

TECNICA MOLITORIA

sili - molini - mangimifici - pastifici



Innovation
Quality
Professionality

www.tubimont.it

Corso Asti, 2/i
12050 Guarene (CN)
Tel. 0173 228414 - Fax 0173 33272
info@tubimont.it

TUBIMONT

 S.r.l.

CHIRIOTTI EDITORI





Biotechnologie applicate alla valorizzazione della “Pagnotta di Piana degli Albanesi”

RAIMONDO GAGLIO - FORTUNATO CIRLINCIONE - LUCA SETTANNI*

Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali - Università di Palermo -
Viale delle Scienze 4 - 90128 Palermo - Italia

*email: luca.settanni@unipa.it

Parole chiave: batteri lattici, impasto acido, farina, semola, panificazione tradizionale

SOMMARIO

Il presente articolo riassume il progetto di valorizzazione della Pagnotta di Piana degli Albanesi attraverso lo sviluppo di un impasto acido ottenuto da batteri lattici selezionati dalle materie prime, al fine di legare la produzione al territorio e permettere di recuperare le note di tipicità. Le farine e le semole rappresentano dei veri e propri habitat microbici, la cui composizione può variare in funzione dell'area geografica e delle condizioni di conservazione. Trattandosi di materie prime che non possono essere trattate termicamente prima della trasformazione, esse trasferiscono i loro microrganismi al prodotto in lavorazione. Pertanto, qualora tali microrganismi esprimano proprietà panarie rappresentano degli utili strumenti per l'esaltazione delle note aromatiche desiderate. Il contributo scientifico riporta le popolazioni lattiche delle materie prime siciliane impiegate nella produzione di pani tipici, la selezione dei batteri lattici e lo scale-up della loro applicazione.



Biotechnologies applied to the valorisation of “Pagnotta di Piana degli Albanesi” bread

Keywords: lactic acid bacteria, sourdough, flour, semolina, traditional bread making process

ABSTRACT

This article summarizes the main steps of a project to valorise Pagnotta di Piana degli Albanesi bread through the development of a sourdough obtained from the selection of lactic acid bacteria isolated from raw materials, in order to link the production to the territory and allow to recover its typical qualities. Flours and semolinas represent microbial habitats, whose composition can vary greatly depending on the geographical area and the conditions of storage. Since raw materials applied in bread making cannot be subjected to thermal treatments before fermentation, they transfer their microbial content to the product during processing. Hence, when these microorganisms express bread making properties, they represent useful tools for the exaltation of the desired aromatic notes. This scientific contribution shows the lactic acid populations of Sicilian raw materials used in the production of typical breads, the selection of lactic acid bacteria and the scale-up of their application.

INTRODUZIONE

Gli alimenti a base di cereali hanno costituito per millenni la principale fonte di sostentamento per l'uomo in tutto il mondo (Spicher, 1999; De Vuyst e Neysens, 2005). Ancora oggi, i cereali cotti o sottoposti a fermentazione dopo molitura rappresentano gli alimenti principali di varie diete in diversi Paesi (Blandino *et al.*, 2003). Il metodo più antico nella fermentazione degli sfarinati del grano è rappresentato dall'impasto acido: si tratta di una miscela di farina o semola e acqua nella quale, principalmente, i batteri lattici e i lieviti attivi fermentano gli zuccheri disponibili e fungono da agente lievitante nei successivi inoculi (De Vuyst *et al.*, 2009).

Il pane prodotto con l'impiego dell'impasto acido era già parte della dieta degli europei 5.000 anni fa (Warhen, 1985). La tecnologia che si basa sull'utilizzo dell'impasto acido è ancora comunemente applicata per produrre diversi prodotti da forno, dai pani tipici a vari prodotti dolci, inclusi quelli da ricorrenza, tanto a livello artigianale quanto a livello industriale (Corsetti e Settanni, 2007). In particolare per il pane, tale tecnologia è tipicamente utilizzata in vari Paesi europei, nella Baia di San Francisco negli Stati Uniti e in Sud America (De Vuyst e Neysen, 2005). Tuttavia, è diventata pratica comune anche in Paesi del sud-est asiatico che non sono tradizionalmente ritenuti consumatori di pane (Luangsakul *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011).

In generale, molti dei prodotti da forno ottenuti con la tecnologia dell'impasto acido hanno una forte connotazione territoriale e anche all'interno della stessa regione si possono registrare forti variabilità in relazione al processo produttivo, al rinfresco dell'agente lievitante e alle materie prime impiegate. In Italia oltre il 30% della produzione panaria è a base di impasto acido e riguarda oltre 200 tipi di pane (INSOR, 2000). La Sicilia rappresenta una delle regioni del Sud Italia con la più antica storia di produzione di prodotti da forno, probabilmente in relazione all'ampia disponibilità di grano. Questa

regione, infatti, era considerata il granaio dell'Impero Romano (Katz e Weaver, 2003). Inoltre, in Sicilia si sono condensate diverse culture in quanto, a causa della sua posizione centrale nel Mediterraneo, essa ha subito la dominazione da parte dei Greci, dei Romani, dei Vandali, degli Arabi, dei Normanni e degli Spagnoli. La storia delle varie successioni nelle conquiste dei territori regionali contribuisce a spiegare l'ampio ventaglio regionale di vari prodotti da forno, soprattutto di pani tipici. A questo proposito, in Sicilia, così come in Puglia, la semola di grano duro è spesso impiegata in panificazione (Corsetti *et al.*, 2001; Quaglia, 1988).

