

TECNICA MOLITORIA

sili - molini - mangimifici - pastifici

Avanzate Tecnologie di Processo



TECNOGRAIN CARLINI srl

Via Aldo Moro, 23 - 46010 Curtatone (MN) Italy
Tel. +39 0376.478584 - 5 - Fax +39 0376.478530
info@tecnograin.com

www.tecnograin.com





Fermenti lattici per sostituire il lievito madre e il lievito di birra

**ALBERTO GIARDINI¹ - MILENA BRASCA² - ALESSANDRO POZZO³
PATRIZIA ORIGONI³ - ANDREA PIOPPI⁴**

¹Centro Sperimentale del Latte S.r.l. - Strada per Merlino 3 - 26839 Zelo Buon Persico (LO) - Italia

²CNR Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari - Via G. Celoria 2 - 20133 Milano - Italia

³Sacco S.r.l. - Via A. Manzoni 29/A - 22071 Cadorago (CO) - Italia

⁴Maestro Panificatore - Via G.B. Caporali 7/1 - 06075 Mantignana (PG) - Italia

*email: a.giardini@cslitalia.it

Parole chiave:
panificazione senza
lievito, batteri lattici
(LAB), fermento padre,
lievito madre, lievito di
panificazione, lievito-
intolleranza

SOMMARIO

Nella panificazione “senza lievito” è possibile l'utilizzo in purezza del “fermento padre”, ovvero di fermenti lattici gasogeni, produttori di CO₂, presenti anche nel lievito madre e capaci di originare le migliori fragranze dei pani ancestrali. Ma cambiare il microrganismo lievitante, da lievito a fermento, richiede un minimo di conoscenza e di taratura del sistema per ottenere i risultati attesi. In questa sede sono brevemente riassunte le differenze tra “fermento padre” (fermenti lattici), “lievito madre” e “lievito di panificazione” (*Saccharomyces cerevisiae*), e si suggerisce l'uso ottimale del “fermento padre” (batteri lattici eterofermentanti) nella tecnologia di panificazione senza lievito.



Lactic acid bacteria to replace mother dough and baker's yeast

Keywords: yeast-free baking, lactic acid bacteria (LAB), father dough, mother dough, baker's yeast, yeast intolerance

ABSTRACT

In "yeast-free" baking, it is possible to use the "father dough" in purity, that is, CO₂-producing lactic acid bacteria, also present in the mother dough and capable of originating the best fragrances of ancestral breads. Changing the leavening microorganisms, from baker's yeast to lactic acid bacteria, requires a minimum of knowledge and fine tuning of the system to obtain the expected results. The differences between "father dough" (lactic acid bacteria), "mother dough" (sourdough) and "baker's yeast" (*Saccharomyces cerevisiae*) are briefly summarized. It is furthermore explained the optimal use of the "father dough" (heterofermentative lactic acid bacteria) in yeast-free baking technology.

INTRODUZIONE

Secondo il "Dietary reference values for nutrients: Summary report, 2017" dell'EFSA, circa la metà della nostra energia giornaliera dev'essere fornita dai carboidrati, principalmente dagli amidi. Per tale ragione, il pane rappresenta un componente importante di una dieta sana ed equilibrata. Nella Ue (28) si consumano in media 63 kg di pane pro-capite all'anno (Sharkey G., European Flour Millers, 2018), pari a circa 170 g al giorno. Da tempo, tuttavia, si assiste ad un calo degli acquisti di pane, dovuto ai cambiamenti degli stili alimentari, ma anche alla rivelazione di condizioni patologiche e di intolleranze (vere o presunte) che comportano la sospensione o l'esclusione del consumo di pane e di altri derivati dei cereali (Weichselbaum, 2012). Al di là della celiachia, l'intolleranza al lievito di birra risulterebbe oggi in forte crescita. Poiché, infatti, *Saccharomyces cerevisiae* è, a livello mondiale, il microrganismo chiave della produzione delle bevande alcoliche e dei prodotti da forno, il consumatore medio si trova in una condizione di iper-esposizione cronica del proprio tessuto immunitario intestinale (GALT) agli antigeni del lievito (mannani della parete cellulare) e tale circostanza potrebbe determinare l'induzione di anticorpi anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA). L'aspetto più interessante è che i livelli ematici degli ASCA risultano più elevati nelle persone che soffrono di infiammazioni intestinali croniche (es. Morbo di Crohn, colite ulcerosa) e di altre malattie autoimmuni (Rinaldi M., 2013, 2014), ragione per cui è stata ipotizzata una possibile correlazione tra la produzione degli ASCA e lo sviluppo delle citate patologie. Altre ricerche, effettuate negli USA (Lewis *et al.*, 2012, 2013), hanno classificato il *Saccharomyces cerevisiae* al primo posto nella lista dei componenti alimentari che peggiorano la "qualità della vita" (QoL): eliminando dalla dieta il lievito, i derivati del lievito e tutti gli altri *IgG-re-*

active foods, si assisterebbe quindi, secondo gli AA delle ricerche, ad un aumento del benessere fisico nei soggetti sensibili.

