



UNIONE EUROPEA  
Fondo Sociale Europeo



Università degli Studi di Sassari

*Dottorato di Ricerca in Biotecnologie Microbiche Agro-Alimentari*  
*Dipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e Biotecnologie Agro-Alimentari*  
*Sezione di Tecnologie Alimentari*

**Pani tradizionali prodotti con pasta acida: valutazione delle  
caratteristiche tecnologiche degli impasti, delle caratteristiche  
di texture del prodotto finito e cambiamenti durante la fase di  
conservazione**

*Tutor:*

*Prof. Antonio Piga*

*Dra Concepción Esteve Collar*

*Coordinatore:*

*Chiar.mo Prof. Giovanni Antonio Farris*

*Tesi di dottorato:*

*Dott. Costantino Fadda*

***Ciclo XXI, 2005-2008***

# INDICE

I. INTRODUZIONE.....	4
1. - Premessa .....	4
1.1 - Generalità sui cereali.....	4
1.2 - Cenni storici sul Frumento.....	5
1.3 - Cenni storici sulla coltivazione del frumento in Sardegna .....	6
1.4 - La coltivazione del Frumento in Italia e nel resto del mondo.....	8
1.5 - La coltivazione del Frumento duro in Sardegna .....	10
1.6 - La cariosside del frumento .....	11
2. - Farina di frumento .....	12
2.1 - Costituenti della farina .....	13
3. - L'impasto acido.....	18
3.1 - Classificazione delle paste acide .....	21
3.2 - La microflora delle paste acide .....	24
4. - Il Pane .....	25
4.1 - Storia del pane in Sardegna .....	26
4.2 - Forma e simbologia del pane.....	29
4.3 - La mola sarda.....	34
4.4 - Cenni storici sul Moddizzosu .....	36
4.5 - Il valore nutrizionale del pane .....	39
4.6 - Gli effetti principali legati all'uso del lievito naturale .....	41
II. MATERIALI E METODI .....	43
A. Materiali .....	46
1.1 - Ingredienti di panificazione .....	46
1.2 - Messa a punto della madre acida.....	47
1.3 - Terreni utilizzati .....	50
B. Metodi .....	51
1. - Caratterizzazione chimica e reologica delle semole.....	51
1.1 - Umidità .....	51
1.2 - Proteine .....	51
1.3 - Ceneri .....	53
1.4 - Grassi.....	53
1.5 - Parametri alveografici .....	54
1.6 - Indice di glutine.....	55
1.7 - Indice di caduta .....	56

1.8 - Prova farinografica.....	57
1.9 - Analisi RVA .....	57
1.10 - Test di sedimentazione in S.D.S. secondo Zeleny .....	58
1.11 - Indice di giallo .....	59
1.12 – Granulometria delle semole.....	59
2. - Monitoraggio impasto madre .....	59
3. - Caratterizzazione delle proprietà reologiche degli impasti .....	60
3.1 - Analisi del profilo di texture .....	61
3.2 - Stickiness Test .....	62
3.3 - Estensibilità uni-assiale .....	62
3.4 - Rapid Visco Analyser .....	63
3.5 - Acidità Titolabile Totale e pH .....	64
3.6 - Reometro .....	64
4. - Caratterizzazione dei prodotti finiti.....	65
4.1 - Analisi del profilo di texture .....	65
4.2 - Volume Specifico .....	67
4.3 - Analisi di immagine .....	67
4.4 - Umidità .....	68
4.5 - Colore della crosta e della mollica .....	69
4.6 - Calorimetria a Scansione Differenziale (DSC).....	70
4.7 Il modello AVRAMI .....	70
4.8 - Analisi sensoriale .....	71
4.9 – Analisi Statistica .....	71
III. RISULTATI E DISCUSSIONE.....	73
1. MATERIE PRIME .....	73
1.1 <i>Caratteristiche delle semole utilizzate: parametri chimici, fisici e reologici</i> .....	73
1.2 <i>Caratteristiche microbiologiche dell'impasto acido utilizzato...</i>	77
2. PROVA DI PANIFICAZIONE.....	78
2.1 <i>Formulazione degli impasti</i> .....	79
2.1.1 Effeti dell'aggiunta del lievito naturale .....	79
2.1.2 Effetti dell'aggiunta del glutine.....	83
2.1.3 Effetti dell'aggiunta del lievito industriale.....	86
2.2 <i>Tempi di lievitazione</i> .....	87
3. CARATTERISTICHE DEL PANE FRESCO .....	89
4. COMPORTAMENTO DEL PANE DURANTE LA CONSERVAZIONE ..	92
5 - Conclusioni .....	96
IV. TABELLE.....	99

V. FIGURE .....	115
VI. BIBLIOGRAFIA.....	141
RINGRAZIAMENTI .....	158

# **I. INTRODUZIONE**

## **1. - Premessa**

### **1.1 - Generalità sui cereali**

I cereali sono una specie vegetale appartenente alla famiglia delle graminacee; i più coltivati sono il frumento, il mais, il riso, l'orzo, l'avena la segale, il sorgo ed il miglio. La coltivazione e l'uso dei cereali da parte dell'uomo risalgono a tempi antichi. Nell'antichità i due cereali più importanti e sfruttati furono il grano e l'orzo.

L'importanza che assunsero i cereali già nelle prime civiltà e che si è conservata nei tempi, deriva da alcune loro caratteristiche. Prima fra tutte è rappresentata dall'ottenimento di prodotti che per potere calorico, contenuto proteico, lipidico, di sali minerali e di vitamine sono adatti per l'alimentazione umana. Hanno, poi, l'importante caratteristica di dare un prodotto secco facilmente trasportabile e conservabile, idoneo a costituire scorte da utilizzare nello stesso anno della produzione o in anni successivi. Altri non meno importanti aspetti riguardano il sapore del prodotto, tale da non stancare chi lo consuma giornalmente, e la adattabilità e la semplicità di coltivazione delle piante.

Oggi più della metà delle terre arabili sono coltivate a cereali (Fig.1). Il frumento e il riso hanno importanza maggiore per l'alimentazione umana; il mais, l'orzo, l'avena, il sorgo per quella animale.

Il ruolo dei cereali nell'alimentazione umana è destinato non solo a conservarsi, ma diventerà ancora più importante. Il continuo aumento della popolazione umana acuisce il problema del reperimento delle fonti alimentari a cui saranno sempre più chiamati a contribuire i cereali.

## **1.2 - Cenni storici sul Frumento**

Dai risultati di studi su cariossidi fossili si desume che l'inizio della coltivazione del frumento si possa fare risalire ad alcuni millenni a.C.