Negli ultimi anni, le autorità regionali hanno riconosciuto la Sicilia come area di elevato interesse per lo studio, la promozione e la preservazione del patrimonio culturale alimentare. Nel paniere dei prodotti da tutelare, la Pagnotta di Piana degli Albanesi ricopre un ruolo principale per il territorio di Piana degli Albanesi, una piccola cittadina nei pressi di Palermo circondata dai monti e abbastanza isolata. La particolare posizione geografica ha contribuito al mantenimento delle tradizioni degli abitanti di questo paese di origini albanesi, molto legati al loro tipico pane "la pagnotta", prodotta con semola di grano duro, avente pezzatura di 1 kg, di forma rotonda con il caratteristi-

Fig. 1 - Pagnotta di Piana degli Albanesi.



co taglio centrale che ne permette la facile divisione in 2 porzioni da ½ kg e ricoperta da semi di sesamo (**Fig. 1**). Nel presente articolo sono riportati i vari passaggi relativi ad una strategia biotecnologica applicata nel rispetto del protocollo tradizionale di produzione della Pagnotta di Piana degli Albanesi con l'obiettivo di migliorarne la qualità microbiologica, chimico-fisica e sensoriale. Il contributo scientifico è suddiviso in tre parti: la prima parte riguarda l'ecologia microbica delle materie prime siciliane impiegate nella produzione di pani tipici; successivamente, sono riportati i risultati dell'applicazione dei ceppi batterici selezionati nella produzione di pani sperimentali; infine, sono mostrati i risultati relativi all'applicazione dei ceppi batterici migliori su larga scala.

MATERIALI E METODI

Popolazioni lattiche delle materie prime usate per le panificazioni tipiche in Sicilia e selezione di potenziali ceppi starter

Le farine e le semole utilizzate nelle panificazioni tradizionali sono state campionate subito prima del rinfresco quotidiano, in modo tale da fotografare la popolazione microbica trasferita a ciascun impasto acido durante la produzione (Alfonzo *et al.*, 2013). La lista dei campioni analizzati è riportata in **Tab. 1**. Ciascun campione (15 g) è stato risospeso in 135 mL di soluzione di Ringer, omogeneizzato mediante stomacher e soggetto alle diluizioni seriali decimali. Successivamente, le sospensioni microbiche sono state inoculate nei terreni sintetici per lo sviluppo delle colonie. I supporti sintetici utilizzati sono stati i seguenti: terreno de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) come substrato generico per i batteri lattici di forma bastoncellare; terreno M17 come substrato per lo sviluppo dei batteri lattici di forma coccica; terreno Sour Dough Bacteria (SDB), terreno specifico per i batteri lattici

Tabella 1 - Campioni di farina e di semola impiegati per la produzione dei pani tipici in Sicilia. Addattata da Alfonso *et al.* (2013).

Campione	Tipo	Nome commerciale	Ditta (Città)
F2	Semola	Grano duro locale	Salvia (Partinico - PA)
F3	Semola	Linea Blu	Landro S.n.c. (Misilmeri - PA)
F4	Farina	Nazionale Archilli	Grandi Molini Italiani (Pachino - SR)
F5	Farina	Mister Sprint	Molitoria Sanpaolo S.p.A. (Siracusa)
F6	Semola integrale	Linea Rossa	Landro S.n.c. (Misilmeri - PA)
F7	Farina	Terra	Selezione Casillo S.r.L. (Corato - BA)
F9	Semola	Grano duro locale	Molini Gattuso (Castronovo di Sicilia - PA)
F10	Semola	Divella	F. Divella S.p.A. (Rutigliano - BA)
F11	Semola	Grano duro locale	Granaio del Sole (Palermo)
F23	Semola	Grano duro locale	Molino Ivana (Roccapalumba - PA)
F26	Semola	Grano duro locale	Molino Ancona (San Giovanni Gemini - AG)
F30	Semola	Grano duro locale	Molini Roccasalva & C. (Modica - RG)
F33	Semola	Grano duro locale	Molini Grillo & C. S.a.S. (Marsala - TP)

degli impasti acidi preparato secondo le istruzioni riportate da Kline e Sugihara (1971). Le conte microbiologiche hanno messo in evidenza la presenza di livelli consistenti di batteri lattici in quasi tutti i campioni di farine/semole (**Tab. 2**). Le conte più alte sono state registrate sul terreno M17 per tutti i campioni tranne l’F26. I batteri lattici tipici degli impasti acidi sono stati rilevati sul terreno SDB a livelli poco più bassi di quelli contati sul substrato M17. Tuttavia, i livelli più bassi registrati sul terreno MRS hanno indicato una presenza limitata di batteri lattici di forma bastoncellare a cui appartengono i lattobacilli che tipicamente dominano le popolazioni lattiche degli impasti acidi maturi (Corsetti e Settanni, 2007).

I batteri lattici dominanti, ovvero i batteri che hanno generato le colonie nelle piastre in cui erano state inoculate le diluizioni seriali più elevate, sono stati prelevati ed isolati in purezza mediante la tecnica dello striscio. La caratterizzazione fenotipica ha previsto dapprima l’analisi microscopica e la suddivisione delle forme cocciche e bastoncellari in funzione della disposizione delle cellule e, successivamente, il raggruppamento sulla base di parametri fisiologici e biochimici, tra cui le temperature di crescita e il tipo di metabo-



lismo fermentativo valutato dalla produzione di CO₂ (eterofermentante) o dall'assenza di gas (omofermentante). Gli isolati di forma coccica sono stati testati in presenza di NaCl (6,5% p/p) e a pH 9,6 per l'identificazione diretta degli enterococchi. Dalla caratterizzazione morfologica, fisiologica e biochimica sono emersi 9 gruppi fenotipici, di cui solo tre di forma bacillare. In particolare, 2 gruppi di batteri lattici di forma bastoncellare erano caratterizzati da un metabolismo eterofermentante obbligato, determinante per lo sviluppo degli impasti acidi (Corsetti e Settanni, 2007).