Nella tecnologia dei prodotti da forno lievitati sarebbe facile sostituire il lievito di birra con polveri lievitanti, come suggerito da un esperto allergologo (Mandatori, 2005). Chiaramente, durante la lievitazione chimica non si sviluppa alcun aroma e, se tale metodica fosse davvero impiegata nella produzione del pane, il prodotto che ne deriverebbe sarebbe di scarso valore sensoriale e comunque non definibile come “pane”.

L'utilizzo di un “lievito madre” di buona qualità, in alternativa al *S. cerevisiae*, permette invece di sfornare ottimi prodotti lievitati, ma purtroppo ancora inadatti alle persone lievito-intolleranti. Infatti, il lievito madre contiene lieviti di vario genere e specie, in aggiunta ai batteri lattici (*lactic acid bacteria*, LAB). L'unica vera alternativa al lievito di birra è rappresentata dall'utilizzo in purezza di ceppi selezionati di batteri lattici eterofermentanti, produttori di anidride carbonica (CO₂), presenti nel lievito madre naturale e capaci di produrre pani dalle eccellenti qualità sensoriali e nutrizionali. Tuttavia, sostituire il microrganismo lievitante, cioè passare dal lievito industriale al fermento lattico (o a una miscela di fermenti lattici), richiede un minimo di conoscenza, di raziocinio e di taratura del sistema, per ottenere i risultati ottimali, proprio come avviene quando si prova a sostituire un ingrediente fondamentale della ricetta. Ecco perché ci proponiamo di sintetizzare le differenze tra il lievito madre, i fermenti lattici gasogeni (eterofermentanti) – da noi chiamati “fermento padre” – e il lievito di birra (*S. cerevisiae*) e di suggerire come gestirle nella panificazione *yeast-free*.

MADRE ACIDA: LA “MADRE” DEI LAB

Il lievito madre, o madre acida, non è altro che l'impasto di farina e acqua, in cui, dopo una serie di rinfreschi, si è consolidata una variegata popo-



lazione microbica naturale, presente nella farina, composta soprattutto da batteri lattici e da lieviti, accompagnati da molti altri tipi microbici. Quando raggiunge un'attività quanti-qualitativamente soddisfacente in termini di CO_2 sviluppata a temperature e tempi prefissati, la madre si può utilizzare per la panificazione (dose 15-25% b.f. in base alle caratteristiche del pane prodotto), conservandone un'aliquota in attività tramite regolari rinfreschi. Una buona madre, ben bilanciata, contiene circa 10^7 - 10^8 UFC (unità formanti colonia)/g di batteri lattici (LAB) e 10^6 - 10^7 UFC/g di lieviti di vario genere e specie. La CO_2 prodotta dai LAB eterofermentanti e dai lieviti, è il gas che permette la lievitazione dell'impasto. Questo *starter* consente di ottenere la fragranza e il gusto del "pane di una volta", ma presenta inconvenienti: composizione microbica molto variabile e mai definibile, facilità d'inquinamento con "germi di strada", necessità di effettuare continui rinfreschi. Inoltre, la presenza di lieviti rende la madre acida sconsigliabile nelle produzioni destinate ai consumatori lievito-intolleranti.

DIFFERENZE TRA LAB E LIEVITO DI BIRRA

Bisogna anzitutto considerare che i batteri lattici (LAB) sono microrganismi diversi dai lieviti, sia nel tipo cellulare, sia nelle esigenze per la crescita, sia ancora nel metabolismo fermentativo: in particolare, i LAB, o fermenti lattici, sono batteri che a seguito della fermentazione rilasciano principalmente acido lattico; i lieviti per uso alimentare (di birra e di panificazione), o fermenti alcolici, sono invece funghi unicellulari che nella fermentazione rilasciano principalmente alcol etilico.

In secondo luogo, va ricordato che la produzione industriale di lievito di birra (*S. cerevisiae*) e la selezione di biotipi particolarmente adatti per la lievitazione del pane, procedono da almeno un secolo. Pertanto gli

attuali ceppi “domestici” di lievito di panificazione sono assai diversi dagli antichi ceppi “selvaggi” di lievito di birra (che troviamo nel mosto di malto fermentato naturalmente), e sono diversi anche da quelli utilizzati dai panettieri del secolo scorso per una serie di caratteristiche quali: eccezionale produzione di CO₂; capacità di sfruttare il maltosio non appena il glucosio della farina è esaurito; maggiore resistenza alle alte concentrazioni osmotiche (impasti ricchi di sale e/o di zuccheri), nonché al congelamento; migliore tolleranza agli additivi chimici aggiunti nell’impasto; prolungato mantenimento dell’attività nella conservazione (Saranraj *et al.*, 2017).

Diversamente dai lieviti, i batteri lattici, pur condividendo coi lieviti gli stessi habitat naturali – inclusi le farine di cereali, la birra, il vino e il lievito madre di panificazione – sono stati tradizionalmente selezionati e utilizzati per migliorare la resa e la qualità delle produzioni casearie (yogurt, burro, mozzarella, ecc.), non già per incrementarne il potere gassogeno.