Nell'Europa occidentale i frumenti si diffusero nell'età della pietra. E' noto che nell'Italia preistorica ne erano già coltivate diverse specie e che nel periodo pre-romano il frumento costituiva uno degli elementi più importanti dell'economia.

La storia del frumento nelle Americhe è molto più breve. Nella prima metà del sedicesimo secolo risultava coltivato nel Messico, nel Perù e nel Cile. Nell'Australia la forte espansione della granicoltura è iniziata

con le grandi immigrazioni dall'Europa nella seconda metà del diciannovesimo secolo.

Il frumento appartiene al genere *Triticum*, di cui esistono diverse specie, due delle quali rivestono particolare importanza commerciale: il *Triticum aestivum* o *vulgare* o grano tenero e il *Triticum durum* o grano duro. Il grano è stato e rappresenta ancor oggi, soprattutto nelle zone temperate, la principale fonte di cibo per l'uomo. Tale caratteristica è data dalla sua adattabilità ad ogni tipo di terreno ed a differenti climi visto che la sua area di coltivazione è compresa tra 30°-60° latitudine nord e 20°-40° latitudine sud, anche se in condizioni particolari lo si trova anche all'equatore.

### **1.3 - Cenni storici sulla coltivazione del frumento in Sardegna**

Dagli studi di A.J. Ammermann, basati sulla datazione mediante <sup>14</sup>C di numerosi siti agricoli, è possibile ipotizzare l'espansione dell'agricoltura nell'Italia centromeridionale in un periodo compreso fra il 7500 e il 6500 a.C. In realtà la Sardegna non è presente nei siti studiati, ma questa datazione può essere estesa anche all'Isola per via della sua centralità nell'area del Mediterraneo occidentale. I

ritrovamenti più antichi di frammenti di spighe di frumento diploide risalgono al periodo compreso tra il 1800 e il 1300 A.C. I più antichi elementi di frumento duro risalgono ad epoche più tarde, a partire dal 1300 al 900 A.C. Sono ritrovamenti che continuano in epoca punica (500-238 A.C.), quando ebbe inizio la coltivazione dei cereali nelle zone pianeggianti e collinari della Sardegna meridionale. Durante la dominazione romana la Sardegna è stata una dei principali granai dell'Impero.

Nel corso dei secoli si è assistito a un restringimento delle specie cerealicole coltivate a favore del frumento duro e tenero, dell'orzo e dell'avena. Nella prima metà del '900 la coltivazione del grano tenero era ancora abbastanza praticata in Sardegna, sebbene il frumento duro esercitasse già un ruolo dominante. Fino ai primi anni 20 del secolo scorso venivano coltivate prevalentemente alcune popolazioni locali ormai scomparse. Infatti grazie all'opera di selezione portata avanti da Nazareno Strampelli le popolazioni sarde vennero sostituite con le varietà migliorate a superiore potenziale produttivo. L'importanza del miglioramento genetico insieme alla razionalizzazione delle tecniche agronomiche, portò la produzione italiana di grano duro da 10.885.000 quintali del 1960, con una superficie di 1.385.784 ettari ed una resa media di 7.9 quintali/ettaro a 44.666.230 quintali nel 2000, con una

superficie di 1.663.116 ettari ed una resa media di 26.9 quintali/ettaro. Oggi, questi materiali continuano ad essere conservati nelle collezioni di germoplasma e in apposite Istituzioni come l'Università di Sassari ed il Centro Regionale Agrario Sperimentale (CRAS), sia per il loro interesse storico sia per valutarne la loro potenzialità in programmi di selezione genotipica e di conservazione di variabilità genetica. Le varietà più coltivate nel 1970 erano la Cappelli (oltre 90.000 ettari) seguita dalla Dauno (6.444) e da poche altre (Capeiti 8, Grifoni 235, Maliani, Timilia comune etc.). Dal 1980 in poi si diffuse la coltura delle varietà migliorate a taglia bassa caratterizzate da elevata produttività fra le quali la serie VAL, Creso e Karel.

#### **1.4 - La coltivazione del Frumento in Italia e nel resto del mondo**

La maggior parte della superficie mondiale investita a frumento duro (*Triticum durum*) è concentrata nelle regioni dell'Europa mediterranea, del Nord Africa e dell'Asia occidentale (WANA) in cui l'importanza alimentare di questa coltura è testimoniata da un elevato consumo pro-capite di pasta e di prodotti tipici trasformati. I principali Paesi produttori (Fig. 2), nel quadriennio 2001-2004, sono risultati

l'Italia, il Canada, la Turchia, la Siria, il Kazakistan e gli USA che hanno fornito il 52% della produzione totale. L'Italia con le sue 4,188 migliaia di tonnellate seguita dalla Spagna (1,965) e dalla Francia (1,607) è il principale produttore non solo nell'Unione Europea ma in tutto il mondo. Nonostante l'Italia sia il primo produttore mondiale di frumento duro, il comparto continua a presentare un bilancio negativo negli scambi commerciali con l'estero per via delle elevate richieste dal settore di trasformazione di granella di livello qualitativo medio-alto (Di Trapani & Schimmenti, 2005). L'Italia infatti è costretta ad importare elevate quantità di grano per coprire le esigenze dei pastificatori per via dell'insufficiente livello qualitativo di buona parte della produzione italiana e per la forte disomogeneità fra le partite provenienti da diverse zone.

Uno studio effettuato da Flagella (2006) ha riportato che i maggiori livelli produttivi sono stati rilevati nell'Italia meridionale con il 67,6% della produzione nazionale (nel 2005, dati ISTAT) seguita dalla centrale con il 29,1% e la settentrionale con il 3,3%. Tra le Regioni ha spiccato la Puglia con quasi un quarto della produzione nazionale (22,3%) seguita da Sicilia (17,2%), Marche (15,2%) e Toscana (10,1%). La Sardegna con il 3,3% si collocava decima.

## **1.5 - La coltivazione del Frumento duro in Sardegna**

Il frumento duro è attualmente la coltura più diffusa in Sardegna: la superficie coltivata è di circa 100.000 ettari che sono concentrati prevalentemente nella provincia di Cagliari (64%), più precisamente nelle regioni della Marmilla, della Trexenta e del Campidano. Il resto della produzione è distribuita per il 18% nella provincia di Sassari, per l'11% nella provincia di Oristano e il restante 7% nella provincia di Nuoro (fonte: CRAS).

