks fermented by food-related lactic acid bacteria and their effect on human intestinal Caco-2 cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58:10338-46.
- 35) Coda R., **Rizzello C.G.**, Trani A., Gobbetti M. 2011. Manufacture And Characterization Of Functional Emmer Beverages Fermented By Selected Lactic Acid Bacteria. *Food Microbiology*, 28:526-536.
- 36) Greco L., Gobbetti M., Auricchio R., Di Mase R., Landolfi F., Paparo F., Di Cagno R., De Angelis M., **Rizzello C.G.**, Cassone A., Terrone G., Timpone L., D'aniello M.D., Maglio M., Troncone R., Auricchio S. 2011. Safety for celiac patients of baked goods made of wheat flour hydrolyzed during food processing. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 9: 24-29.
- 37) Di Cagno R., Minervini G., **Rizzello C. G.**, Lovino R., Servili M., Taticchi A., Urbani S., Gobbetti M. 2011. Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria. *Food Microbiology*. 28: 900-909.
- 38) **Rizzello C.G.**, Cassone A., Coda R., Gobbetti M. 2011. Antifungal activity of sourdough fermented wheat germ used as an ingredient for bread making. *Food Chemistry*, 127: 952-959.
- 39) Di Cagno R., Minervini G., **Rizzello C. G.**, De Angelis M., Gobbetti M. 2011. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiology*, 28:1062-1071.
- 40) Coda R., Di Cagno R., **Rizzello C.G.**, Nionelli L., Edema M.O., Gobbetti M. 2011. Utilization of african grains for sourdough bread making. *Journal of Food Science*, 76: M329-M335.
- 41) Servili M., **Rizzello C.G.**, Taticchi A., Esposto S., Urbani S., Mazzacane F., Di Maio I., Selvaggini R., Gobbetti M., Di Cagno R. 2011. Functional milk beverage fortified with phenolic compounds extracted from olive vegetation water, and fermented with functional lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 147:45-52.
- 42) Coda R., Cassone A., **Rizzello C.G.**, Nionelli L., Cardinali G., Gobbetti M. 2011. Antifungal activity of *Wickerhamomyces anomalus* and *Lactobacillus plantarum* during sourdough fermentation: identification of novel compounds and long-term effect during storage of wheat bread. *Applied And Environmental Microbiology*, 77: 3484-3492.

- 43) **Rizzello C.G.**, Nionelli L., Coda R., Gobbetti M. 2012. Synthesis of the cancer preventive peptide lunasin by lactic acid bacteria during sourdough fermentation. *Nutrition and Cancer: An International Journal*. 64:111-120.
- 44) **Rizzello C.G.**, Coda R., Mazzacane F., Minervini D., Gobbetti M. 2012. Micronized by-products from debranned durum wheat and sourdough fermentation enhanced the nutritional, textural and sensory features of bread. *Food Research International*, 46:304-313.
- 45) Coda R., **Rizzello C.G.**, Pinto D., Gobbetti M. 2012. Selected lactic acid bacteria synthesize antioxidant peptides during sourdough fermentation of cereal flours. *Applied Environmental Microbiology*, 78:1087-1096.
- 46) Vitali, B., Minervini, G., **Rizzello C.G.**, Spisni E., Maccaferri, S., Brigidi P., Gobbetti M., Di Cagno R. 2012. Novel probiotic candidates for humans isolated from raw fruits and vegetables. *Food Microbiology*, 31:116-125.
- 47) Coda R., **Rizzello C.G.**, Di Cagno R., Trani A., Cardinali G., Gobbetti M. 2013. Antifungal activity of *Meyerozyma guilliermondii*: identification of active compounds synthesized during dough fermentation and their effect on long-term storage of wheat bread. *Food Microbiology*, 33: 243-251.
- 48) Nejati F., **Rizzello C.G.**, Di Cagno R., Sheikh-Zeinoddin M., Diviccaro A., Minervini F., Gobbetti M. 2013. Manufacture of a functional fermented milk enriched of Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE)-inhibitory peptides and gamma-amino butyric acid (GABA). *LWT --Food Science and Technology* 51:183-189.
- 49) Filannino P., Azzi L., Cavoski I., Vincentini O., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M., Di Cagno R. 2013. Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 163:184-92.
- 50) **Rizzello C.G.**, Coda R., Sánchez Macías D., Pinto D., Marzani B., Filannino P., Giuliani G., Paradiso V. M., Di Cagno R., Gobbetti M. 2013. Lactic acid fermentation as a tool to enhance the functional features of *Echinacea* spp. *Microbial Cell Factories*, 12: 44.
- 51) **Rizzello C.G.**, Mueller T., Coda R., Reipsch F., Nionelli L., Curiel J.A., Gobbetti M. 2013. Synthesis of 2-methoxy benzoquinone and 2,6-dimethoxybenzoquinone by selected lactic acid bacteria during sourdough fermentation of wheat germ. *Microbial Cell Factories* 12, art. n.105.
- 52) Gobbetti M., **Rizzello C.G.**, Di Cagno R., De Angelis M. 2014. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. *Food Microbiology*, 37: 30-40.
- 53) **Rizzello C.G.**, Curiel J.A., Nionelli L., Vincentini O., Di Cagno R., Silano M., Gobbetti M., Coda R. 2014. Use of fungal proteases and selected sourdough lactic acid bacteria for making wheat bread with an intermediate content of gluten. *Food Microbiology*, 37:59-68.
- 54) Curiel J.A., Coda R., Limitone A., Katina K., Raulio M., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. 2014. Manufacture and characterization of pasta made with wheat flour rendered gluten-free using fungal proteases and selected sourdough lactic acid bacteria. *Journal of Cereal Science*, 59:79-87.
- 55) Di Cagno R., De Pasquale I., De Angelis M., Buchin S., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. 2014. Use of microparticulated whey protein concentrate, exopolysaccharide-producing *Streptococcus*

*thermophilus*, and adjunct cultures for making low-fat Italian Caciotta-type cheese. *Journal of Dairy Science*, 97:72-84.

56) Coda R., di Cagno R., Gobbetti M., **Rizzello C.G.** 2014. Sourdough lactic acid bacteria: exploration of non-wheat cereal-based fermentation. *Food Microbiology*, 37:51-58.

57) **Rizzello C.G.**, Filannino P., Di Cagno R., Calasso M., Gobbetti M. 2014. Quorum sensing regulation of constitutive plantaricin by *Lactobacillus plantarum* strains under vegetables and fruits model system. *Applied Environmental Microbiology*, 80:777-787.