La conseguenza è che la maggioranza dei ceppi di LAB attualmente commercializzati per l’impiego caseario ha debole o nulla attitudine a produrre CO₂ e a lievitare gli impasti, benché tali batteri siano generalmente in grado di conferire le fragranze e i sapori caratteristici dei pani “ancestrali”. Dal punto di vista del metabolismo fermentativo, i LAB sono classificati in 3 gruppi: omofermentanti, eterofermentanti facoltativi, eterofermentanti obbligati (Axelsson, 2004).

I LAB omofermentanti, o “batteri omolattici”, fermentano unicamente gli zuccheri esosi (glucosio, fruttosio, ecc.), trasformandoli esclusivamente in acido lattico (1 glucosio \Rightarrow 2 acido lattico) e non rilasciano CO₂. Sono LAB con elevata velocità di crescita e di acidificazione e sono soprattutto sfruttati nel settore caseario. Esempi: *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus* spp., *Pediococcus* spp., *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*.



I LAB eterofermentanti facoltativi fermentano gli esosi esclusivamente in acido lattico (via omolattica), mentre fermentano i pentosi (xilosio, arabinosio, ecc.) e alcuni il gluconato, attraverso la via eterolattica (vedi avanti), senza però produrre CO_2 . Questi LAB hanno vario impiego industriale, dal settore caseario, alle fermentazioni dei vegetali, all'industria salumiera, ecc. Esempi: *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. sakei*, *Lb. alimentarius*.

I LAB eterofermentanti obbligati, o batteri eterolattici, fermentano gli zuccheri esosi in acido lattico, etanolo (o acido acetico) e CO_2 (1 glucosio \Rightarrow 1 acido lattico + 1 acido acetico/alcol etilico + 1 CO_2). Fermentano anche i pentosi attraverso la stessa via eterolattica, ma senza produrre CO_2 né etanolo. Questi LAB gasogeni, produttori di CO_2 da esosi, sono gli unici dai quali possiamo selezionare i ceppi più adatti alla lievitazione degli impasti. Esempi: *Lactobacillus fermentum*, *Lb. reuteri*, *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. sanfranciscensis*, *Leuconostoc* spp., *Weissella* spp.

Differenze nella produzione di CO_2

In pratica, solo i LAB gasogeni, eterolattici – che noi chiamiamo, genericamente, “fermento padre” – possono far lievitare l'impasto, ma con due peculiari differenze rispetto al lievito di panificazione: acidificano maggiormente e producono meno gas. Si calcola infatti che da 1 kg di impasto, in un'ora di fermentazione a 30°C, il lievito *S. cerevisiae* consuma 9-12 g di glucosio, producendo 4,5-6,0 g di CO_2 , (pari a 2,6-3,4 L di CO_2 a 25°C e 1 atm) (Sluimer, 2005). Invece, ad esempio, è stato osservato che in un kg di latte, in 4 ore di fermentazione a 45°C con *Lb. reuteri*, sono consumati 15 g di lattosio, con rilascio di circa 4 g CO_2 , ovvero circa 2,2 L di CO_2 (Østlie *et al.*, 2005). Sebbene tali comparazioni si riferiscano a substrati diversi, è facile nella pratica verificare che, impiegando come *starter* di panificazione un batterio eterolattico in sostituzione del *S. cerevisiae*, il volu-

me del pane rimane inferiore di 20-25%, così come avviene impiegando una madre acida naturale. Abbiamo già sottolineato, infatti, che i LAB, impiegati soprattutto come *starter* caseari, sono stati generalmente selezionati per migliorare le loro proprietà acidificanti e aromatizzanti, non certo per la produzione di CO₂, caratteristica che raramente interessa all'industria del latte.

Differenze nell'attività acidificante

A parità di potere tampone della farina, il pH del pane dipende dalla produzione di acidi durante la fermentazione (lievitazione) e dalla diversa forza ionica e volatilità di tali acidi. L'acido carbonico – che si forma per solubilizzazione della CO₂ nell'impasto – e l'acido acetico, sono acidi deboli e volatili, che evaporano durante la cottura. L'acido lattico, invece, è un acido relativamente forte, non è volatile ed evapora solo parzialmente. Pertanto, i valori di pH post-fermentazione e del pane, si differenziano facendo lievitare l'impasto con *S. cerevisiae*, con lievito madre naturale o con i LAB (fermento padre). Indicativamente:

- ▷ *S. cerevisiae* – pH iniziale = 5,9÷6,0 → pH post-fermentazione = 4,7÷5,0 → pH del pane = 5,4÷5,7
- ▷ lievito madre – pH iniziale 5,9÷6,0 → pH post-fermentazione = 3,5÷4,0 → pH pane = 4,2÷4,5
- ▷ fermento padre – pH iniziale 5,9÷6,0 → pH post-fermentazione = 3,5÷4,5 → pH pane = 4,2÷4,7

Il pH post-fermentazione, nel caso del lievito, è sostanzialmente il risultato della formazione di acido carbonico, mentre nel caso del fermento padre dipende anche dalla formazione di acido lattico e di acido acetico e varia sensibilmente a seconda della specie lattica utilizzata. In ogni caso è bene sapere che un pH < 4,5 inibisce la germinazione delle spore di *Bacillus subtilis* e di altri *Bacillus* spp. (incluso il patogeno *B. cereus*), che rendono la mollica “filante” e il pane incommestibile (Saranraj *et al.*, 2012).