La produzione, in assenza di siccità o altre avversità climatiche che possono ridurre le rese, è di circa 2.000.000 di quintali l'anno.

Il settore è caratterizzato da un andamento altalenante: da un trend negativo degli anni settanta e ottanta dovuto ai numerosi problemi di carattere economico, quali il calo progressivo dei prezzi (conseguenza di una maggiore concorrenza dei grani provenienti dalla penisola e dai mercati internazionali), si è passati alla scarsa qualificazione del prodotto locale dovuta a cultivar poco produttive ed alla frammentazione dell'offerta.

Negli ultimi anni, a seguito del mutamento dell'indirizzo della politica agricola comunitaria si sta assistendo, anche in Sardegna, ad un

aumento della superficie coltivata a grano duro, con conseguente aumento della produzione totale: si è infatti passati, nel decennio 1988-1998, da una produzione di 1.489.000 q.li a 1.679.000 q.li (fonte ISTAT). Ciò è dovuto al regime di aiuti, istituito a partire dal 1992 per i seminativi.

## **1.6 - La cariosside del frumento**

Il seme del grano è dotato di una struttura complessa lunga da 6 a 8 mm larga da 3 a 4 mm in cui è possibile distinguere tre parti:

- Parte corticale;
- Endosperma;
- Embrione.

La parte corticale comprende il pericarpo che costituisce l'involucro esterno del frutto, di cui rappresenta in peso il 3-4%, e lo spermoderma (circa 2-3%). Svolge la funzione di protezione del seme e dell'embrione ed è la frazione più ricca in cellulosa, sali minerali e vitamine. Con la macinazione tale strato, noto più comunemente con il termine crusca, viene allontanato determinando un impoverimento del valore nutritivo delle farine rispetto ai prodotti iniziali.

L'endosperma (che rappresenta l'83-86% della cariosside) è costituito dallo strato aleuronico e dall'endosperma vero e proprio. Lo strato

aleuronico è come la crusca ricco in vitamine, sali minerali, ma anche in lipidi, enzimi e proteine. L'endosperma rappresenta la parte principale della cariosside ed è costituito da cellule contenenti proteine e amido con dimensioni crescenti dalla periferia al centro mentre il contenuto in sostanze azotate aumenta gradualmente spostandosi verso la parte esterna del seme (per questo motivo la macinazione degli strati più periferici dell'endosperma fornisce farine più ricche in proteine).

L'embrione è l'apparato germinativo del chicco, è situato alla base del seme (circa 2-3% del peso della cariosside). È costituito dall'asse embrionale e dal rivestimento esterno detto scutello. La sua composizione chimica è caratterizzata da un elevato contenuto in lipidi e protidi.

## **2. - Farina di frumento**

Attraverso le fasi della macinazione del frumento tenero si ottengono una serie di prodotti dalle caratteristiche chimiche diverse: farina, farinetta, farinaccio, crusca, cruschetto, tritello e scarti di pulitura.

In media le percentuali dei vari prodotti ottenuti dalla macinazione sono i seguenti:

- farina 75-78%;

- farinetta e farinaccio 2,5-3%;
- crusca, cruschetto e tritello 20-22%;
- scarti di pulitura 0,2-2%.

Le differenze bromatologiche tra grano tenero e duro riguardano sostanzialmente il contenuto in proteine, che è lievemente superiore nel grano duro.

Secondo il D.L. 27 gennaio 1992, n.109 è denominato "farina di grano tenero" il prodotto ottenuto dalla macinazione e conseguente abburattamento del grano tenero liberato dalle sostanze estranee e dalle impurità. La legge n.580 del 4 luglio 1967 classifica le farine di grano tenero definendo alcuni requisiti. Viene anche denominata "semola di grano duro", il prodotto granulare a spigolo vivo ottenuto dalla macinazione e conseguente abburattamento del grano duro, liberato dalle sostanze estranee e dalle impurità. Gli sfarinati di grano duro sono classificati dalla legge n.580 del 4 luglio 1967 in semola e semolato.

## **2.1 - Costituenti della farina**

### **Acqua**

Il contenuto di acqua della cariosside varia dall'8% al 17-18% e dipende dal clima e dall'ambiente. Per le farine vi è un limite legale che

arriva fino al 15,50% per gli sfarinati di grano duro, 14,50% per quelli di frumento tenero. L'umidità dipende inoltre anche dalla modalità di stoccaggio delle farine. Solitamente le farine dovrebbero essere conservate in camere a temperatura (non superiore a 15°C) e umidità relativa (circa del 70%) controllate.

### **Glucidi**

I glucidi rappresentano circa il 72% in peso della cariosside di cui il componente principale è l'amido (60-68%) seguito da pentosani (6,5%), cellulosa (2-2,5%) e zuccheri riducenti (1,5-2%).

L'amido si presenta sotto forma di granuli sferici e lenticolari di dimensioni varie. La sua struttura e le sue proprietà fisico chimiche sono state studiate e descritte ampiamente in bibliografia (Buléon *et al* 1998; Parker & Ring, 2001). I principali componenti dei granuli sono due polimeri dell' $\alpha$ -D-glucosio, l'amilosio e l'amilopectina. L'amilosio è una molecola lineare, costituita da unità di  $\alpha$ -1,4-D-glucosio con un grado di polimerizzazione dell'ordine di 500-6000 residui di glucosio. È noto che una frazione delle molecole di amilosio è parzialmente ramificata con legami  $\alpha$ -1,6 (Hizukuri *et al*, 1981; Shibanuma *et al*, 1994). Al contrario l'amilopectina è un polisaccaride altamente ramificato con un grado di polimerizzazione che oscilla tra le  $3 \times 10^5$  e le  $3 \times 10^6$  unità di glucosio. È costituito da catene di  $\alpha$ -1,4-D-glucopiranosio

collegate con legami  $\alpha$ -1,6 (Zobel, 1988). Il rapporto tra amilosio e amilopectina differisce al variare dell'origine botanica dell'amido sebbene i livelli tipici siano 25-28% a 75-78% a favore dell'amilopectina (Colonna & Buléon, 1992). L'amido non può essere utilizzato direttamente dai lieviti per la fermentazione, ma deve essere prima idrolizzato dalle amilasi che sono enzimi in grado di scindere i legami  $\alpha$ -1,4 liberando così destrine e maltosio utilizzabili dai lieviti. L'attacco enzimatico tuttavia non è possibile sul granulo di amido integro, ma solo su quella frazione di granuli rotti durante la fase di macinazione permettendo in questo modo l'ingresso dell'acqua e l'azione delle amilasi.