58) Coda R., **Rizzello C.G.**, Curiel J.A., Poutanen K., Katina K. 2014. Effect of bioprocessing and particle size on the nutritional properties of wheat bran fractions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 25:19-27.

59) Filannino P., Cardinali G., **Rizzello C. G.**, Buchin S., De Angelis M., Gobbetti M., Di Cagno R. 2014. Metabolic Responses of *Lactobacillus plantarum* Strains during Fermentation and Storage of Vegetable and Fruit Juices. *Applied Environmental Microbiology*, 80: 2206-2215.

60) **Rizzello C.G.**, Calasso M., Campanella D., De Angelis M., Gobbetti M. 2014. Use of sourdough fermentation and mixture of wheat, chickpea, lentil and bean flours for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of white bread. *International Journal of Food Microbiology*, 180:78-87.

61) Nionelli L., Coda R., Curiel J.A., Poutanen K., Gobbetti M., **Rizzello C.G.** 2014. Manufacture and characterization of a yogurt-like beverage made with oat flakes fermented by selected lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 185:17-26.

62) Nionelli L., Curri N., Curiel J.A., Di Cagno R., Pontonio E., Cavoski I., Gobbetti M., **Rizzello C.G.** 2014. Exploitation of Albanian wheat cultivars: characterization of the flours and lactic acid bacteria microbiota, and selection of starters for sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 44: 96-107.

63) Coda R., Melama L., **Rizzello C.G.**, Curiel J.A., Juhani Sibakov, Holopaine U., Pulkkinen M., and Sozer N. 2015. Effect of air classification and fermentation by *Lactobacillus plantarum* VTT E-133328 on faba bean (*Vicia faba* L.) flour nutritional properties. *International Journal of Food Microbiology*. 193: 34-42.

64) Pontonio E., Nionelli L., Curiel J.A., Sadeghi A., Di Cagno R., Gobbetti M., **Rizzello C.G.** 2015. Iranian wheat flours from rural and industrial mills: exploitation of the chemical and technology features, and selection of autochthonous sourdough starters for making breads. *Food Microbiology*, 47: 99-110.

65) Curiel J.A., Coda R., Centomani I., Summo C., Gobbetti M., **Rizzello C.G.** 2015. Exploitation of the nutritional and functional characteristics of traditional Italian legumes: the potential of sourdough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 196:51-61.

66) Coda R., Katina K., **Rizzello C.G.** 2015. Bran bioprocessing for enhanced functional properties. *Current Opinion in Food Science*, 1: 50-55.

67) **Rizzello C.G.**, Cavoski I., Turk J., Ercolini D., Nionelli L., Pontonio E., De Angelis M., De Filippis F., Gobbetti M., Di Cagno R. 2015. The organic cultivation of *Triticum turgidum* spp. durum

reflects on the axis flour, sourdough fermentation and bread. *Applied and Environmental Microbiology* doi: 10.1128/AEM.04161-14.

68) **Rizzello C.G.**, Lavecchia A., Gramaglia V., Gobbetti M. 2015. Long-term fungal inhibitory activity of *Pisum sativum* flour hydrolysate during storage of wheat flour bread. *Applied and Environmental Microbiology*, 81, 4195-206.

69) Curiel J.A., Pinto D., Marzani B., Filannino P., Farris G.A., Gobbetti M., **Rizzello C.G.** 2015. Lactic acid fermentation as a tool to enhance the antioxidant properties of *Myrtus communis* berries. *Microbial Cell Factories*, 14:67.

70) De Angelis M., Campanella D., Cosmai L., Summo C., **Rizzello C.G.**, Caponio F. 2015. Microbiota and metabolome of Un-started and started Greek-type fermentation of Bella di Cerignola table olives. *Food Microbiology*; 52. DOI:10.1016/j.fm.2015.06.002.

71) Arte E., **Rizzello C.G.**, Verni M., Nordlund E., Katina K., Coda R. 2015. Impact of enzymatic and microbial bioprocessing on protein modification and nutritional properties of wheat bran. 2015. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63: 8685-8693

72) **Rizzello C.G.**, Hernández-Ledesma B., Fernández-Tomé S., Curiel J.A., Pinto D., Marzani B., Coda R., Gobbetti M. 2015. Italian legumes: effect of sourdough fermentation on lunasin-like polypeptides. *Microbial Cell Factories* 14:168.

73) **Rizzello C.G.**, Lorusso A., Montemurro M., Gobbetti M. 2016. Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. *Food Microbiology* 56, 1-13.

74) Mamhoud A., Nionelli L., Bouzaine T., Hamdi M., Gobbetti M., **Rizzello C.G.** 2016. Selection of lactic acid bacteria isolated from Tunisian cereals and exploitation of the use as starters for sourdough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 225, 9-19.

75) **Rizzello C.G.**, Montemurro M., Gobbetti M., 2016. Characterization of the bread made with durum wheat semolina rendered gluten free by sourdough biotechnology in comparison with commercial gluten-free products. *Journal of Food Science*, doi:10.1111/1750-3841.13410.

76) Pontonio E., **Rizzello C.G.**, Di Cagno R., Dousset X., Clément H., Filannino P., Onno B., Gobbetti M., 2016. How organic farming of wheat may affect the sourdough and the nutritional and technological features of leavened baked goods. *International Journal of Food Microbiology*, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.013

77) **Rizzello C.G.**, Losito I, Facchini L., Katina K., Palmisano F., Gobbetti M., Rossana C. 2016. Degradation of vicine, convicine and their aglycones during fermentation of faba bean flour. *Scientific Reports*, 6:32452, DOI: 10.1038/srep32452  
www.nature.com/scientificreports

78) Clodoveo ML, Tiziana Dipalmo T, **Rizzello CG**, Corbo F, Crupi P, 2016. Emerging technology to develop novel red winemaking practices: an overview, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 38 (2016) 41–56

79) Nionelli, L, **Rizzello CG**. 2016. Sourdough-Based Biotechnologies for the Production of Gluten-Free Foods. *Foods*, 5, 65; doi:10.3390/foods5030065

80) Rizzello CG, Tagliazucchi D, Babini E, Sefora Rutella G, Taneyo Saa DL, Gianotti A. 2016 Bioactive peptides from vegetable food matrices: Research trends and novel biotechnologies for synthesis and recovery. *Journal of Functional Foods*, 27, 549–569.