Differenze nella produzione di aromi

Molte specie di LAB producono una gamma di sostanze aromatiche, che conferiscono la tipica fragranza ai prodotti freschi di fermentazione lattica: ad esempio, il diacetile, che dà il tipico aroma di burro fresco, l'acetaldeide, che dà l'aroma di yogurt, ecc.

Per tale ragione i batteri lattici permettono di produrre, da almeno 8.000 anni, una vasta gamma di prodotti fermentati.

In genere, i LAB omofermentanti liberano maggiori quantitativi di diacetile, acetaldeide, ed esanale, mentre gli eterofermentanti sono caratterizzati dalla produzione di acido acetico, etilacetato, vari alcoli e aldeidi.

Alcune specie di LAB, ad es. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lb. plantarum*, *Lb. sakei*, *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri*, possono metabolizzare l'arginina tramite la *ADI pathway* (ADI = arginina deiminasi), in ornitina, NH_3 , CO_2 : l'ornitina aromatizza sensibilmente l'impasto. Da notare che i lieviti sono più limitati dei LAB nella liberazione di aromi, producendo isoalcoli (es. metil-propanolo, metil-butanolo, fenil-etanolo) con le loro rispettive aldeidi, ed etilacetato (De Vuyst & Neisens, 2005).

Alcune considerazioni: 1) rispetto alla fermentazione con solo lievito, l'associazione di LAB e lievito causa un forte aumento nella produzione di alcoli, ma una riduzione di acetato d'etile e di carbonili, cioè dei principali composti volatili batterici (Katina, 2005); 2) la formazione di composti volatili può essere modificata cambiando la coltura LAB starter, il tipo di farina (tasso di estrazione), l'idratazione dell'impasto (consistenza), le temperature e i tempi di fermentazione; 3) non tutti i composti volatili che si formano nella fermentazione dell'impasto lasciano comunque un'impronta sul sapore finale del pane; 4) di regola, con tempi

di fermentazione più lunghi il sapore si accentua, ma con tempi troppo lunghi potrebbe tendere verso l'acetico; 5) i prodotti opportunamente lievitati dai fermenti hanno il sapore dimenticato, ma inconfondibile, dei pani ancestrali.

FATTORI INTERAGENTI CHE CONDIZIONANO LA FERMENTAZIONE

L'andamento della fermentazione è condizionato dalle condizioni di "comfort" o, viceversa, di "stress", in cui viene a trovarsi la specie microbica inoculata (*starter*), a cominciare dalla composizione dell'impasto, dalla tecnologia impiegata nella lavorazione (macchine e metodi), dalle temperature di incubazione.

- **Fattori intrinseci:** composizione dell'impasto, che include il tipo di farina (es. contenuto di crusca), le attività enzimatiche intrinseche (amilasica, proteasica, ecc.), l'aggiunta di altri ingredienti, coadiuvanti e additivi; tasso d'idratazione dell'impasto e conseguente attività dell'acqua (A_w , regolata soprattutto dalla percentuale di acqua, sale e zuccheri); pH e grado di ossigenazione dell'impasto (condizionato dal metodo d'impastamento); temperatura finale dell'impasto.
- **Fattori estrinseci:** temperatura e UR dell'aria dell'ambiente in cui riposa l'impasto.
- **Fattori microbiologici:** microbiota naturale (*non-starter*) della farina: tipi microbici presenti e loro numerosità; microrganismi aggiunti (*starter*): numero di UFC/g inoculate (dose), vigore fermentativo.

Si consideri che il risultato finale di qualunque trasformazione – chimica o biologica – dipende anzitutto dalla temperatura e dalla durata della trasformazione stessa. Quindi, nella fermentazione dell'impasto, una precisa impostazione del binomio temperatura/tempo è imprescindibile.



TECNICHE DI LAVORAZIONE COL FERMENTO PADRE

Nella lievitazione degli impasti, la sostituzione del lievito madre, o del lievito di birra, col “fermento padre” è facile e vantaggiosa, perché il fermento padre è un prodotto liofilizzato, in forma di polvere, che si aggiunge semplicemente alla farina prima dell’impastamento, esattamente come avviene per un lievito secco istantaneo. L’impasto col fermento non ha quindi necessità di rinfreschi e permette sia la panificazione “diretta” che quella “indiretta” (con biga o *poolish*), esattamente come avviene col lievito di birra. L’utilizzo del fermento potrebbe solo comportare una modifica della temperatura di fermentazione e della durata della stessa, in relazione alla specie lattica impiegata.