I pentosani sono dei polisaccaridi presenti nelle pareti cellulari dei vari tessuti che differiscono dall'amido per la composizione dei monosaccaridi e per la natura dei loro legami (Henry, 1985). Sono dei composti che contribuiscono a migliorare la consistenza e la viscosità dell'impasto (Jelaca & Hlynca, 1972), aumentano la ritenzione di gas (Gan *et al*, 1995), ritardano il raffermaimento sia attraverso dei legami con l'amilopectina (Levine & Slade, 1990) sia con la loro influenza sulla distribuzione dell'acqua nell'impasto (Biliaderis *et al*, 1995; Eliasson & Larsson, 1993; Gudmundsson *et al*, 1991).

La cellulosa è un polisaccaride del  $\beta$ -glucosio presente negli involucri della cariosside. È un composto che aiuta la peristalsi intestinale ma ha scarso valore alimentare perché gli enzimi presenti nell'apparato digerente umano non sono in grado di attaccarla.

### **Le proteine**

Il tenore in proteine della cariosside oscilla dal 7 al 18%, con valori medi dal 10 al 13%, e dipende dalla varietà del grano, dal tipo di terreno, dal clima e dalle pratiche agronomiche. Uno dei più importanti sistemi di classificazione delle proteine delle piante è quello proposto da Osborne (1907) che si basa sulla loro solubilità. La suddivisione moderna crea tre gruppi: le proteine solubili in soluzioni saline diluite, che comprende le Albumine (la cui percentuale media è del 12) e le Globuline (circa il 4%), le proteine non solubili in acqua ma in etanolo, le Gliadine (44%), e le Glutenine (40%), in soluzioni acide e alcaline diluite. Le solubili in acqua possono essere utilizzate in parte dai lieviti come nutrimento e hanno un ruolo attivo durante la cottura perché combinandosi con gli zuccheri riducenti danno origine alla reazione di Maillard che procura la tipica colorazione della crosta del pane. Le gliadine e le glutenine hanno una grande importanza tecnologica perché durante l'impastamento assorbono acqua e si uniscono con

legami intermolecolari, dando origine al glutine, sostanza che conferisce resistenza ed elasticità all'impasto.

Le proprietà del glutine sono influenzate dalla sua composizione e dal rapporto gliadina/glutenina, infatti la glutenina è l'elemento che ne influenza la tenacità, la gliadina l'estensibilità.

### **Lipidi**

I lipidi sono principalmente localizzati nel germe. Rappresentano una piccola percentuale (1,5-2%) della composizione chimica del frumento. Sono costituiti da gliceridi, fosfolipidi e steroli (sitosterolo e campesterolo). È accertato che, sebbene presenti in piccole dosi, il loro contenuto sia correlato con il volume delle fette di pane (Eliasson & Larsson, 1993). Inoltre, migliorano le proprietà tecnologiche dell'impasto (Qi Si, 1997) e svolgono un importante ruolo nella conservazione del pane come agenti anti-raffermamento (Johnson & Welch, 1968; Olesen *et al*, 1994).

### **Sali minerali**

I sali minerali (1,5-2%) sono situati principalmente nella parte corticale e sono costituiti da cationi (Ca, Mg, Na, K) e anioni (fosfati e solfati). Vengono espressi come tenore in ceneri che rappresenta un parametro disciplinato dalla legge. Sono degli elementi fondamentali

negli impasti perché fungono da nutrienti per i lieviti e partecipano allo sviluppo della pasta.

### **Vitamine**

Le vitamine sono situate negli involucri e nell'embrione, perciò sono presenti in minime quantità nelle farine più raffinate.

Sono costituite da tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (PP), acido pantotenico, biotina, acido folico, inositolo, tocoferoli (E), xantofilla. Contribuiscono ad aumentare il valore nutritivo delle farine integrali.

### **3. - L'impasto acido**

Noto anche come "lievito naturale" viene definito come un impasto costituito da una miscela di acqua, farina di cereali di diverso tipo (grano tenero, grano duro, segale e orzo i più comuni) lasciata lievitare spontaneamente o più frequentemente avviata per addizione di una porzione di impasto maturo derivante da una precedente lavorazione (Hammes and Ganzle, 1988). L'uso della lievitazione naturale come agente lievitante è uno dei processi biotecnologici più antichi nel settore alimentare (Röcken and Voysey, 1995). La pasta acida ha rappresentato per secoli lo starter utilizzato nei processi di panificazione, senza che per lungo tempo fossero noti la presenza e il ruolo svolto dai microrganismi. Studi scientifici (Corsetti *et al.*, 2001;

Barber *et al.*, 1983) hanno dimostrato che si tratta di un ecosistema complesso formato sia da lieviti che da batteri lattici omo ed etero fermentanti. Fino agli inizi del XX° secolo si produceva il pane con il solo uso del lievito naturale, finché non venne introdotto il lievito di birra ottenuto coltivando a livello industriale, in condizioni strettamente controllate, ceppi selezionati di *Saccharomyces cerevisiae* (Spicher & Stephan, 1993). La produzione artigianale di pane e di prodotti da forno usa spesso processi produttivi che coinvolgono il lievito naturale o l'uso di prefermenti. Si tratta di differenti tipologie di pani di grano e torte originari dell'area Mediterranea, della baia di San Francisco e del Sud America mentre esistono numerosi forni che preparano prodotti tipici della Germania, del Centro ed Est Europa e della Scandinavia fatti con segale, grano, orzo o miscela di farine (Stephan & Neumann, 1999a, b). In Italia l'impasto acido viene usato in più del 30% dei prodotti da forno, che include numerosi differenti tipi di pane (Ottogalli *et al.*, 1996). La maggior parte di questi prodotti derivano da antiche tradizioni sopravvissute nel tempo e differiscono nel tipo di farina, negli ingredienti, nel tipo di lievito naturale, nel processo tecnologico e nella shelf-life.

Nel Nord Italia alcuni prodotti da forno dolci lievitati con l'impasto acido sono tipici delle festività tradizionali religiose. Il Panettone a Milano e il

Pandoro a Verona vengono preparati per le festività natalizie, mentre la Colomba è una torta milanese venduta per la Pasqua. Altri prodotti locali sono la Bisciola in Valtellina, il biscotto Legaccio a Genova, la Focaccia Dolce nella regione Veneziana che viene chiamata Veneziana in Lombardia. I pani di grano duro lievitati con il lievito naturale sono diffusi soprattutto nel Sud e Centro Italia, e tra questi il più conosciuto è il Pane di Altamura che ha ottenuto la Denominazione di Origine Protetta (DOP). Tra questi vi sono anche quelli prodotti in Sardegna con una varietà di prodotti che spazia dal pane con una mollica poco sviluppata come la Spianata di Ozieri al pane a mollica come il Moddizzosu o il Civraxiu. L'uso del lievito naturale per tutti questi prodotti è stato conservato, nonostante la diffusione del lievito industriale, per via degli effetti che sviluppa sulle qualità sensoriali e la prolungata shelf life.