I batteri lattici sono stati caratterizzati a livello di ceppo mediante la tecnica *randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD), applicata come descritto da Settanni *et al.* (2012), la quale ha riconosciuto 50 profili polimorfici diversi, corrispondenti ad altrettanti ceppi batterici. La successiva identificazione, ottenuta applicando il metodo del sequenziamento del gene 16S rRNA, come descritto da Weisburg *et al.* (1991), e comparando le sequenze nucleotidiche dei ceppi isolati con quelle depositate nelle banche dati ufficiali GenBank/EMBL/DDBJ

ha permesso di rilevare la presenza di 11 specie di batteri lattici appartenenti a 6 generi (*Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* e *Weissella*). Le specie più rappresentate erano *Leuconostoc citreum* (13 ceppi), *Weissella cibaria* (9 ceppi), *Lactobacillus plantarum* (7 ceppi) e *Leuconostoc pseudomesenteroides* (7 ceppi).

Tutti i 50 ceppi di batteri lattici sono stati valutati per le attitudini tecnologiche in panificazione, al fine di evidenziare il loro ruolo

Tabella 2 - Livelli dei batteri lattici rilevati nei campioni di farine e semole prelevati nei panifici siciliani al momento dei rinfreschi giornalieri. Addattata da Alfonzo *et al.* (2013).

Campione	Substrati di crescita		
	MRS	M17	SDB
F2	8,3 * 10 ²	3,1 * 10 ⁴	1,2 * 10 ⁴
F3	3,0 * 10 ³	4,4 * 10 ⁴	2,8 * 10 ³
F4	1,0 * 10 ¹	1,9 * 10 ⁴	<1,0 * 10 ²
F5	<1,0 * 10 ¹	3,6 * 10 ²	5,2 * 10 ²
F6	5,0 * 10 ³	3,0 * 10 ⁴	5,0 * 10 ³
F7	<1,0 * 10 ¹	2,8 * 10 ³	<1,0 * 10 ²
F9	4,0 * 10 ³	5,0 * 10 ⁴	3,7 * 10 ³
F10	3,0 * 10 ¹	1,0 * 10 ⁴	3,0 * 10 ³
F11	<1,0 * 10 ¹	1,0 * 10 ⁴	9,5 * 10 ²
F23	<1,0 * 10 ¹	3,8 * 10 ³	<1,0 * 10 ²
F26	2,3 * 10 ⁴	8,5 * 10 ²	1,8 * 10 ²
F30	7,1 * 10 ¹	4,2 * 10 ⁴	<1,0 * 10 ²
F33	3,0 * 10 ³	1,4 * 10 ⁴	2,5 * 10 ⁴

I livelli dei batteri sono espressi in unità formanti colonia (UFC)/g.

I risultati si riferiscono al valore medio di 4 misurazioni.



durante la fermentazione degli impasti acidi. In particolare, essi sono stati valutati per la capacità acidificante determinata in estratto di farina sterile (SFE), per l'attività proteolitica in presenza di siero albumina bovina (BSA) e gelatina, per la produzione di attività antimicrobica contro *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* e *Lactobacillus sakei* e per la produzione di acidi organici e, infine, per la generazione di composti volatili responsabili dell'aroma. Le metodologie sono dettagliate nell'articolo di riferimento (Alfonzo *et al.*, 2013). Dal test di acidificazione, sono risultati 11 ceppi in grado di abbassare il pH a livelli tali da poterli definire impasti acidi entro 8 h, un arco temporale compatibile con la lievitazione naturale condotta a livello industriale.

APPLICAZIONE E RISULTATI

Processo di minipanificazione con l'applicazione dei ceppi isolati dalle materie prime per la definizione delle colture starter

Gli 11 ceppi di batteri lattici isolati dalle farine e/o dalle semole e che hanno mostrato proprietà tecnologiche interessanti mediante i saggi *in vitro* (*Lb. plantarum* PON100274, *Lb. sakei* PON10098, *Ln. citreum* PON10021, PON10079 e PON10080, *Ln. mesenteroides* PON10031, *Ln. pseudomesenteroides* PON10024 e PON100315 e *W. cibaria* PON10030, PON10032 e PON100337) sono stati testati per l'applicazione *in situ* e i relativi pani sperimentali ottenuti sono stati analizzati per varie caratteristiche qualitative (Settanni *et al.*, 2013).

Tutti gli 11 ceppi sono stati riattivati in MRS a 30°C per 24 h. In aggiunta agli 11 ceppi, sono stati anche impiegati 2 ceppi di *Lb. sanfranciscensis* (PON100100 e PON100336) come confronto, in quanto tale specie è considerata la specie chiave per gli impasti acidi italiani (Gobbetti e Corsetti, 1997) che appartengono alla tipologia I, ovvero prodotti con tecniche tradizionali e



sottoposti a rinfreschi giornalieri continui effettuati a temperatura ambiente per mantenere i microrganismi nello stato attivo (Böcker *et al.*, 1995).