Differenze tra mesofili e termofili

Un aspetto primario da considerare nella lievitazione degli impasti è il binomio temperatura/tempo. Gli attuali ceppi di panificazione di *S. cerevisiae* sono mesofili termo-tolleranti e si moltiplicano (per gemmazione) anche a 10°C, benché molto lentamente. Sopra i 10°C la velocità di moltiplicazione del lievito aumenta sempre più al crescere della temperatura e raggiunge il massimo a 35-38°C (temperatura ottimale), dopo di che inizia a ridursi, arrestandosi al di sopra dei 45°C. Comunque, la lievitazione del pane è spesso impostata a 27-28°C, temperatura che consente una buona velocità di crescita del lievito senza modificare la qualità tecnologica dell’impasto. Diverso è invece lo scenario per quanto riguarda il variegato mondo dei fermenti lattici che, a seconda della specie e del ceppo, hanno temperature ottimali di crescita comprese tra i 20° e i 45°C, con temperature cardinali (min-max) tra i 5° e i 55°C. Pertanto, in base alle esigenze termiche, i LAB *starter* sono distinti in mesofili e termofili. Di regola, i cocchi lattici mesofili (es. *Lactococcus* spp. e *Leuconostoc* spp.) possono crescere a 10°C, ma non a 45°C,

con ottimo a 25-33°C; viceversa, cocchi termofili come *St. thermophilus*, *Pd. acidilactici* si moltiplicano a 45°C, ma non a 10°C, con ottimo a 42-43°C. A loro volta, i lattobacilli omofermentanti, tipicamente termofili (es. *Lb. delbrueckii*, *Lb. helveticus*, ecc.), non si sviluppano a 15°C, mentre trovano le condizioni ottimali a 45°C e possono crescere sino a 52-54°C. I lattobacilli eterofermentanti facoltativi (es. *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, ecc.), sono generalmente mesofili e possono crescere a 15°C ma non a 45°C. Infine, i lattobacilli eterofermentanti obbligati includono specie, come *Lb. fermentum* e *Lb. reuteri*, che si sviluppano bene alla temperatura del corpo animale (37-41°C), e specie più o meno mesofile, come *Lb. brevis* e *Lb. sanfranciscensis*.

Temperature/tempi di fermentazione

In sostanza, è possibile scegliere la specie (e il ceppo) di LAB in base al campo termico più adatto alla propria tecnologia di lavorazione e allo scopo di utilizzo: lievitazione e/o aromatizzazione. Impiegando i LAB eterofermentanti mesofili (es. *Leuconostoc mesenteroides*, *Lb. sanfranciscensis*), la lievitazione può essere impostata in un range termico di 15-35°C (con ottimo a 27-32°C), cioè vicino a quello di *S. cerevisiae*. Invece i LAB eterofermentanti termofili (es. *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri*) necessitano di un ambiente più “tropicale”: temperature di 20-52°C (con ottimo tra 35 e 45°C). Naturalmente, per ottenere una rapida partenza della fermentazione lattica, occorre che anche la temperatura dell’impasto, a impastamento terminato, sia la più idonea, facendo in modo che l’aria, nella cella di lievitazione, sia regolata a una temperatura di pochi gradi superiore alla temperatura dell’impasto e alzando adeguatamente l’umidità relativa per evitare la formazione della pellicola. È bene a tal fine verificare, con un diagramma psicrometrico, che la temperatura dell’impasto sia leggermente inferiore alla temperatura di rugiada



dell'aria. Per i pani in cassetta prodotti artigianalmente, l'alternativa è quella di proteggere l'impasto in fermentazione con film plastico: in tal modo basta solo regolare la temperatura. Chiaramente, aumentare la temperatura significa accelerare le attività enzimatiche della farina e quindi le reazioni chimiche. L'impasto più caldo tende pertanto ad essere più appiccicoso e quindi un po' più difficile da gestire. I parametri farinografici e alveografici della farina sono a tale riguardo da valutare attentamente.

Notare che: i tempi di fermentazione dei LAB sono spesso più lunghi di quelli del lievito e mai inferiori a 4-6 ore, a temperatura ottimale; generalmente, i LAB termofili hanno tempi di acidificazione più brevi dei LAB mesofili, e gli omofermentanti hanno tempi di acidificazione più brevi degli eterofermentanti; per i LAB come per il lievito, i tempi di sviluppo – a parità di altre condizioni – si possono ridurre aumentando il dosaggio d'inoculo (UFC/g) e/o regolando opportunamente la temperatura della cella di lievitazione, avendo sempre cura di non uscire dal campo termico compatibile per il tipo microbico impiegato, mesofilo o termofilo.

Effetto della dose d'inoculo

La velocità di fermentazione, e quindi l'incremento di volume dell'impasto in lievitazione, dipende, entro certi limiti, dalla dose di *starter*, espressa in UFC/g farina. Ad esempio, inoculando l'1% b.f. (10 g/kg farina) di lievito fresco compresso con carica 10 miliardi UFC/g (1×10^{10} UFC/g), pari a 1×10^8 UFC/g farina, il volume dell'impasto aumenta del 100% in 2 ore, mentre raddoppiando la dose, (2×10^8 UFC/g farina) il volume aumenta in 2 ore del 250%. Dosi e temperature di lievitazione superiori (fino ai valori ottimali) riducono ulteriormente i tempi: ad esempio, la dose 2% con lievitazione a 33°C fornisce *performance* simili alla dose 4% a 27°C. Da notare, tuttavia, che temperature >32°C e dosi di lievito compresso >5% b.f. sarebbero

da evitare, in quanto l'impasto potrebbe indebolirsi troppo (o troppo velocemente) e in tal caso non riesce a trattenere tutto il gas prodotto e quindi collassa (Sluimer, 2005).