81) Rizzello CG, Lorusso A, Russo V, Pinto D, Marzani B, Gobbetti M. 2017. Improving the antioxidant properties of quinoa flour through fermentation with selected autochthonous lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 252-261

82) Rizzello CG, Verni M, Koivula A, Montemurro M, Seppa L, Kemell M, Katina K, Coda R, Gobbetti M. 2017. Influence of fermented faba bean flour on the nutritional, technological and sensory quality of fortified pasta. *Food and Function*, 8:860-871.

83) Rizzello CG, Verni M, Bordignon S, Gramaglia V, Gobbetti M. 2017 Hydrolysate from a mixture of legume flours with antifungal activity as an ingredient for prolonging the shelf-life of wheat bread. *Food Microbiology* 64, 72-82.

84) Lorusso A, Verni M, Montemurro M, Coda R, Gobbetti M, Rizzello CG. 2017. Use of fermented quinoa flour for pasta making and evaluation of the technological and nutritional features. *LWT - Food Science and Technology* 78, 215-221

85) Campanella D., Rizzello C.G., Fasciano C, Gambacorta G, Pinto D, Marzani B, Scarano N, De Angelis M, Gobbetti M. 2017 Exploitation of grape marc as functional substrate for lactic acid bacteria and bifidobacteria growth and enhanced antioxidant activity. *Food Microbiology* 65, 25–35.

86) Coda R., Kianjam M, Pontonio E, Verni M, Di Cagno R, Katina K, Rizzello CG, Gobbetti M (2017). Sourdough-type propagation of faba bean flour: Dynamics of microbial consortia and biochemical implications. *International Journal of Food Microbiology*, 248: 10-21.

87) Gobbetti M, Pontonio E, Filannino P, Rizzello CG, De Angelis M, Di Cagno R (2017) How to improve the gluten-free diet: The state of the art from a food science perspective. *Food Research International*, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.04.010>

88) Coda R, Varis J, Verni M, Rizzello CG, Katina K (2017) Improvement of the protein quality of wheat bread through faba bean sourdough addition. *LWT-Food Science and Technology*, 82, 296-302.

90) Francavilla R, De Angelis M, Rizzello CG, Cavallo N, Dal Bello F, Gobbetti M (2017). Selected probiotic lactobacilli have the capacity to hydrolyze gluten peptides during simulated gastro-intestinal digestion. *Applied and Environmental Microbiology*,

### 3.5.2 Contributo in volume (Capitolo o Saggio)

1) Rizzello C.G., De Angelis M., Farris G.A., Gobbetti M. (2006) Degradazione di proteine allergeniche da frumento da parte di microrganismi probiotici. In: Ricerche e innovazioni nell'industria alimentare (volume 7, pagg 721-725) Chiriotti Editori, Pinerolo-Italia. ISBN/ISSN: 978-88-85022-96-6.

- 2) Gobbetti M., Minervini F., **Rizzello C.G.** (2007) Bioactive peptides in dairy products. In: *Handbook of Food Products Manufacturing* (Wiley-Interscience, Wiley & Sons Publication, Inc., Hoboken, New Jersey, USA; ed.: Y. H. Hui) pp.489-517.
- 3) Gobbetti M., De Angelis M., Di Cagno R., **Rizzello C.G.** (2007) The relative contributions of starter cultures and non-starter bacteria to the flavour of cheese. In: *Improving the flavour of cheese*, Woodhead Publishing, ed.: B. Weimer, Cambridge, England) pp. 121-156.
- 4) Gobbetti M., De Angelis M., Di Cagno R., **Rizzello C.G.** (2008) Sourdough / lactic acid bacteria. In: *Gluten free cereal products and beverages* (Eds. EK Arendt, F. DalBello, Elsevier Academic Press) Food Science and Technology International Series. Elsevier, Academic Press, Amsterdam, The Netherlands. Chapter 12, p. 267-288. )
- 5) Minervini F, **Rizzello C.G.**, Sanna M (2010). I pani tipici. *Biotecnologia dei prodotti lievitati da forno*. p. 263-283, MILANO: Casa Editrice Ambrosiana, ISBN/ISSN: 978-88-08-18121-3.
- 6) Minervini D, **Rizzello C.G.** 2010. Saggio preliminare volto al miglioramento delle caratteristiche organolettiche, nutrizionali e salutistiche delle semole di grano duro mediante reintegro di parti corticali derivanti dall'impiego della decorticazione. In: *La ricerca SIGRAD sul grano duro: un modello per la filiera* (a cura di R.Ranieri e C. Berdini) Edizioni Avenue media (Milano-Bologna) pag 289-302. ISBN 978-88-886817-54-7
- 7) **Rizzello C.G.** and De Angelis M. (2011) *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus delbrueckii* Group. In: Fuquay JW, Fox PF(eds.) *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Second Edition, vol. 3, pp. 119–124. San Diego: Academic Press. ISBN 978-0-12-227235-6
- 8) **Rizzello C.G.**, Coda R., Nionelli L., Gobbetti M., 2011. Evoluzione e rilancio della filiera dei cereali (Atti dell'8° Convegno Aistec, Aci Castello, Catania, 11-13 maggio 2011, Ed. Carcea, Marconi, Palumbo, Redaelli). Prolungamento della shelf-life dei lievitati da forno mediante utilizzo di matrici vegetali e starter selezionati per l'attività antifungina. pp. 68-72. ISBN 978-88-906680-0-5.
- 9) **Rizzello CG**, Coda R, Nionelli L, Gobbetti M (2013). Uso di batteri lattici selezionati e lievitazione naturale per la sintesi di peptidi bioattivi in farine di cereali e pseudocereali. Atti del 9° Convegno AISTEC "Un mondo di cereali: Potenzialità e sfide", a cura di Acquistucci R., D'Egidio M.G., Panfilì G., Redaelli R., Bergamo 12-14 giugno 2013; ISBN: 978-88-906680-1-2, pag. 76-80.
- 10) Di Cagno R, **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. (2014) Adverse Reactions to Gluten: Exploitation of Sourdough Fermentation, (Chapter 14, pp. 171-177) In: *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health*, R.R. Watson, V.R. Preedy, S. Zibadi (Elsevier, Academic Press) ISBN: 978-0-12-401716-0
- 11) **Rizzello CG**, Gobbetti M (2015) Pane e salute: un binomio per la vita (capitolo 8) In: *La civiltà del pane*. A cura di Gabriele Archetti, Ed. Brixia sacra pp 907-912.
- 12) **C.G. Rizzello**, L. Nionelli, A. Lorusso, M. Gobbetti, 2015. Wheat milling by-products and sourdough fermentation: nutritional, functional and technological advantages. In: *Grains for feeding the world*, ISBN: 978-88-906680-4-3. Ed. Acquistucci et al. (AISTEC), pp. 67-70.
- 13) **Rizzello C.G.**, Coda R., Gobbetti M.. 2016. Use of sourdough fermentation and nonwheat flours for enhancing nutritional and healthy properties of wheat-based foods (chapter 18) In: *Fermented*

foods in health and disease prevention (Eds: Frías J, Martínez-Villaluenga C, Peñas E.) Academic Press, Elsevier, pp. 433-446.