I ceppi sono stati testati individualmente negli impasti acidi sperimentali. L'inoculo è stato effettuato alla concentrazione finale di 10^6 UFC/g. Ciascun impasto di 200 g è stato prodotto con una resa dell'impasto (*dough yield*, DY), parametro che rappresenta il rapporto tra il peso dell'impasto ed il peso della farina moltiplicato per 100, pari a 160, ottenuto aggiungendo a 125 g di farina 75 mL di acqua di rubinetto sterile contenente la sospensione cellulare. Per escludere l'interferenza della microflora indigena delle farine, gli impasti acidi sperimentali sono stati ottenuti dapprima con la farina sterilizzata ai raggi γ (25 kGy) dalla ditta Gammatom, anche per valutare le reali performance *in situ* di ciascun ceppo e, successivamente, gli impasti acidi sono stati prodotti con la farina non trattata, in modo da valutare la capacità dei ceppi aggiunti di dominare sulla microflora indigena. Gli impasti sono stati suddivisi in 2 porzioni: porzioni di 80 g sono state trasferite in forme di acciaio circolari del diametro di 10 cm, coperte con foglio di alluminio, incubate a 30°C per 8 h e sottoposte a cottura mediante forno industriale a convezione per 20 minuti a 218°C; le altre porzioni di 120 g sono state lasciate nei becker di vetro, coperte con parafilm ed incubate come le altre per le successive analisi degli impasti (pH, acidità totale titolabile, conte microbiologiche, concentrazione di acido lattico e acetico e composti volatili).

L'acidificazione della farina sterile ha permesso di stabilire la capacità dei batteri delle materie prime di condurre il processo di fermentazione. L'acidificazione della farina non sterile è mostrata in **Tab. 3**. Si nota come a 21 h tutti gli impasti siano stati caratterizzati da valori tipici degli impasti acidi, ma ad 8 h solo gli impasti acidi ottenuti con i ceppi *Ln. citreum* PON10079 e PON10080 e *W. cibaria* PON10030 e PON10032 avevano subito un'acidificazione rilevante. Sugli stessi impasti sono state effettuate anche le conte microbiologi-

Tabella 3 - pH degli impasti sperimentali preparati con farina non sterile e inoculi batterici singoli. Addattata da Settanni *et al.* (2013).

Ceppi di batteri lattici	Tempi di fermentazione					
	T ₀	2 h	4 h	6 h	8 h	21 h
controllo nSFD	6,11	5,89	5,89	5,89	5,64	5,08
controllo wnSFD	6,12	5,94	5,93	5,93	5,90	5,28
<i>Lb. plantarum</i> PON100274	6,05	5,94	5,88	5,71	5,35	3,59
<i>Lb. sanfranciscensis</i> LMG 17498 ^T	6,07	5,91	5,91	5,80	5,49	3,66
<i>Lb. sanfranciscensis</i> PON100100	6,10	5,90	5,89	5,84	5,50	3,81
<i>Lb. sanfranciscensis</i> PON100336	6,06	5,90	5,89	5,85	5,47	3,74
<i>Lb. sakei</i> PON10098	6,09	5,93	5,90	5,47	4,39	3,75
<i>Ln. citreum</i> PON10021	6,06	5,87	5,83	5,76	5,51	3,69
<i>Ln. citreum</i> PON10079	6,06	5,89	5,82	5,18	4,34	3,89
<i>Ln. citreum</i> PON10080	6,04	5,90	5,86	5,33	4,41	3,97
<i>Ln. mesenteroides</i> PON10031	6,07	5,90	5,72	5,08	4,36	3,95
<i>Ln. pseudomesenteroides</i> PON10024	6,13	5,92	5,81	5,36	4,91	4,14
<i>Ln. pseudomesenteroides</i> PON100315	6,06	5,88	5,82	5,43	4,64	3,87
<i>W. cibaria</i> PON10030	6,06	5,92	5,75	5,19	4,35	3,95
<i>W. cibaria</i> PON10032	6,05	5,91	5,74	5,22	4,37	3,96
<i>W. cibaria</i> PON100337	6,09	5,91	5,86	5,47	4,44	3,91

Abbreviazioni: nSFD=controllo con H₂O sterile; wnFDS=controllo con H₂O non sterile; *Lb.*=*Lactobacillus*; *Ln.*=*Leuconostoc*; *W.*=*Weissella*.

I risultati si riferiscono al valore medio di 4 misurazioni.

che, le quali hanno messo in evidenza che gli impasti ottenuti con i ceppi *Ln. citreum* PON10079 e PON10080 e *W. cibaria* PON10030 e PON10032 erano proprio quelli caratterizzati dai livelli di crescita più alti in corrispondenza delle 8 h. Gli isolati dai livelli di conta più elevati sono stati sottoposti ad analisi mediante tecnica RAPD-PCR per il confronto dei profili polimorfici con i ceppi puri. Tale approccio ha permesso di verificare la dominanza dei ceppi aggiunti come starter durante la fase di fermentazione, indicando l'adattamento dei ceppi delle farine alle condizioni di fermentazione.