Utilizzando i LAB, la velocità di fermentazione è correlata al valore logaritmico della dose d'inoculo (UFC/g farina) in modo lineare, a parità di temperatura. L'esperienza insegna che – grosso modo – fatto pari a 100 il tempo di fermentazione necessario per ottenere il risultato atteso (a temperatura ottimale), quando riduciamo la dose di LAB da 1×10^8 UFC/g farina (dose ottimale) a 1×10^7 UFC/g farina (1/10), il tempo di fermentazione necessario per avere lo stesso risultato passa a circa 180 (ad es. passa da 4 h 30' a circa 8 h). Si consideri che la farina contiene sempre una popolazione mista di LAB non *starter* (NSLAB), a livelli di almeno 10^4 UFC/g, insieme ad altri batteri e a funghi, alla quale si aggiunge la popolazione microbica dello *starter*. Poiché per raggiungere l'obiettivo finale per la fermentazione dell'impasto (es. volume specifico, aroma, pH) sono necessarie parecchie generazioni microbiche, il risultato lo darà in pratica la specie microbica “dominante”, cioè più veloce a moltiplicarsi alle condizioni termiche stabilite nella cella di lievitazione.

Pertanto, sia la dose che il vigore fermentativo dell'inoculo *starter* (LAB o lievito) devono essere sufficienti per “dominare” e quindi “pilotare” la fermentazione, cioè per raggiungere il risultato atteso in un tempo prestabilito. Conviene evitare che la durata della fermentazione sia eccessiva, specialmente usando ceppi di LAB fortemente acidificanti e/o farine relativamente deboli. L'impasto fermentato troppo a lungo dai LAB diviene infatti iperacido ($\text{pH} < 3,8$), con tendenza alla liquefazione (consistenza viscida) e il pane che ne risulta sarà poco voluminoso, con mollica collassata e umida (l'eccessiva acidità provoca la rottura della maglia glutinica), crosta scura e gusto acidulo: in pratica, il pane prodotto con un “lievito padre” lasciato fer-



mentare troppo a lungo e il pane prodotto con un lievito madre troppo inacidito avranno difetti strutturali e organolettici analoghi.

Effetto degli osmoliti

La percentuale di sale (NaCl), di zuccheri (mono- e disaccaridi) e di altri osmoliti nella ricetta, in rapporto al tasso d'idratazione, è un altro fattore chiave nella regolazione della velocità di crescita dei microrganismi, in quanto tali soluti riducono l'*Aw* (*water activity*), cioè la frazione di acqua "libera", indispensabile al microrganismo per conservare il turgore cellulare. Ogni specie microbica ha una sua specifica osmotolleranza, che si riverbera sulla sua velocità di moltiplicazione e, al limite, sulla sua sopravvivenza. Per esempio, se nel semplice impasto acqua/farina (60/100 p/p) la lievitazione con *S. cerevisiae* (a dose e temperatura standard) dura 30 minuti, con l'aggiunta dell'1% di NaCl dura 35 minuti, con l'aggiunta del 2,5% di NaCl dura 60 minuti, mentre col 3% di NaCl la lievitazione potrebbe essere inibita. Aggiungendo il saccarosio al posto del sale, il quadro è il seguente: col 2,5% di saccarosio la lievitazione con *S. cerevisiae* dura 37 minuti, con il 10% di saccarosio dura 58 minuti e col 15% dura 83 minuti (Cauvain & Young, 2007). Ovviamente, se l'impasto contiene zuccheri e sale, si avrà un effetto combinato degli osmoliti. I LAB, dal canto loro, hanno generalmente una buona osmotolleranza, sebbene questa caratteristica sia ampiamente variabile a seconda della specie, del ceppo e dell'osmolita. L'aggiunta di sale nell'impasto di panificazione, purché abbassi l'*Aw* a $<0,97$, è un metodo efficace per favorire la dominanza dei LAB sui batteri Gram-negativi. Di regola, tuttavia, il quadro dell'osmotolleranza di una specie microbica non è facile da stabilire e cambia in base all'osmolita. Ad esempio, *Lb. plantarum* risulta più sensibile allo stress salino rispetto a concentrazioni equi-osmolari di zuccheri, in quanto riesce più facilmente a riequi-

librare la pressione osmotica cellulare assorbendo gli zuccheri (soluti compatibili) che non il sale (Glaasker *et al.*, 1998). Un fenomeno molto simile si nota peraltro in *S. cerevisiae*. Naturalmente, per ogni batterio lattico, così come per il lievito di birra, l'osmotolleranza diminuisce quando le altre condizioni, a cominciare dal pH e dalla temperatura, divergono da quelle ideali: in termini pratici, nella fermentazione degli impasti ricchi di sale e/o di zuccheri è buona regola impostare la temperatura di fermentazione a un valore più prossimo all'ottimale termico specifico per il microrganismo impiegato, per evitare di sommare stress a stress e rallentare troppo (o bloccare) la crescita microbica.