### 3.5.3 Pubblicazioni su riviste nazionali

- 1) **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Gobbetti M., De Simone C., Farris G.A. (2006) Microrganismi probiotici per la degradazione di proteine allergeniche da frumento. *Tecnica Molitoria*, 8, 860-864.
- 2) **Rizzello CG**, Di Cagno R, De Angelis M, Gobbetti M, 2010. Terapie alternative alla dieta - Biotecnologia del "lievito naturale": il glutine "sconfitto" dai batteri lattici. *Celiachia Notizie*, vol.2 p 40-42
- 3) Coda R, **Rizzello CG**, Gobbetti M, (2010). Cereali antichi e pseudo-cereali: nuove prospettive per l'industria dei prodotti lievitati da forno. *Infocus*, vol. 2 marzo 2010, pag 8.
- 4) Rizzello C.G, Gobbetti M. (2012) Biotecnologia del lievito naturale: nuove prospettive nel settore degli alimenti gluten-free. *Biologi Italiani*, 5:12-15
- 5) Rizzello C.G., Gobbetti M. (2013). Strategie biotecnologiche per la degradazione del glutine con lattobacilli del lievito naturale. *Qualità e sicurezza Alimentare*, 29: 37-40.
- 6) Curiel J.A., Rizzello C.G., Gobbetti M. (2013) Innovative use and features of sourdough. *Alimentaria*, 445, 89-96. (Spagna)
- 7) Rizzello C.G., Coda R., Curiel J.A., Gobbetti M. (2014) Utilizzo di farina di frumento resa gluten-free con proteasi fungine e batteri lattici selezionati per la produzione di pasta. *Tecnica Molitoria*, 6: 416-434.
- 8) Rizzello C.G., Montemurro M., Gobbetti, M. (2017). Pane gluten-free da semola di grano duro: caratterizzazione integrata e confronto con pani senza glutine commerciali - Parte I, materiali e metodi, *Tecnica Molitoria*, 3: 167-183.

### 3.5.4 Brevetti

- 1) G.M. Giuliani, A. Benedusi, R. Di Cagno, **C.G. Rizzello**, M. De Angelis, F. Mazzacane, M. Gobbetti. Brevetto italiano e internazionalizzato. Procedimento per la preparazione di acido  $\gamma$ -amminobutirrico (GABA) mediante batteri lattici (LAB) su surplus agro-alimentari, 2007, ITRM20070398, WO 2009/011008, EP2173855, Giuliani S.p.A.
- 2) Gobbetti M., Cassone A., **Rizzello C.G.**, Damiano N. (2008) Batteri lattici e loro uso sotto forma di lievito naturale per la produzione di pane e prodotti da forno con elevate proprietà nutrizionali e sensoriali. Pane e prodotti da forno a basso indice glicemico ed alto contenuto in fibra alimentare (brevetto n. MI2008A000440 14/03/08)
- 3) G.M. Giuliani, A. Benedusi, R. Di Cagno, M. De Angelis, **C.G. Rizzello**, A. Cassone, M. Gobbetti. Brevetto italiano e internazionalizzato. Procedimento di biotecnologia microbica per la completa degradazione di glutine nelle farine, 2008, ITRM20080690, WO2010073283, EP2373173, Giuliani S.p.A.

4) Giuliani G., Benedusi A., Gobbetti M., Di Cagno R., **Rizzello C.G.**, Mazzacane F. Miscela arricchita di isoflavoni-agliconi, equolo e lunasina a base di soia fermentata, procedimento per la sua preparazione e relativi usi in campo alimentare, medico e cosmetico. 2010. Patente ITRM20100378 e WO2012007978, Giuliani S.p.A.

5) Giuliani, Giammaria, Benedusi Anna, Di Cagno Raffaella, Rizzello Carlo Giuseppe, De Angelis Maria, Mazzacane Francesco, Gobbetti, Marco. Process for the preparation of gamma-amino butyric acid (GABA) by the use of lactic acid bacteria (lab) on agro-and food-industry surplus. Patent 20100254948, 10/07/2010.

6) GM. Giuliani, A. Benedusi, M, R. Di Cagno, **C.G. Rizzello**, M. De Angelis, M. Gobbetti, A. Cassone. Brevetto internazionale-Preparing flour dough with reduced gluten content from gluten containing flours used e.g. for preparing baked good, by mixing flour with water comprising mixture of lactic acid bacteria, adding fungal proteases and fermenting product. 2014, WO2014033765-A1; US2014065262-A1.

7) Rizzello Carlo Giuseppe, Minisci Andrea, Gobbetti Marco "Nuovi ceppi di *Lactobacillus*, relativo utilizzo per la produzione di prodotti da forno, e relativi metodi per la produzione di prodotti da forno" di Valle Fiorita Catering srl, n. 102016000015871 depositato il 16.02.2016.

### 3.5.5 Pubblicazioni su atti di convegni e congressi nazionali ed internazionali

L'attività scientifica ha prodotto **59** pubblicazioni su atti di convegni nazionali e internazionali.

Inoltre, ha partecipato in qualità di componente del Comitato Organizzatore del "3rd International Symposium on Sourdough" (25-28 Ottobre, 2006, Bari) ed è stato co-editore del relativo Book of Abstracts;  
del III Convegno Nazionale della Società Italiana di Microbiologia Agraria, Alimentare e Ambientale, 26-28 Giugno 2012, Bari.  
del "4th International Conference On Microbial Diversity 2017 (24-26 Ottobre, 2017, Bari)

1) Minervini F., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. Peptidi anti-ipertensivi ed antimicrobici da derivati lattiero-caseari. 6° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti (CISETA). Cernobbio (CO) 18-19/9/2003.