Le analisi degli acidi organici (**Tab. 4**) hanno permesso di differenziare i vari impasti. L'acido lattico era nel range 1,36-6,47 mg/g con il valore più basso mostrato da *Lb. sanfranciscensis* LMG 17498^T e quello più alto da *Lb. plantarum* PON100274. Il valore più basso di acido acetico (0,25 mg/g) è stato registrato in



corrispondenza di *Lb. sakei* PON10098, mentre quello più alto (1,08 mg/g) in presenza di *Ln. pseudomesenteroides* PON100315. In relazione al quoziente di fermentazione (QF), ovvero il rapporto molare tra l'acido lattico e quello acetico, oscillava tra 2,06 e 10,56; gli impasti inoculati con *Leuconostoc* spp. e *W. cibaria* PON10030 e PON10032 erano caratterizzati dal miglior quoziente di fermentazione, in quanto compreso tra 2,0 e 2,7 suggerito come range ottimale per un impasto acido (Hammes e Gänzle, 1998). Il quoziente di fermentazione è un parametro molto importante, in quanto influenza il profilo aromatico degli impasti acidi (Corsetti e Settanni, 2007).

Dopo cottura e raffreddamento a temperatura ambiente, i pani sperimentali sono stati analizzati per vari parametri qualitativi, tra cui l'altezza, il colore della crosta e della mollica, la sofficità e in relazione

Tabella 4 - Acidi organici prodotti dai singoli inoculi di batteri lattici negli impasti sperimentali dopo 8 ore di fermentazione. Adattata da Settanni *et al.* (2013).

Ceppi di batteri lattici	Acido lattico (mg/g)	Acido acetico (mg/g)	QF
controllo SFD (T ₀)	0,00	0,00	0
controlloSFD (T ₈)	1,31	0,15	5,82
control wnSFD (T ₀)	1,11	0,17	4,35
control wnSFD (T ₈)	1,31	0,25	3,49
<i>Lb. plantarum</i> PON100274	6,47	0,67	6,44
<i>Lb. sanfranciscensis</i> LMG 17498 ^T	1,36	0,30	3,02
<i>Lb. sanfranciscensis</i> PON100100	2,24	0,47	3,18
<i>Lb. sanfranciscensis</i> PON100336	4,81	0,61	5,26
<i>Lb. sakei</i> PON10098	3,96	0,25	10,56
<i>Ln. citreum</i> PON10021	2,28	0,25	6,08
<i>Ln. citreum</i> PON10079	2,45	0,68	2,40
<i>Ln. citreum</i> PON10080	3,47	0,87	2,66
<i>Ln. mesenteroides</i> PON10031	2,81	0,70	2,68
<i>Ln. pseudomesenteroides</i> PON10024	4,17	0,97	2,87
<i>Ln. pseudomesenteroides</i> PON100315	3,99	1,08	2,46
<i>W. cibaria</i> PON10030	3,31	0,84	2,63
<i>W. cibaria</i> PON10032	1,42	0,46	2,06
<i>W. cibaria</i> PON100337	2,45	0,40	4,08

Abbreviazioni: SFD=controllo con H₂O sterile e farina sterile; wnFDS=controllo con H₂O non sterile e farina non sterile; *Lb.*=*Lactobacillus*; *Ln.*=*Leuconostoc*; *W.*=*Weissella*.

I risultati si riferiscono al valore medio di 4 misurazioni.



all'alveolatura, considerando la frazione di vuoto, la densità delle celle e l'area media delle celle. Dai risultati si evinceva che l'altezza maggiore era stata raggiunta dai pani ottenuti con il ceppo *Lb. sanfranciscensis* PON100100. Tuttavia, i pani derivanti dalla fermentazione di *Ln. citreum* PON10079 e PON10080 e *W. cibaria* PON10030 e PON10032 erano caratterizzati da altezze consistenti. I parametri del colore erano abbastanza paragonabili tra i vari campioni di pane; le uniche differenze sono state registrate fra le tesi ottenute con farine sterili e non sterili. La durezza dei pani è risultata essere influenzata dai ceppi. I pani più soffici sono risultati quelli ottenuti con *Ln. citreum* e *W. cibaria*. Queste due specie e *Lb. sanfranciscensis* hanno permesso anche di ottenere i valori più elevati di frazione di vuoto e densità delle celle determinando, quindi, una migliore espansione degli impasti.

Da tale approccio tecnologico integrato, i ceppi *Ln. citreum* PON10079 e PON10080 e *W. cibaria* PON10030 e PON10032 sono stati selezionati per il successivo impiego come colture starter non-*Lactobacillus* per la produzione di impasti acidi da utilizzare su larga scala.

Applicazione delle colture starter selezionate dalle materie prime per la produzione della pagnotta di Piana degli Albanesi su larga scala

I 4 batteri lattici eterofermentanti obbligati [*W. cibaria* PON10030 (W_1) e PON10032 (W_2) e *Ln. citreum* PON 10079 (L_1) e PON10080 (L_2)] sono stati testati nell'impianto industriale del panificio "Piana delle Bontà" sito a Piana degli Albanesi (PA) come singoli ceppi starter (quattro tesi: L_1 ; L_2 ; W_1 ; W_2), starter mono-specie multi-ceppo [due tesi: L_1+L_2 (L_{12}); W_1+W_2 (W_{12})] e starter multi-specie [una tesi: $L_1+L_2+W_1+W_2$ (LW)]. Ciascun impasto acido (**Fig. 2**) è stato prodotto miscelando 10 L di H_2O di rubinetto, 200 mL di inoculo di batteri lattici e 10 kg