Negli ultimi anni è in atto una riscoperta della produzione tradizionale di pane a lievitazione naturale, per via della domanda in continua crescita, a ragione della richiesta da parte dei consumatori di prodotti più naturali, più sani e organoletticamente più ricchi (Brummer and Lorenz, 1991).

### 3.1 - Classificazione delle paste acide

Böcker, Stolz e Hammes (1995) hanno ordinato gli impasti acidi in funzione del tipo di processo tecnologico utilizzato per la loro produzione:

- impasto acido di tipo I o pasta acida tradizionale
- impasto acido di tipo II o pasta acida accelerata
- impasto acido di tipo III o pasta acida disidratata.

Il tipo I comprende quel lievito naturale prodotto con tecniche tradizionali, caratterizzato da rinfreschi giornalieri per mantenere attivi i microrganismi ed un'elevata attività metabolica per salvaguardare la capacità di lievitazione e la produzione di gas. Solitamente il processo viene svolto a temperatura ambiente (20-30°C) con un pH di circa 4.0. Alcuni esempi di prodotti da forno così ottenuti sono il pane Francese San Francisco, il Panettone e alcune brioches, il pane di Altamura, il Toscano e il Pugliese, e il pane di segale con lievito naturale. Il tipo I viene ulteriormente suddiviso in:

- tipo Ia include tutte quelle paste acide derivate da fermentazioni naturali. Sono composte da una microflora che ben si adatta all'impasto acido e che è tipica di questo. Un esempio di questa tipologia è lo starter usato per la produzione del pane Francese San Francisco che contiene il *L. sanfranciscensis* che venne

identificato da Kline & Sugihara (1971) come principale responsabile della attività acidificante. I *C. humilis* e *S. exiguus* sono i lieviti che normalmente colonizzano questa tipologia di lievito naturale.

- tipo Ib è rappresentato dal processo di produzione dell'impasto acido tradizionale con la farina di segale. La maggior parte della microflora è costituita da etero fermentanti obbligati come il *L. sanfranciscensis*, il *L. brevis* e il *L. reuteri*, tra gli etero fermentanti facoltativi il *L. plantarum*, il *L. casei* e il *L. alimentarius*, tra gli omofermentanti obbligati il *L. acidophilus* *L. delbrueckii* e il *L. farciminis* (Hammes & Gänzle, 1998; Vogel *et al.*, 1999). Quando i lieviti sono presenti naturalmente, il *C. humilis* è spesso associato con il *L. sanfranciscensis* e il *L. pontis*.
- tipo Ic comprende paste acide prodotte nelle regioni tropicali e fermentate ad alte temperature (>35°C). Contengono solitamente LAB eterofermentanti obbligati come *L. fermentum* e *L. reuteri*, *L. amylovorus* come omofermentante obbligato (Hamad *et al.*, 1997). Il lievito più spesso associato a questo genere di impasto è *I. orientalis*.

Il tipo II prende origine dalla richiesta di industrializzazione del processo di produzione per il pane di segale. La domanda per un

processo di fermentazione più veloce, più efficiente, più controllabile ha portato allo sviluppo di impasti semifluidi conservati in sili. La loro funzione è di acidificare rapidamente. Il procedimento caratteristico ha una durata variabile dai 2 ai 5 giorni con temperature al di sopra dei 30°C. I valori di pH raggiunti dopo 24 ore di fermentazione sono inferiori a 3.5 per via dell'alto contenuto in acidi. I principali microorganismi che si ritrovano in questo tipo di impasti sono tra gli omofermentanti obbligati *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. farciminis*, *L. johnsonii* e *L. amylovorus* e tra gli etero fermentanti obbligati *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. frumenti*, *L. pontis*, *L. panis* e *L. reuteri* (Müller *et al.*, 2001).

Il tipo III è rappresentato da quegli impasti disidratati e polverizzati che vengono utilizzati come colture starter. Vengono utilizzati per arricchire il processo di panificazione con supplementi acidificanti migliorando l'aroma del prodotto finale. Contengono ceppi di LAB resistenti alla disidratazione e in grado di sopravvivere in questa forma. La pasta acida così ottenuta permette di avere una shelf life più lunga oltre ad una standardizzazione del prodotto finale. La microflora usata in questo tipo di impasti coinvolge il *L. brevis*, il *P. pentosaceus* e ceppi del *L. plantarum*.

Le paste acide di tipo III vengono distinte in funzione delle caratteristiche del colore, dell'aroma e del contenuto in acidi (Stolz & Böcker, 1996).

Rispetto ai preparati della tipologia I, le paste acide di tipo II e III richiedono l'aggiunta del lievito industriale (*S. cerevisiae*) per la lievitazione perchè i rinfreschi degli impasti del primo tipo vengono eseguiti a temperature più basse, quindi con pH mediamente più alti consentendo, in questo modo, lo sviluppo dei lieviti (*S. exiguus*, *C. humilis*, *I. orientalis* e *S. cerevisiae*).

### **3.2 - La microflora delle paste acide**

La microflora delle paste acide è tipica, cioè caratterizzante e costante, costituita da determinate specie microbiche, presenti a livelli di concentrazione definiti; si ritrovano saccaromiceti (*Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia*) e batteri lattici (LAB) (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*), in grado di stabilire tra loro rapporti di mutualismo o antagonismo in funzione delle modalità operative di preparazione e maturazione dell'impasto. I lieviti e i LAB sono spesso associati nel lievito naturale e il loro rapporto è generalmente di 1:100 (Ottogalli *et al.*, 1996). In buona parte degli alimenti fermentati i LAB omofermentanti svolgono un ruolo molto importante mentre nelle paste

acide, soprattutto quando preparate in maniera tradizionale, sono più numerosi quelli eterofermentanti (Corsetti *et al.*, 2003; De Vuyst *et al.*, 2002; Meroth *et al.*, 2003).