2) Gobbetti M., De Simone C., De Angelis M., **Rizzello C.G.**, De Vincenzi M. Proteolytic activity of probiotic cells as a potential tool for decreasing gluten intolerance. Congress: *Probiotic in the digestive tract: mechanism and efficacy*. Roma 16-17/4/2004.

3) De Angelis M., **Rizzello C.G.**, De Simone C., Farris G.A., Turrini F., Scala E., Gobbetti M. Attività proteolitica di batteri lattici del lievito naturale su allergeni da frumento. 6° Convegno AISTEC "Cereali: biotecnologie e processi innovativi. Una sfida per un mondo in cambiamento". Istituto Agronomico Mediterraneo, Valenzano, Bari, 16-18/06/2005.

4) De Angelis M., **Rizzello C.G.**, Scala E., De Simone C., Farris G.A., Turrini F., Gobbetti M. VSL#3 probiotic preparation has the capacity to hydrolyze wheat protein responsible for food allergy. 8<sup>th</sup> Symposium on lactic acid bacteria "Genetics, metabolism and applications", FEMS –

Federation of European Microbiological Societies and the Netherlands Society for Microbiology, Egmond aan Zee, The Netherlands, 28/08/2005-1/09/2005.

5) Losito I., De Bari M.D., Gobbetti M., **Rizzello C.G.**, Palmisano F., Zambonin P.G. Studio mediante LC-ESI-MS dell'idrolisi enzimatica di peptidi della gliadina coinvolti nella patologia celiaca. Atti del XIX Congresso di Chimica Analitica, 11-15/9/2005, Università degli Studi di Cagliari, Centro Polaris, Pula (CA).

6) **Rizzello C.G.** Probiotics as a potential tool for decreasing gluten intolerance. 10<sup>th</sup> Workshop on the developments in the Italian PhD research in food science and technology, Foggia 7-9/09/05.

7) **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Farris G.A., Gobbetti M. Degradazione di proteine allergeniche da frumento da parte di microrganismi probiotici. 7° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti (CISETA). Cernobbio (CO) 19-20/9/2005.

8) Minervini F., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. Isolamento di peptidi antimicrobici da lattici fermentati. 7° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti (CISETA). Cernobbio (CO) 19-20/9/2005.

9) Di Cagno R., De Angelis M., Rizzello C.G., Minervini F., Gobbetti M. Lattobacilli del lievito naturale e patologia celiaca. 1° Congresso Nazionale SIMTREA Ruolo della Microbiologia nei settori agro-alimentare ed ambientale. Bologna 17-18 luglio 2006.

10) Minervini F., **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Di Cagno R., Gobbetti M. Caratteristiche funzionali di derivati lattiero-caseari. 1° Congresso Nazionale SIMTREA Ruolo della Microbiologia nei settori agro-alimentare ed ambientale. Bologna 17-18 luglio 2006.

11) Gobbetti M., De Angelis M., Di Cagno R., **Rizzello C.G.** Treatment using bacterial endopeptidases to increase the human gluten tolerance FOOD MICRO Bologna 29/8-2/9/2006.

12) **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Coda R., de Candia S., Farris G.A., Turrini F., Gobbetti M. Use of selected probiotic VSL#3 and sourdough lactic acid bacteria to hydrolyze wheat and rye proteins responsible for cereal allergy. 3rd International Symposium on Sourdough "From Tradition to innovation" Bari, 25-28 ottobre 2006.

13) **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Cassone A., Di Cagno R., Gobbetti M. Componenti funzionali del lievito naturale: peptidi anti-ipertensivi e acido- $\gamma$ -aminobutirrico. 8° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti (CISETA). Rho (MI) 7-8/05/2007.

14) Minervini F., **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Di Cagno R., Gobbetti M. Catabolismo degli aminoacidi nei batteri lattici. 8° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti (CISETA). Rho (MI) 7-8/05/2007.

15) De Angelis M., **Rizzello C.G.**, Di Cagno R., Gobbetti M. Degradazione del glutine con batteri lattici e proteasi fungine: nuove prospettive per la patologia celiaca. 8° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti (CISETA). Rho (MI) 7-8/05/2007.

16) M. De Angelis, **C.G. Rizzello**, F. Minervini, R. Di Cagno, M. Gobbetti. Degradazione di allergeni dei cereali mediante la fermentazione con lievito naturale. 1° Congresso Nazionale Qualità del suolo, alimenti e salute. 24-26/10/2007, Palermo.

- 17) Coda R., **Rizzello C.G.**, Nigro F., De Angelis M., Arnault P., Gobbetti M. Long-term fungi inhibitory activity of water-soluble extract from *Phaseolus vulgaris* cv. Pinto and sourdough lactic acid bacteria during bread storage. Symposium on Lactic Acid Bacteria, Egmond aan Zee, The Netherlands, 31/08/08-04/09/08.
- 18) M. De Angelis, R. Di Cagno, S. Siragusa, **C.G. Rizzello**, R. Coda, F. Mazzacane, G. Giuliani, A. Benedusi, M. Gobbetti. 2008. Selection of lactic acid bacteria isolated from Italian cheese varieties for the synthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in different food matrices. "9<sup>th</sup> Symposium on Lactic Acid Bacteria-Health, Evolution and Systems Biology", 31/08/08-04/09/08, Egmond aan Zee, the Netherlands.
- 19) M. De Angelis, N. Damiano, **C.G. Rizzello**, A. Cassone, R. Di Cagno, M. Gobbetti. 2008. Sourdough fermentation as a tool for the manufacture of low-glycemic index white wheat bread enriched in dietary fibre. "9<sup>th</sup> Symposium on Lactic Acid Bacteria-Health, Evolution and Systems Biology", 31/08/08-04/09/08, Egmond aan Zee, the Netherlands.
- 20) M. De Angelis, **C.G. Rizzello**, R. Di Cagno, A. Camarca, M. Silano, I. Losito, M. De Vincenzi, M.D. De Bari, F. Palmisano, F. Maurano, C. Gianfrani and M. Gobbetti. Degradazione del glutine mediante l'utilizzo di batteri lattici e proteasi fungine: nuove prospettive per la celiachia. II Congresso nazionale "Qualità del Suolo, Alimenti e Salute" 22-24/10/2008, Bari. P. 93.
- 21) Cassone A., De Angelis M., Di Cagno R., **Rizzello C.G.**, Calasso M., Greco L., Di Mase R., Auricchio R., Troncone R., Auricchio S., Gobbetti M. 2009. Safety for celiac patients of breads made of wheat flour hydrolyzed during food processing. (2° Congresso Nazionale SIMTREA Ruolo della Microbiologia nei settori agro-alimentare ed ambientale). Sassari 10-12 giugno 2009. Annals of Microbiology, Special Issue, 59, p.46.
- 22) Cassone A., Surico R, Di Cagno R, De Angelis M, Minervini F, **Rizzello CG**, Gobbetti M. 2009. Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on shelf-life, health-promoting and sensory properties of raw vegetables. (2° Congresso Nazionale SIMTREA Ruolo della Microbiologia nei settori agro-alimentare ed ambientale). Sassari 10-12 giugno 2009. Annals of Microbiology, Special Issue, 59, p.47.
- 23) Coda R., **Rizzello C.G.**, De Angelis M., Di Cagno R., Cassone A., Siragusa S., Gobbetti M. 2009. Synthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by lactic acid bacteria: from functional foods to cosmetics. (2° Congresso Nazionale SIMTREA Ruolo della Microbiologia nei settori agro-alimentare ed ambientale). Sassari 10-12 giugno 2009. Annals of Microbiology, Special Issue, 59, p.49.
- 24) Siragusa S., De Angelis M., Di Cagno R., **Rizzello C.G.**, Ndagijimana M., Guerzoni M. E., Francavilla R., Gobbetti M. 2009. Imbalance of the faecal microbiota and volatile organic compounds between treated and untreated coeliac children (2° Congresso Nazionale SIMTREA Ruolo della Microbiologia nei settori agro-alimentare ed ambientale). Sassari 10-12 giugno 2009. Annals of Microbiology, Special Issue, 59, p.104.
- 25) **Rizzello C.G.**, Coda R., De Angelis M., Di Cagno R., Minervini F., Gobbetti M. (2009). Long-term fungal inhibition activity of water-soluble extracts of edible plants and sourdough lactic acid bacteria during storage of gluten-free and wheat flour breads. Book of Abstracts, 4<sup>th</sup> International Symposium on Sourdough "from arts to science", 14-17 October 2009, Freising – Germany; p85