Aggiunta di ingredienti diversi

Riguardo ancora alla composizione dell'impasto, occorre ricordare che i LAB si moltiplicano solo in substrati ricchi di sostanze nutritive. Il semplice impasto di acqua e farina – così come lo stesso latte – contiene tutti i nutrienti indispensabili per la crescita dei LAB, ma non tutti in quantità ottimali. Ad esempio, la farina contiene piccole quantità (1,5-1,9%) di maltosio, saccarosio, fruttosio e glucosio: tutti questi zuccheri sono fermentabili dai LAB, ma le esigenze sono sempre una specificità di specie (e di ceppo) e in qualche caso l'aggiunta dell'1-2% di glucosio e/o di fruttosio, oppure di malto, potrebbe migliorare la *performance* di crescita del fermento. Parimenti, è noto che le farine a FN basso (<240 secondi), più ricche di zuccheri, stimolano maggiormente le crescite microbiche (del lievito di birra come dei LAB) rispetto a quelle a FN elevato che, per contro, andrebbero corrette, ad es. con malto diastatico. L'aggiunta di ingredienti che arricchiscono l'impasto di nutrienti essenziali, come le farine di legumi, il latte, il tuorlo d'uovo, ecc., stimola e accelera la crescita dei LAB; viceversa, gli ingredienti che contengono sostanze antibatteriche, come ad esempio l'albume d'uovo



fresco (contiene lisozima) o alcuni tipi di miele (es. miele di arancio, di limone, di melata, ecc., contenenti sostanze antimicrobiche), sono da usare con prudenza, facendo saggi preliminari.

Effetto dell'ossigenazione

Durante l'impastamento l'ossigeno dell'aria viene disciolto nella fase liquida dell'impasto. Se l'agitazione meccanica è vigorosa, o prolungata, l'aerazione dell'impasto aumenta e può influenzare le crescite microbiche. Se infatti per alcuni microrganismi l'ossigeno molecolare è indispensabile, per altri è tossico. Il lievito di birra (*S. cerevisiae*) ha un metabolismo respiro-fermentativo e può quindi moltiplicarsi sia in presenza che in assenza di ossigeno atmosferico. In condizioni aerobiche, *S. cerevisiae* respira gli zuccheri e consuma tutto l'ossigeno dell'impasto. A questo punto, in condizioni anaerobiche, il lievito fermenta gli zuccheri in alcol etilico e anidride carbonica (CO_2).

I LAB, dal canto loro, sono generalmente organismi anaerobi, ma più o meno aerotolleranti, a seconda della specie. Molte specie lattiche sono comunque capaci di crescere negli impasti aerati.

A differenza del lievito di birra, i LAB hanno tuttavia un metabolismo fermentativo ossigeno-indipendente, trasformando sempre gli zuccheri in acido lattico, a prescindere dalla presenza o meno di O_2 atmosferico. Per alcuni lattobacilli eterofermentanti obbligati (es. *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*), l'ossigenazione dell'impasto sembra stimolare la crescita e la produzione di acido acetico, in sostituzione dell'etanolo (prodotto in anaerobiosi), e migliorare quindi l'aroma dell'impasto acqua/farina.

I lattobacilli capnofili, come *Lb. plantarum*, sono stimolati dalla CO_2 , ma disturbati dall' O_2 , e quindi crescono meglio in impasti poco aerati o in associazione con i microrganismi che consumano O_2 e/o che producono CO_2 .

Stoccaggio e attività dello *starter*

Quando una fermentazione non è spontanea, ma viene attivata da uno *starter* microbico – nella fattispecie lievito madre, lievito di birra, o fermento padre – la prima regola è conservare lo *starter* in “buona salute”, cioè pronto a moltiplicarsi e sempre incisivo nella sua “attività”.

L’attività, o “vigore fermentativo”, può essere misurata, nell’impasto di panificazione, in termini di velocità dello sviluppo di CO₂ (lievitazione), o di velocità di acidificazione (caduta di pH).

Tuttavia, lo *starter* è un materiale biologico ed è naturale che la sua attività, correlata al numero delle UFC, decada nel tempo. Nel caso degli *starter* LAB liofilizzati, le UFC – cellule vive e coltivabili (cioè contabili su piastra, in forma di colonie) – decadono dapprima a VBNC, cioè a cellule vive ma non coltivabili, infine gradualmente si spengono.

Va notato che le VBNC, benché non contabili su piastra con metodica standard, sono cellule ancora vive e possono in alcuni casi ancora formare colonia se trovano il substrato, la temperatura e il tempo adatti per recuperare le condizioni fisiologiche.

Ecco perché uno *starter* liofilizzato un po’ “fiacco” (nella sua attività) necessita di tempi di fermentazione più lunghi, o di un aumento del dosaggio. Diverso è invece il caso del lievito di birra fresco (es. crema di lievito, lievito compresso), le cui cellule vanno rapidamente incontro al processo di autolisi (una sorta di auto-digestione), specialmente a temperatura ambiente elevata.