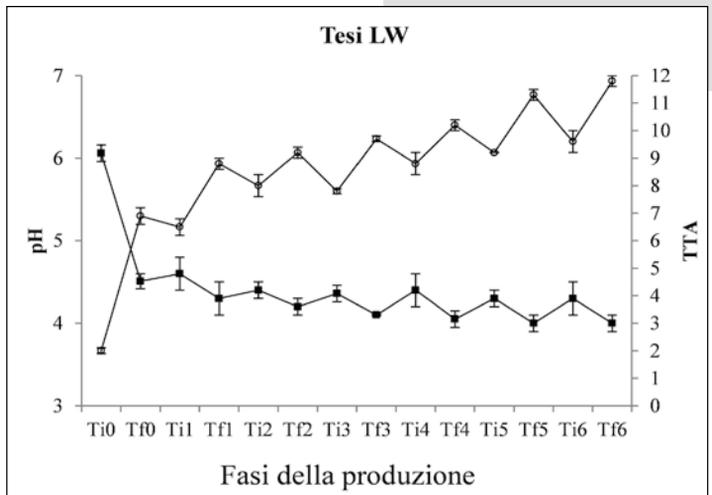
di semola commerciale (Salvia Gaspare, Partinico, Italia) in un fermentatore. Ciascun inoculo è stato risospeso nell'H₂O a 28°C e, successivamente, aggiunto alla semola fino ad ottenere un livello di inoculo nella massa di circa 10⁶ UFC/g. La fermentazione è avvenuta a 28°C per 16 h (impasto acido 0). Dieci kg di impasto così ottenuto sono stati trasferiti in cella refrigerata e impiegati il giorno seguente per il primo rinfresco aggiungendo 5 kg di semola e 5 L di H₂O e sottoposti ad altre 16 h di fermentazione. Per ciascun inoculo sono così stati effettuati sei rinfreschi a settimana (impasti acidi 1-6). La produzione controllo è stata ottenuta come per gli impasti sperimentali utilizzando 200 g dell'impasto acido del panificio al posto degli inoculi liquidi dei batteri selezionati. Tutte le produzioni sono state ripetute dopo 2 mesi, per un totale di 2 impasti acidi *ex-novo* e 12 rinfreschi per ciascun inoculo (Corona *et al.*, 2016).



Fig. 2 - Madre acida utilizzata nelle prove di panificazione.

La cinetica di acidificazione valutata mediante pH e ATT per i rinfreschi giornalieri ha indicato un aumento della concentrazione degli acidi consistente per tutte le tesi. A titolo di esempio, in **Fig. 3** sono riportati gli andamenti della tesi LW. Si nota benissimo che l'ATT è correlata linearmente con il pH; all'aumentare dell'ATT si registra, infatti, la diminuzione del valore di pH. Le concentrazioni de-

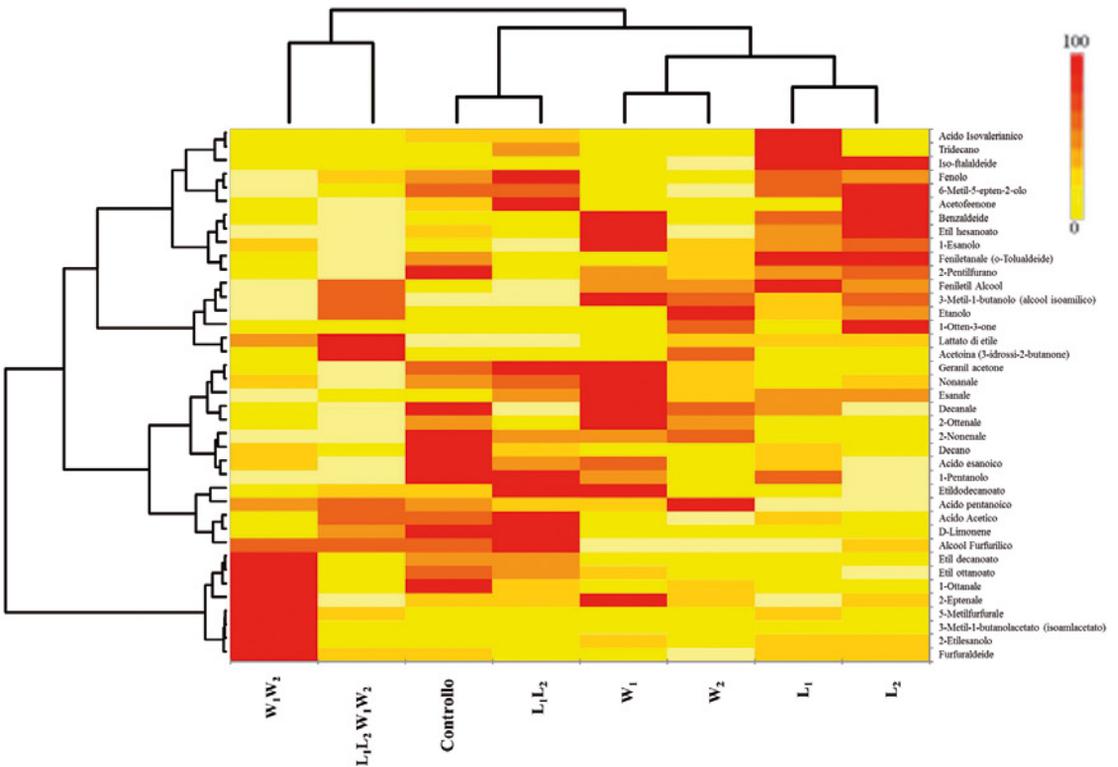
Fig. 3 - Cinetica di acidificazione durante la produzione e propagazione degli impasti acidi sperimentali. Adattata da Corona *et al.* (2016).



gli acidi lattico e acetico sono aumentate in maniera consistente durante la fermentazione e i quozienti di fermentazione degli impasti acidi sperimentali erano più bassi di quelli dell'impasto acido controllo, effetto dovuto all'elevata produzione di acido acetico da parte dei batteri inoculati. I livelli dei batteri lattici erano nell'ordine di 9 Log UFC/g per tutti gli impasti acidi e il confronto dei profili polimorfici dei ceppi isolati ai livelli più alti ha permesso di verificare l'assoluta dominanza dei ceppi selezionati aggiunti.