- 26) **Rizzello C.G.**, Coda R., Cassone A., De Angelis M., Di Cagno R., Gobbetti M. (2009) Synthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by sourdough lactic acid bacteria in cereal and pseudo-cereal flours. Book of Abstracts, 4<sup>th</sup> International Symposium on Sourdough “from arts to science”, 14-17 October 2009, Freising – Germany; p.99.
- 27) De Angelis M., Di Cagno R., **Rizzello C.G.**, Cassone A., Greco L., Di Mase R., Auricchio R., Troncone R., Auricchio S., Gobbetti M. (2009). Safety for celiac patients of breads made of wheat flour hydrolyzed during food processing. Book of Abstracts, 4<sup>th</sup> International Symposium on Sourdough “from arts to science”, 14-17 October 2009, Freising – Germany; p.94.
- 28) **Rizzello C.G.**, Nionelli L., Coda R., Trani A., Gobbetti M. (2009) Wheat germ stabilization by sourdough fermentation. Book of Abstracts, 4<sup>th</sup> International Symposium on Sourdough “from arts to science”, 14-17 October 2009, Freising – Germany; p69.
- 29) Coda R., **Rizzello C.G.**, Guylane L., Gobbetti M. (2009) Ancient grains sourdough. Book of Abstracts, 4<sup>th</sup> International Symposium on Sourdough “from arts to science”, 14-17 October 2009, Freising – Germany; p30.
- 30) R. Di Cagno, M. Barbato, C. Di Camillo, G. Maiella, V. Pannone, **C.G. Rizzello**, M. De Angelis, G. Giuliani, M. De Vincenzi, M. Gobbetti and S. Cucchiara. Presumptive safety for celiac patients of wheat baked goods rendered gluten-free during sourdough fermentation. Digestive and Liver Disease, Volume 42, Supplement 5, October 2010, Page S353, XVII National Congress SIGENP Abstracts, XVII Congresso Nazionale SIGENP (Società Italiana di Gastroenterologia Epatologia e Nutrizione Pediatrica) del 7-9 ottobre 2010 Pescara.
- 31) **Rizzello C.G.**, Coda R., Nionelli L., Gobbetti M. 2011. “Prolungamento della shelf-life dei lievitati da forno mediante l'utilizzo da forno mediante l'utilizzo di matrici vegetali e starter selezionati per l'attività antifungina”. Atti dell'8° Convegno AISTEC “Evoluzione e rilancio della filiera dei cereali: biodiversità, sostenibilità, tecnologia e nutrizione. Aci Castello – Cannizzaro (CT), 11-13 maggio 2011, p 41.
- 32) Di Cagno R., **Rizzello C.G.**, Vernocchi P., Laghi L., Crecchio C., Guerzoni M.E., Francavilla R., Gobbetti M., De Angelis M. Effect of gluten-free diet on the duodenal and faecal microbiota of celiac children. Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Conference on Microbial Diversity 2011: Environmental, stress and adaptation, 26-28 Dicembre 2011, Milano, pp128-131, Ed. Casella/Daffonchio/Gobbetti/Parente.
- 33) **Rizzello C.G.**, Coda R., Gobbetti M. Fungal inhibitory activity of vegetable matrices and selected starters during storage of wheat breads. Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Conference on Microbial Diversity 2011: Environmental, stress and adaptation, 26-28 Dicembre 2011, Milano, p 241, Ed. Casella/Daffonchio/Gobbetti/Parente
- 34) **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. Presumptive safety for coeliac patients of wheat-baked goods rendered gluten-free during sourdough fermentation. Proceedings of the 24th Meeting WORKING GROUP on PROLAMIN ANALYSIS and TOXICITY. 30 September - 2 October, 2010, Ancona, Italy, p 87-90. Ed. Martin Stern, University of Tübingen.
- 35) Coda R., **Rizzello C.G.**, Minervini D., Gobbetti M. 2012. Use of micronized by-products from debranned durum wheat and sourdough fermentation to enhance the nutritional, texture and sensory features of white bread. 5th international Dietary Fibre Conference, 7-9 May 2012, Rome –Italy. Book of Abstracts, p.67