L'ecologia microbica della fermentazione del lievito naturale dipende sia da fattori endogeni che esogeni (Hammes & Ganzle, 1998; Hammes *et al.*, 1996; Vogel *et al.*, 1996). Tra i fattori endogeni si possono ricordare la composizione chimica e microbiologica dell'impasto, mentre tra gli esogeni i principali sono la temperatura e il potenziale redox. Il "dough yield", espresso come rapporto tra il peso dell'impasto e il peso della farina moltiplicato per 100, è un parametro molto importante che fornisce indicazioni sull'attività dell'acqua. Esercitano un forte impatto sulla selezione dei LAB e dei lieviti alcuni parametri come l'aggiunta di sale, la quantità e la composizione dello starter, il numero e i tipi di rinfreschi e il tempo di fermentazione.

#### **4. - Il Pane**

Con il termine "pane" viene inteso "il prodotto ottenuto dalla cottura totale o parziale di una pasta convenientemente lievitata, preparata con sfarinati di grano, acqua e lievito, con o senza l'aggiunta di sale comune (Cloruro di sodio)" art. 14 Legge 4 luglio 1967, n. 580.

Questa definizione lascia le porte aperte ad una vasta gamma di pani caratterizzati da processi tecnologici e metodiche differenti, da una non standardizzazione della produzione e da nomi uguali spesso riferiti a prodotti completamente diversi in base alla loro localizzazione geografica.

Possiamo datare agli inizi del XX° secolo la "rivoluzione" biotecnologica del sistema di produzione del pane. Infatti fu in quegli anni che avvenne l'introduzione del lievito di birra prodotto a livello industriale, in condizioni strettamente controllate, di ceppi selezionati di *Saccharomyces cerevisiae*. La scelta ricadde su questo microrganismo per via dell'elevato potere fermentativo che si traduce con una spiccata produzione di anidride carbonica che, dal punto di vista macroscopico, è visibile grazie al rigonfiamento dell'impasto durante la fermentazione.

#### **4.1 - Storia del pane in Sardegna**

Sin dai tempi remoti la Sardegna ha fondato la sua economia su un sistema agricolo-pastorale caratterizzato dalla coltivazione estensiva di cereali, soprattutto di grano duro, tanto da far considerare l'Isola uno dei "granai di Roma".

Come testimonianza dell'antichità della coltura del frumento in terra sarda sono stati ritrovati, nella grotta naturale di Filiestru (SS), resti di

grano e macine di pietra da azionare con le mani, risalenti al V-VII millennio a.C., attraverso le quali il grano veniva trasformato in farina che permetteva alle donne di ottenere un pane sottile da cuocere sul focolare.

Dalla vocazione per la coltivazione discende l'uso intenso e generalizzato del pane in tutta l'Isola di cui si trova attestazione e testimonianza, a partire dal '700 nei diari di viaggio di diversi autori (Della Marmora, 1839; Wagner, 1928; Alziator, 1957), anche stranieri, che hanno visitato e che, affascinati dagli aspetti del costume del popolo sardo e dal modo di panificazione, hanno iniziato a documentare la cultura del pane.

Delitala (1993) riporta che partendo dalle forme di alimentazione e dal modo di consumare i cibi si possono riconoscere molte fasi storiche e comprendere atteggiamenti, credenze, modalità di espressione che vanno al di là della semplice esigenza di nutrirsi di un gruppo sociale. Infatti, i processi di produzione e le scelte alimentari, distribuzione e consumo dei cibi costituiscono un fenomeno complesso in cui si intrecciano fattori strutturali, stratificazioni storiche, concezioni religiose e simboliche, nonché conoscenze tecniche. Tutto ciò può essere riscontrato nel ciclo del pane in Sardegna che riflette la sfera sociale, culturale e delle tradizioni in generale. Infatti, ad esso sono legate le

tappe della vita del singolo e i momenti importanti della vita comunitaria. Il pane ha costituito per lunghissimo tempo l'elemento fondamentale nell'alimentazione di una società molto povera come quella Sarda; esso rappresentava il resto dell'alimentazione quotidiana di cui nessuno si privava. In tal modo il ciclo del pane scandiva la vita familiare e i ritmi delle attività domestiche e rappresentava un momento di socialità perché coinvolgeva non solo l'intera famiglia e i parenti ma spesso anche i vicini di casa. Esso impegnava prevalentemente le donne (Valery, 1931); fin da giovanissime erano chiamate a partecipare alle fasi preliminari di lavaggio, selezione, molitura e setacciatura della materia prima per poi, una volta raggiunta l'età di sposarsi, partecipare attivamente alla fase di produzione vera e propria. La dimostrazione di saper fare bene il pane costituiva requisito fondamentale che lo sposo richiedeva alla sua sposa prima del matrimonio.

L'uomo partecipava prevalentemente nella fase del ciclo agrario attraverso la preparazione del terreno, la semina e la raccolta nonché nella produzione delle strutture architettoniche, degli attrezzi e degli utensili impiegati nella panificazione. C'era quindi una ripartizione dei compiti in relazione al sesso, alla classe sociale (nelle famiglie agiate la

padrona di casa era coadiuvata dalle domestiche e panificatrici a pagamento), età e competenze riconosciute.

## **4.2 - Forma e simbologia del pane**

Oltreché a un valore alimentare e nutritivo, al ciclo del pane erano e sono legate fino ai nostri tempi funzioni sacre, simboliche, cerimoniali, magiche e terapeutiche, tutti aspetti testimoniati da pratiche come le preghiere, le formule, gli atti magici che accompagnano la preparazione e la cottura del pane, per garantire la buona riuscita e premunirsi contro il malocchio. Basta pensare al segno della croce che viene fatto sulla pasta destinata a diventare lievito o sul pane prima di essere infornato e sul forno dopo la sua introduzione.

Vi è così il pane degli sposi che si caratterizza per la particolare lavorazione che sa quasi di scultura o di opera d'arte, il pane conservato in attesa della nascita del primogenito, il pane giocattolo per i maschi e per le femmine con funzione ludica ed educativa e quelli che, raffigurando una società agro-pastorale, aiutano i bambini a prendere confidenza con quella che sarà la loro vita da adulti. Per Natale e per Pasqua si preparano e donano pani particolari, così come per altre festività religiose, per eventi e ricorrenze come la morte.

Vi sono pani legati al ciclo agro-pastorale che hanno prevalentemente funzione propiziatoria a cui si attribuisce il potere di intervenire beneficamente sull'annata e sul bestiame, si preparano così pani speciali in occasione dei principali lavori agricoli e pastorali come la tosatura e la trebbiatura. Peculiari sono poi i pani che, in Barbagia, il proprietario delle terre dona al contadino e che hanno la forma di grosse spianate con sopra decorazioni rappresentanti scene di vita contadina. La sacralità, e il valore intrinseco, del pane è rappresentata anche dalla riprovazione dimostrata quando anche un solo pezzetto viene gettato via.