Dopo il sesto rinfresco, gli impasti sono stati impiegati per la produzione del pane seguendo il protocollo tradizionale. I pani risultanti sono stati analizzati per i parametri qualitativi come i panini al precedente paragrafo. L'incremento maggiore dell'altezza è stato registrato per i pani della tesi LW, mentre, in relazione alla sofficità, i risultati migliori sono stati mostrati in

Fig. 4 - Composti volatili emessi dagli impasti sperimentali. Adattata da Corona et al. (2016).



presenza di *W. cibaria* PON10032 da solo o in combinazione. I differenti inoculi hanno anche influenzato il colore della crosta e della mollica, così come l'alveolatura. Le pagnotte sono state anche analizzate per le emissioni dei composti organici volatili. Come mostrato in **Fig. 4**, i pani erano caratterizzati da livelli differenti di acidi, alcoli, aldeidi, esteri, chetoni, terpeni, furani e fenoli.

L'analisi sensoriale condotta da un panel addestrato composto da 12 assaggiatori ha indicato che tutti i pani ottenuti con i batteri lattici selezionati erano caratterizzati da un livello di acidità percepita inferiore a quello della tesi controllo e il prodotto maggiormente apprezzato è risultato quello ottenuto con la miscela dei batteri lattici più complessa, ovvero quello della tesi LW. Tali risultati hanno chiaramente dimostrato che i batteri lattici eterofermentanti obbligati isolati dalle materie prime siciliane sono stati in grado di determinare la produzione della Pagnotta di Piana degli Albanesi apprezzata dai consumatori.

CONCLUSIONI

Il presente articolo fornisce una dettagliata strategia messa in atto per il recupero e la valorizzazione di un pane tipico, partendo dalle materie prime usate in panificazione e arrivando alla definizione della miscela di colture starter per il processo di fermentazione, attività finanziate dal progetto di ricerca industriale e formazione PON01_02249 dal titolo "Applicazione di biotecnologie molecolari e microrganismi protecnologici per caratterizzazione e valorizzazione delle filiere lattario-casearia e prodotti da forno di produzioni tipiche" (Prot. MIUR n. 738/Ric. del 2011). Nello specifico, è stato preso in esame il caso della Pagnotta di Piana degli Albanesi. Il lavoro è nato dall'esigenza dei produttori della Pagnotta di Piana degli Albanesi che si sono rivolti all'Università di Palermo con una specifica richiesta: sviluppare un impasto acido *ad hoc* per l'ottenimento di una pagnotta apprez-

L'OBIETTIVO
È STATO RISCOPRIRE
LE CARATTERISTICHE
TIPICHE DELLA
PAGNOTTA DI PIANA
DEGLI ALBANESI CHE
AVEVA SUBITO UN CALO
DEI CONSUMI

zata dai consumatori. Negli ultimi anni, infatti, essi avevano registrato una congrua diminuzione della richiesta di tale prodotto. La principale motivazione alla base della disaffezione progressiva dei consumatori di Pagnotta di Piana degli Albanesi risiedeva, principalmente, nell'elevata acidità del pane e nel volume molto contenuto, fenomeno imputabile ad uno squilibrio dei rapporti tra i batteri lattici. Negli impasti acidi, infatti, soprattutto quando sono preparati in modo tradizionale, le specie eterofermentanti obbligate che producono anche acido acetico o etanolo e CO₂ svolgono un ruolo fondamentale durante la produzione (Salovaara, 1998), in quanto oltre a determinare la formazione delle note aromatiche desiderate, contribuiscono parzialmente all'aumento del volume (Gobbetti *et al.*, 1995).

Partendo dal presupposto che il consumo dei prodotti tipici rappresenti una concreta risposta alla ricerca di autenticità da parte dei consumatori, il principale obiettivo della strategia proposta era quello di riscoprire le caratteristiche tipiche di un pane che negli ultimi anni aveva subito un calo dei consumi, poiché i suoi caratteri di tipicità non erano più riconosciuti dagli abitanti del territorio.

In questo articolo sono state riassunte le varie fasi di sviluppo di un impasto acido in grado di valorizzare la Pagnotta di Piana degli Albanesi. Per legare la produzione del pane al territorio di origine è stata presa in considerazione la "territorialità" della comunità microbica delle materie prime usate nella panificazione. Le farine e le semole locali sono state utilizzate come fonte di isolamento dei batteri lattici "autoctoni" del territorio, in grado di effettuare la fermentazione eterolattica. Tali microrganismi sono stati selezionati per la messa a punto degli impasti acidi in grado di conferire la tipicità desiderata, in termini di acidità, sapore, odore e volume di impasto. Successivamente, si è provveduto alla produzione di impasti sperimentali (mini-panificazioni) valutati per gli aspetti qualitativi e, infine, i consorzi batterici sono stati applicati a livello industriale. Grazie a questa strategia, la Pagnotta di



Piana degli Albanesi ha riscontrato un crescente favore presso i consumatori che riconoscevano nel prodotto i sapori e gli odori di “una volta” in un pane con un’alveolatura uniforme e molto regolare. Questo ha generato un impatto positivo non solo economico, ma anche sociale. È innegabile, infatti, che l’individuazione e il riconoscimento delle caratteristiche che rendono tipico un alimento rappresenti il primo passo di un processo di valorizzazione volto a rafforzare l’identità e la cultura locale di cui quel prodotto è espressione.