La temperatura è il fattore che maggiormente influenza il processo di decadimento di tutti i materiali biologici. Secondo la nota regola di Van’t Hoff, in un campo termico compatibile con le attività enzimatiche del materiale biologico in studio, la velocità di una reazione – di decadimento, nel nostro caso – raddoppia o triplica ad ogni incremento termico di 10°C. Ad esempio, per un “fermento padre”



liofilizzato con validità di 12 mesi a +5°C, possiamo ipotizzare – a parità di tutte le altre condizioni – che uno stoccaggio a +15°C accorcerà la sua durata a ca. 4-6 mesi, che diventeranno forse 2-3 mesi a +25°C. Parimenti, un lievito di birra compresso che dura 20 gg a +5°C, dovrà probabilmente essere usato entro 5-7 gg se è stoccato a +15°C.

CONCLUSIONI

I batteri lattici (LAB), o “fermenti lattici”, sono batteri utili e benefici, che non hanno ad oggi dato origine a intolleranze alimentari.

I LAB, presenti in grande numero nel lievito madre, si moltiplicano nell’impasto acqua-farina fermentando gli zuccheri principalmente in acido lattico.

Tuttavia, i LAB possono essere omofermentanti od eterofermentanti. I primi si limitano ad acidificare e aromatizzare gli alimenti: ad esempio, sono omofermentanti quelli che trasformano il latte in yogurt.

I secondi, in aggiunta, sono gasogeni (producono CO₂) e quindi, similmente al lievito di birra, fanno lievitare gli impasti di panificazione.

I LAB sviluppano però una fermentazione acida, alternativa a quella (alcolica) del lievito, che permette di migliorare la biodisponibilità di alcuni minerali (calcio, magnesio, ferro, zinco), soprattutto attivando le fitasi della farina.

I prodotti da forno derivanti dalla fermentazione lattica sono appetitosi e digeribili, e sprigionano aromi e gusti “ancestrali”, modificabili cambiando il fermento, la farina e i parametri di fermentazione: fragranze antiche che l’impiego massiccio del lievito industriale ha fatto dimenticare.

Infine, ma non ultimo, i prodotti lievitati dal “fermento padre” senza l’impiego del lievito di birra e del lievito madre – ovvero, senza assolutamente aggiungere lieviti in ricetta – costituiscono una nuova e ghiotta opportunità per le persone intolleranti al lievito.

BIBLIOGRAFIA

- Axelsson L. "Lactic acid bacteria: classification and physiology", in (Salminen S., von Wright A., Ouwehand A.): "Lactic acid bacteria", Marcel Dekker, 1-66, 2004.
- Cauvain S., Young L. "Technology of Breadmaking". II ediz., Springer, NY, 2007.
- De Vuyst L., Neysens P. "Biodiversity of sourdough lactic acid bacteria". Trends in Food Science & Technology, 16:43-56, 2005.
- EFSA (European Food Safety Authority). "Dietary reference values for nutrients: summary report". EFSA supporting publication 2017:e15121. 92 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2017.e15121
- Glaasker E., Tjan F.S., *et al.* "Physiological response of *Lactobacillus plantarum* to salt and nonelectrolyte stress". J. Bacteriol., 180:4718-4723, 1998.
- Katina K. "Sourdough: a tool for the improved flavour, texture and shelf-life of wheat bread". Espoo 2005. VTT Publications 569.
- Lewis J.E., Lopez J. *et al.* "A pilot study eliminating immunologically-reactive foods from the diet and its effect on symptomatology and quality of life in persons with chronic migraines and headaches". Open Journal of Internal Medicine, 3:8-14, 2013.
- Lewis J.E. Woolger J.M., *et al.* "Eliminating immunologically-reactive foods from the diet and its effect on body composition and quality of life in overweight persons". J. Obes. Weig. Los. Ther., 2:1, 2012. <http://dx.doi.org/10.4172/2165-7904.1000112>
- Mandatori M. "Manuale delle allergie e delle intolleranze alimentari". Tecniche Nuove, 2005.
- Østlie H.M, Treimo J., Narvhus J.A. "Effect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk". International Dairy Journal, 15:989-997, 2005.
- Rinaldi M. "Autoimmune diseases: the sweet and sour of baking yeast". IMAJ, 16:616-618, 2014.
- Rinaldi M., Perricone R., Blank M., Perricone C., Shoenfeld Y. "Anti-*Saccharomyces cerevisiae* autoantibodies in autoimmune diseases: from bread baking to autoimmunity". Clinic Rev. Allerg. Immunol., 45:152-161, 2013.
- Saranraj P., Geetha M. "Microbial spoilage of bakery products and its control by preservatives". International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives, 3,1:38-48, 2012.
- Saranraj P., Sivasakthivelan P., Suganthi K. "Baker's yeast: historical development, genetic characteristics, biochemistry, fermentation and downstream processing". JAIR, 6,7:111-119, 2017.
- Sluimer P. "Principles of breadmaking". Am. Assoc. Cer. Chem., St Paul, 2005.
- Weichselbaum E. "Does bread cause bloating?" Nutrition Bulletin, 37:30-36, 2012.