Emblematica della concezione sacra del pane nella cultura e tradizione sarda è la leggenda (Addari, 1991) sul lievito. Essa attribuisce origine divina alla pasta di farina e acqua che, una volta inacidita, ha il potere di trasformare l'impasto rendendolo vivo.

Alle origini del mondo Dio conferì il segreto di tutte le cose alla vecchia e saggia Sibilla, questa nonostante insegnasse a leggere e a scrivere alle bambine era gelosissima del suo segreto che non rivelava a nessuno. Nello stesso Paese viveva anche Sant'Anna, schernita da tutti per la sua infelice condizione di infertilità. Dopo aver pregato Dio per la concessione di un figlio, Sant'Anna partorì Maria, la Madonna, che una volta cresciuta iniziò a frequentare la scuola dove insegnava Sibilla. Il

pane che questa faceva era bello e buono e ne faceva dono alle scolare senza però svelarne il segreto. Ma Maria non tardò a carpire il suo segreto e ad eguagliare la Sibilla nella produzione del pane. Da allora tutte le donne impastano la farina con il lievito ed ottengono dell'ottimo pane. Ciò ha fatto scaturire l'invidia delle Janas (creature divine, perpetue e quindi statiche) per il bel pane delle donne e poiché il loro pane non lievita sono costrette a prenderlo in prestito dalle donne.

Dalla leggenda emergono i temi della fertilità e della fecondità legati al lievito contrapposti a quelli della staticità e infertilità legati all'impossibilità di far lievitare il pane.

Da tutto ciò deriva anche la molteplicità e la variabilità (Alziator, 1957) di forme assunte dal pane in Sardegna dando vita ad una ricchezza qualitativa e quantitativa diffusa in tutto il territorio anche laddove prevale un'economia pastorale e la coltivazione di grano non è l'attività prevalente. Infatti, ogni località ha elaborato forme o modi particolari di lavorazione sotto la spinta di diverse vicende storiche, religiose e sociali.

Inoltre, la peculiare storia linguistica e culturale della Sardegna ha determinato una notevole variabilità di denominazioni sia degli attrezzi che delle tecniche produttive e dei prodotti della panificazione tradizionale.

Alcuni dei fattori che hanno contribuito a determinare questa produzione variegata sono stati individuati (Dettori, 1993) nella struttura economica comunitaria e nelle condizioni climatiche stagionali. Infatti, anche il succedersi delle stagioni con i diversi influssi climatici, potevano condizionare la produzione: la lievitazione della pasta è una fase molto delicata che richiede un ambiente con determinate temperature e una particolare ventilazione.

Così nelle aree a prevalente economia pastorale la produzione finalizzata al consumo giornaliero si orientava verso tipi di pane schiacciato, sottile e senza mollica, di consistenza flessibile, e poiché era possibile conservarlo a lungo senza subire deterioramenti costituiva l'alimentazione base dei pastori che stavano anche diversi mesi lontano da casa. Geograficamente l'area viene individuata nella parte settentrionale dell'Isola e il pane tradizionale identificato con la denominazione di spianata di Ozieri.

L'area centrale della Sardegna, invece, in quanto caratterizzata da una pastorizia transumante richiedeva un'ampia produzione di pane croccante, chiamato carasau o carta da musica, disidratato mediante il processo di biscottatura che manteneva inalterati per mesi i valori nutritivi e il gusto.

Sia la tipologia di pane a spianata sia quella croccante potevano essere reidratate mediante l'immersione nell'acqua che, reintegrando l'umidità, rendeva commestibile il pane anche a lunga distanza dalla panificazione.

Una terza area individua le ampie piane agricole campidanesi e del Campidano di Cagliari caratterizzate da un' economia prevalentemente agricola e dalla coltivazione intensiva di grano, dove predominava, nell'uso quotidiano, la produzione di grossi pani rigonfi, con mollica morbida e spugnosa poiché non vi erano specifiche esigenze di non deperibilità del prodotto in relazione ai tempi lunghi di conservazione. Ciò ha dato vita ad un'ampia varietà di pani: civraxiu, moddizzòsu e coccò, ecc.

Le varie testimonianze sulla panificazione in Sardegna oltre a rilevare la variabilità di forme e di denominazione del pane, ne sottolineano anche un altro aspetto: quello della qualità. Quest'ultima è garantita dalla materia prima utilizzata: grano duro per la maggior parte delle varietà, la cura nel lavoro di preparazione del grano prima della macinazione e nella fase della setacciatura (Bottiglioni, 1997; La Marmora, 1839).

### 4.3 - La mola sarda

La molitura del frumento avveniva mediante la mola, molto diffusa fino agli anni sessanta in tutta la Sardegna. Di essa si trovano testimonianze nelle annotazioni di viaggio di alcuni autori, che ne hanno fornito una descrizione particolareggiata e articolata (Wagner, 1928; La Marmora, 1839). La sua struttura presenta caratteri di uniformità in tutta l'Isola: le sue parti fondamentali sono due pesanti palmenti di pietra (normalmente vulcanica, meno soggetta a usura) che ruotano uno sull'altro, macinando il cereale. Quello di sotto è un palmento di forma conico convessa, si chiama *coru* (cuore) e resta fermo, mentre quello di sopra, di forma tronco-conica concava, si chiama *tunica* (perché copre il cuore), termina con un gran collo forato da cui si versa il grano, mentre ai lati presenta due anse (dette *origas*, cioè orecchie, per la loro forma) bucate, in cui si incastrano le aste di legno, che trasmettono il movimento della forza lavoro. I palmenti hanno diametri varianti tra i 50 e i 60 cm. Le mole erano mosse da un asinello domestico, detto perciò molenti. La farina macinata attraverso la mola, anche se in quantità inferiore, era preferita a quella ottenuta mediante la macinazione con i grandi mulini ad acqua di qualità inferiore a causa dell'eccessivo riscaldamento (La Marmora, 1839).

Il prodotto così ottenuto era raffinato attraverso degli stacci da cui di ottenevano diverse qualità di farina: il fior di farina, la semola (fine e meno fine) e il cruschetto (farina mista a crusca).

Oltre al pane ottenuto dalla farina di grano, si ha testimonianza anche del pane ottenuto dalla farina d'orzo e il pane di ghiande; la produzione domestica di pane d'orzo è cessata relativamente presto sia per la complessità del processo di panificazione e sia perché di qualità inferiore rispetto al "pane di grano".