BIBLIOGRAFIA

- Alfonzo A., Ventimiglia G., Corona O., Di Gerlando R., Gaglio R., Francesca N., Moschetti G., Settanni L. “Diversity and technological potential of lactic acid bacteria of wheat flours”. *Food Microbiology*, 36:343-354, 2013.
- Blandino A., Al-Aseeri M.E., Pandiella S.S., Cantero D., Webb C. “Cereal-based fermented foods and beverages”. *Food Research International*, 36:527-543, 2003.
- Böcker G., Stolz P., Hammes W.P. “Neue Erkenntnisse zum Ökosystem Sauerteig und zur Physiologie des sauerartig-typischen Stämme *Lactobacillus sanfrancisco* und *Lactobacillus pontis*”. *Getreide Mehl und Brot*, 49:370-374, 1995.
- Corona O., Alfonzo A., Ventimiglia G., Nasca A., Francesca N., Martorana A., Moschetti G., Settanni L. “Industrial application of selected lactic acid bacteria isolated from local semolinas for typical sourdough bread production”. *Food Microbiology*, 59:43-56, 2016.
- Corsetti A., Lavermicocca P., Morea M., Baruzzi F., Tosti N., Gobbetti M. “Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy”. *International Journal of Food Microbiology*, 64:95-104, 2001.
- Corsetti A., Settanni L. “Lactobacilli in sourdough fermentation”. *Food Research International*, 40:539-558, 2007.
- De Vuyst L., Neysen P. “The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions”. *Trends in Food Science and Technology*, 16:43-56, 2005.
- De Vuyst L., Vrancken G., Ravyts F., Rimaux T., Weckx S. “Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota”. *Food Microbiology*, 26:666-675, 2009.
- Gobbetti M., Corsetti A. “*Lactobacillus sanfrancisco* a key sourdough lactic acid bacterium: a review”. *Food Microbiology*, 14:175-187, 1997.
- Gobbetti M., Simonetti M.S., Corsetti A., Santinelli F., Rossi J., Damiani P. “Volatile compound and organic acid production by mixed wheat sour



- dough starters: influence of fermentation parameters and dynamics during baking". *Food Microbiology*, 12:497-507, 1995.
- Hammes W.P., Gänzle M.G. "Sourdough breads and related products". In: B.J.B. Wood (Ed.), "Microbiology of fermented foods", vol. 1, p. 199-216. Blackie Academic and Professional, London, United Kingdom, 1998.
- Istituto Nazionale di Sociologia Rurale (INSOR) "Atlante dei prodotti tipici: il pane". In: F. Angeli (Ed.). Agra RAI-ERI, Roma, 2000.
- Katz S.H., Weaver W.W. "Encyclopedia of food and culture". Scribner, 2003.
- Kline L., Sugihara T.F. "Microorganisms of the San Francisco sourdough bread process. II. Isolation and characterization of un described bacterial species responsible for the souring activity". *Applied Microbiology*, 21:459-465, 1971.
- Luangsakul N., Keeratipibul S., Jindamorakot S., Tanasupawat S. "Lactic acid bacteria and yeasts isolated from the starter doughs for Chinese steamed buns in Thailand". *Food Science and Technology*, 42:1404-1412, 2009.
- Quaglia G.B. "Other durum wheat products". In: Fabriani G., Lintas C. (Eds.), "Durum wheat: chemistry and technology". American Association of Cereal Chemists. Minnesota, St. Paul, pp. 263-282, 1988.
- Salovaara H. "Lactic acid bacteria in cereal-based products". In: S. Salmiinen, A. von Wright (Eds.), "Lactic acid bacteria, microbiology and functional aspects". Marcel Dekker, New York, 1998.
- Settanni L., Di Grigoli A., Tornambè G., Bellina V., Francesca N., Moschetti G., Bonanno A. "Persistence of wild *Streptococcus thermophilus* strains on wooden vat and during the manufacture of a traditional Caciocavallo type cheese". *International Journal of Food Microbiology*, 155:73-81, 2012.
- Settanni L., Ventimiglia G., Alfonzo A., Corona O., Miceli A., Moschetti G. "An integrated technological approach to the selection of lactic acid bacteria of flour origin for sourdough production". *Food Research International*, 54:1569-1578, 2013.
- Spicher G. "Zur Geschichte des Sauerteiges". In: Spicher G., Stephan H. (Eds.), "Handbuch Sauerteig: Biologie, Biochemie, Technologie". Behr's Verlag, Hamburg, pp. 3-7, 1999.
- Währen M. "Die entwicklungsstationen vom korn zum brot in 5. und 4. jahrtausend. Neueste untersuchungsergebnisse von ausgrabungsfunden". *Getreide Mehl und Brot*, 39:373-379, 1985.
- Weisburg W., Barns S.M., Pelletier D.A., Lane D.J. "16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study". *Journal of bacteriology*, 173:697-703, 1991.
- Zhang J., Liu W., Sun Z., Bao Q., Wang F., Yu J., Chen W., Zhang H. "Diversity of lactic acid bacteria and yeasts in traditional sourdoughs collected from western region in Inner Mongolia of China". *Food Control*, 22:767-774, 2011.