- 36) Di Cagno R., De Angelis M., **Rizzello C.G.**, Minervini F., Calasso M., Gobbetti M. Atti del III Convegno Nazionale SIMTREA, Bari 26-28 giugno 2012, p. 27-28. Degradation Of Immunogenic Gluten Peptides By Sourdough Lactobacilli: How To Obtain Baked Goods Of Wheat Flour Safe For Celiacs.
- 37) Coda R., **Rizzello C.G.**, Di Cagno Raffaella, Cardinali Gianluigi, Gobbetti Marco. Atti del III Convegno Nazionale SIMTREA, Bari 26-28 Giugno 2012, p95-96. Synthesis of antifungal compounds by selected yeasts and long-term effect during storage of wheat bread.
- 38) **Rizzello C.G.**, Nionelli L., Coda R., Gobbetti M. Atti del III Convegno Nazionale SIMTREA, Bari 26-28 giugno 2012, p.137. Effect of sourdough fermentation on the stabilization of wheat germ and use of sourdough fermented wheat germ as ingredient for bread making
- 39) Coda R., Di Cagno R., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M., Sourdough lactic acid bacteria: exploration of non-wheat cereal based fermentation. V Symposium on Sourdough "Cereal Fermentation for Future Foods", Helsinki, Finland, 10-12 October 2012. Book of Abstracts, p.38 (ISBN 978-951-38-7875-7, soft back ed.; ISBN 978-951-38-7876-4 VTT publications).
- 40) **Rizzello C.G.**, Coda R., Curiel J.A., Gobbetti M. Set up of a biotechnological protocol for the production of mild-gluten wheat flour bread by sourdough fermentation. V Symposium on Sourdough "Cereal Fermentation for Future Foods", Helsinki, Finland, 10-12 October 2012. Book of Abstracts, p.61 (ISBN 978-951-38-7875-7, soft back ed.; ISBN 978-951-38-7876-4 VTT publications).
- 41) Coda R., **Rizzello C.G.**, Gobbetti M. Antifungal activity of selected starters during sourdough fermentation and long-term effect on storage of bread. V Symposium on Sourdough "Cereal Fermentation for Future Foods", Helsinki, Finland, 10-12 October 2012. Book of Abstracts, p.111 (ISBN 978-951-38-7875-7, soft back ed.; ISBN 978-951-38-7876-4 VTT publications).
- 42) Gobbetti M., **Rizzello C.G.**, Coda R. Bacterial-fungal interactions in foods. Book of Abstracts of the Spring Conference, Society for General Microbiology, 25-28 March 2013, Manchester UK, p36.
- 43) **Rizzello C.G.**, Coda R., Nionelli L., Gobbetti M. Uso di batteri lattici selezionati e lievitazione naturale per la sintesi di peptidi bioattivi in farine di cereali e pseudocereali. Atti del 9° Convegno AISTEC "Un mondo di cereali, Potenzialità e Sfide" Bergamo, 12-14 Giugno 2013, p.42.
- 44) **Rizzello C.G.**, Coda R., Nionelli L., Gobbetti M. Synthesis of bioactive peptides with cancer preventive, antioxidant, and antihypertensive activities by selected lactic acid bacteria. Proceedings of the 2nd International Conference on Microbial Diversity 2013 (Microbial Interactions in Complex Ecosystems), Torino, Italy 23-25 Ottobre 2013, p.344-345.
- 45) De Angelis M., Di Cagno R., Minervini F., **Rizzello C.G.**, Calasso M., Gobbetti M. Functional genomic of *Lactobacillus rossiae* DSM 15814T. Proceedings of the 2nd International Conference on Microbial Diversity 2013 (Microbial Interactions in Complex Ecosystems), Torino, Italy 23-25 Ottobre 2013, p.237-238.
- 46) Filannino P., Cardinali G., **Rizzello C.G.**, Buchin S., De Angelis M., Gobbetti M., Di Cagno R. Understanding the adaptive growth and survival strategies of *Lactobacillus plantarum* during plant fermentation and storage. Proceedings of the 2nd International Conference on Microbial Diversity 2013 (Microbial Interactions in Complex Ecosystems), Torino, Italy 23-25 Ottobre 2013, p.236-237.

- 47) Coda R., Melama L., **Rizzello C.G.**, Sibakov J., Holopainen U., Sozer N. (2014) Effect of air classification and lactic acid bacteria fermentation on faba bean (*Vicia faba* L.) flour nutritional properties. Proceedings of the 28th EFFoST International Conference "Innovations in attractive and sustainable food for health", 26-28 November 2014, Uppsala, Sweden P2.016.
- 48) Curiel J.A., Coda R., Gobbetti M., **Rizzello C.G.** (2014) Exploitation of Italian typical legumes: Potential of sourdough fermentation. Proceedings of the 28th EFFoST International Conference "Innovations in attractive and sustainable food for health", 26-28 November 2014, Uppsala, Sweden. P2.017.
- 49) **Rizzello C.G.**, Nionelli L., Lorusso A., Gobbetti M. (2015) Wheat milling by-products and sourdough fermentation: nutritional, functional and technological advantages. Proceedings of the ICC/ 10<sup>th</sup> AISTEC Conference at the World Expo, "Grains for feeding the world" Milan, 1-3 July 2015, p. 54 (ISBN: 978-88-906680-2-9).
- 50) **Rizzello C.G.**, Pontonio E., Di Cagno R., Gobbetti M. (2015) Effects of the organic cultivation of *Triticum turgidum* spp. *durum* on flour microbiota, sourdough fermentation and bread. Proceedings of the ICC/10<sup>th</sup> AISTEC Conference at the World Expo "Grains for feeding the world" Milan, 1-3 July 2015, p. 198 (ISBN: 978-88-906680-2-9).
- 51) **Rizzello C.G.**, Coda R., Curiel J.A., Hernandez-Ledesma B., Pinto D., De Angelis M., Gobbetti M. (2015). Sourdough fermentation of Italian legumes: nutritional and functional advantages. Proceedings of the VI Sourdough Symposium (Understanding the natural complexity), Nantes, France, 29.09.2015-02.10.2015. p.55
- 52) **Rizzello C.G.**, Cavoski I., Turk J., Ercolini D., Nionelli L., Pontonio E., De Angelis M., De Filippis F., Gobbetti M., Di Cagno R. (2015). Organic cultivation of *Triticum turgidum* subsp. *Durum* is reflected in the flour-sourdough fermentation bread-axis. Proceedings of the VI Sourdough Symposium (Understanding the natural complexity), Nantes, France, 29.09.2015-02.10.2015. p.15
- 53) Coda R., **Rizzello C.G.**, Losito I., Pontonio E., Di Cagno R., Sozer N., Katina K., Gobbetti M. (2015). Lactic acid bacteria fermentation of faba bean flour, nutritional improvement and evaluation of microbial ecology. Proceedings of the VI Sourdough Symposium (Understanding the natural complexity), Nantes, France, 29.09.2015-02.10.2015. p.58
- 54) Mahmoud A., Taroub B., **Rizzello C.G.**, Mokhtar H. (2015) La flore lactique dans les grains de céréales: isolement et caractérisation moléculaire. Proceedings of the VI Sourdough Symposium (Understanding the natural complexity), Nantes, France, 29.09.2015-02.10.2015. p.75
- 55) **Rizzello C.G.**, Nionelli L., Verni M., Coda R., Gobbetti M. (2015) Antifungal activity of vegetable protein hydrolysates and selected sourdough starters during long-time storage of bread. Proceedings of the VI Sourdough Symposium (Understanding the natural complexity), Nantes, France, 29.09.2015-02.10.2015. p. 97 (Best poster award from the French Society for Microbiology (SFM))
- 56) Arte E., Coda R., **Rizzello C.G.**, Nordlund E., Katina K. (2015) Modification of bran proteins by enzyme induced cell wall degradation and microbial fermentation. Proceedings of the VI Sourdough Symposium (Understanding the natural complexity), Nantes, France, 29.09.2015-02.10.2015. p.110

57) Pontonio E, Nionelli L, Gobbetti M, Rizzello CG (2015). Mediterranean wheat cultivars: source of microbial diversity for sourdough starter design. Proceedings of the Microbial Diversity Conference (The challenge of Complexity) 27-29.10.2015, Perugia, Italy; p.273. ISBN979-12-200-0499-2.

58) Lorusso A, Coda R, Katina K, Rizzello CG (2016) Use of probiotic, autochthonous and EPS producing strains for the production of quinoa beverages, study of their effects on technological, rheological and nutritional properties on quinoa beverages. Proceedings of the Food Factor I Conference, 1-4 November 2016, Barcelona, Spain, p. 147.

59) Coda R, Rizzello CG, Verni M, Pontonio E, Katina K, Gobbetti M (2016) Microbial ecology of faba bean flour sourdoughs during backslopping procedure: evolution of the lactic acid bacteria microbiota. Proceedings of the Food Factor I Conference, 1-4 November 2016, Barcelona, Spain, p. 122.

### **3.6 Creazione nuove imprese e prodotti commercializzati** (ALLEGATO 18)

- Nel 2009, il Prof. Rizzello ha partecipato alla creazione ed alla successiva fase di start-up della società spin off accademica BiocomLAB s.r.l (Biogenic compounds Lactic Acid Bacteria) (Atto costitutivo del 22 Giugno 2009). L'oggetto di tale società è quello della valorizzazione dei risultati della ricerca nel settore di competenza al fine di realizzare attività per la definizione e messa a punto di formulazioni di sostanze biogeniche funzionali da commercializzare presso industrie alimentari, cosmetiche e farmaceutiche.

- Nel 2017 il Prof. Rizzello ha avviato la procedura per la creazione di una spin off accademica (MicroBiotech), in collaborazione con realtà produttive pugliesi e l'Università degli Studi di Bari, che ha la finalità di caratterizzare, selezionare e produrre su larga scala microrganismi starter per l'industria dei lievitati da forno, per il settore lattiero caseario ed enologico.

- Ha contribuito, come responsabile scientifico dei progetti di trasferimento tecnologico, al finanziamento da parte della Regione Puglia (PO 2007-2013, Asse I, Linea di intervento 1.1), delle seguenti "aziende di nuova costituzione":

- Polaris Alimenti Srl (Ostuni, BR)
- NovelBread (Acquaviva delle Fonti, BA).

- In riferimento ai brevetti precedentemente elencati, sono stati sviluppati e commercializzati i seguenti prodotti:

1. Pane "Giusto" senza glutine (Giuliani Srl) <http://www.giustogiuliani.com/celiaci/prodotti/pane/>;
2. "Bioscalin tricoage+" formulati per dermocosmesi con equolo di sintesi microbica, (Giuliani Srl), <https://bioscalin.it>
3. Linea Lichtena Equilydra, linea di cosmetici arricchiti con GABA di produzione microbica, (Giuliani Srl) <https://www.lichtena.it/>
4. Pane "Bontà di pane", primo prodotto gluten-free contenente farina di frumento (Giuliani Srl), <http://www.frumentodeglutinato.com/>
5. "Farina-acqua-sale", gamma di lievitati da forno con germe di grano fermentato (Novelbread Srl) <https://www.novelbread.com/>;
6. Pane tipo Toscano a lievitazione naturale (Toscanapane Srl), ottenuto con lievito naturale

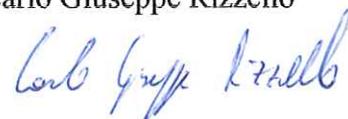
selezionato, [www.toscanapane.it](http://www.toscanapane.it)

7. "Tramezzino light", tramezzino farcito a lievitazione naturale, con ridotto contenuto in grassi (Vallefiorita Srl) <http://www.gdonews.it/2015/07/06/valle-fiorita-presenta-il-tramezzino-light/>

Bari, 16 Agosto 2017

In fede,

Carlo Giuseppe Rizzello



Dichiaro che le informazioni riportate nel presente Curriculum Vitae sono esatte e veritiere. Dichiaro di essere consapevole di quanto comporta l'affermazione della veridicità di quanto sopra rappresentato e di essere a conoscenza delle sanzioni penali di cui all'art. 76 del D.P.R. 28.12.2000, n. 445 "Testo unico delle disposizioni legislative e regolamentari in materia di documentazione amministrativa" ed in particolare di quanto previsto dall'art. 495 del Codice Penale in caso di dichiarazioni mendaci o di false attestazioni.

Il possesso dei titoli riportati nel presente curriculum vitae è dichiarato sotto forma di autocertificazione (dichiarazione sostitutiva di certificazione e dichiarazione sostitutiva di atto di notorietà) ai sensi degli artt. 19, 46 e 47 del DPR n. 445/2000. Autorizzo il trattamento dei dati personali, ai sensi e per gli effetti del D.Lgs. 30.6.2003, n. 196 "Codice in materia di protezione dei dati personali".

Allego alla domanda fotocopia semplice di un documento di riconoscimento valido ai sensi dell'art. 35 del DPR n. 445/2000.

Bari, 16 Agosto 2017

In fede,

Carlo Giuseppe Rizzello