Ai due tipi di pane, grano ed orzo, inoltre, erano attribuiti valori diversi: il pane d'orzo, considerato inferiore, era destinato ai poveri e ai servi mentre il pane di grano era segno di maggior benessere, era l'alimento dei privilegiati.

La differenziazione socio-economica non si basava solo sul pane di grano/pane d'orzo ma riguardava anche i diversi tipi di farina impiegata; così per il pane degli sposi veniva utilizzata solo farina bianchissima, così come per le occasioni speciali. Inoltre, trattamenti speciali venivano riservati ai bambini, ai malati e alle puerpere, invece il pane ottenuto con farine meno raffinate era destinato ai cani, alla servitù e ai mendicanti.

#### **4.4 - Cenni storici sul Moddizzosu**

La bianchezza del pane consumato in Sardegna costituisce uno dei temi ricorrenti nelle testimonianze storiche sulla panificazione. Il pane del Campidano di Cagliari veniva considerato il migliore rispetto a quello prodotto in tutta l'Isola (Valery, 1931). Si prediligeva il pane bianco ottenuto con la semola di grano duro coltivato nelle vaste pianure campidanesi, e poiché non vi erano particolari esigenze di conservazione, la panificazione avveniva in casa settimanalmente o ogni quindici giorni. Oltre che essere destinato al consumo domestico e familiare, una parte del pane veniva venduto in strada dalle donne (panetteras) e dai fanciulli, mentre il pane che si vendeva dai fornai era del tipo continentale (uguale in tutta Italia), detto "pane fine" costituito da panini e michette.

Del pane del Campidano di Cagliari, le fonti storiche documentano soprattutto il pane di Quartu Sant'Elena, fatto con la semola, anche se la denominazione non viene quasi mai riportata. È, quindi, la tradizione orale che ha tramandato il nome di moddizzósu.

Il termine moddizzósu fa riferimento a qualcosa di morbido e molle (moddi) poiché il pane si presenta alto e con mollica soffice. Raimondo Porru nel suo " Nou Dizionariu Universali Sardu-Italianu" (1832)

definisce tra i diversi tipi di pane anche il "moddizzosu": "Moddizzosu s.m. e grissinu, pan soffice, pan buffetto".

I gusti dell'epoca propendevano poco per il pane alla "francese" mentre si tollerava quello alla "genovese" perché si lavorava come quello sardo e con le mani e non con i piedi, come quello alla "francese", e anche il sapore non differiva dal pane sardo. L'impasto richiedeva un maggior quantitativo d'acqua che conferiva al prodotto finito una consistenza soffice e rendeva più di quello a pasta dura. Inoltre, poteva essere cotto tutto insieme senza particolari accorgimenti.

Inoltre, cosa molto importante visti le esigenze dei tempi, il pane alla "genovese" consentiva un limitato impiego di braccia nella fase dell'impasto, un risparmio di legna nella cottura e di tempo nella lavorazione della pasta. Tutto ciò permetteva, comunque, di ottenere ugualmente pani bianchi e gustosi.

Questo fu, molto probabilmente, l'inizio di un cambiamento non solo nei gusti ma anche nella società e nella cultura: andò scomparendo la figura pubblica della panattera e la panificazione tradizionale divenne un fatto privato, portato avanti da coloro che non volevano rinunciare al pane di pasta soda in tavola.

Nella testimonianza riportata non si fanno riferimenti alla denominazione del pane; si può affermare con una certa sicurezza che,

per le caratteristiche descritte, il pane alla "genovese", soffice, bianco e gustoso, fosse il moddizzósu.

Gli ingredienti, la lavorazione dell'impasto e le forme date al pane moddizzósu sono rimasti ancora oggi uguali alla tradizione.

Gli ingredienti utilizzati sono: il lievito madre (frammentu) che consiste in un pezzo di pasta del precedente impasto, lasciato inacidire; la semola, e un po' di acqua tiepida in cui è stato disciolto del sale.

La sera prima della panificazione, di solito il sabato, il lievito viene disciolto in una ciotola mediante l'acqua, al quale si incorpora una quantità di farina. L'impasto così ottenuto si lascia riposare fino al mattino seguente.

Le donne si alzano all'alba e cominciano a preparare i rispettivi contenitori (sciveddas) contenenti la farina e la semola, e si procede, così, incorporando man mano l'acqua salata e aggiungendo l'impasto preparato la sera prima e ormai lievitato. Le dosi d'impasto lievitato variano a seconda della quantità del pane da preparare e solo l'esperienza riesce a dare l'idea precisa sui quantitativi.

La lavorazione dell'impasto avviene nel contenitore mediante l'aggiunta di piccole dosi di acqua e con un movimento detto spongiai fino a quando l'impasto diventa asciutto e morbido. L'impasto viene, poi, fatto

ulteriormente riposare e lievitare fino a quando diventa facilmente malleabile.

La modellazione del moddizzósu è semplice poiché si stacca dall'impasto un porzione di pasta e la si manipola fino a quando assume la forma di grande pagnotta rotonda e gonfia ed infine spolverata con la farina (fior di farina).

#### **4.5 - Il valore nutrizionale del pane**

Il valore nutritivo del pane è determinato dalle materie prime ma sono le abitudini e le mode a determinarne il consumo. Ad esempio la farina raffinata, in un passato non molto lontano, rappresentava una conquista sociale, l'abbandono dello stato di miseria durato fino agli inizi del XX° secolo. L'eliminazione della parte esterna del chicco (crusca) e del germe permette alla farina di avere un aspetto più pulito ma, dal punto di vista nutrizionale è priva di importanti sostanze come le lecitine o la fibra, ricca di proteine, sali minerali ed enzimi.

Per far meglio luce sulle caratteristiche nutrizionali del pane si può prendere in esame la composizione media di 100 g di pane bianco e confrontarla con un fabbisogno giornaliero medio di 2400 calorie. I componenti principali del pane sono i carboidrati (circa il 58%) ed è per questo motivo che viene considerato un'ottima fonte di calorie. Tra i

carboidrati l'amido è quello contenuto in maggiori quantità ma sono anche presenti le destrine, pentosani, disaccaridi come il maltosio e monosaccaridi quali il glucosio. Questo alimento millenario è senz'altro una sorgente energetica coprendo il 12% del fabbisogno in glicidi ma non deve essere dimenticata l'importante quota di proteine (circa il 9%) che è tale da ricoprire circa il 30% delle esigenze in sostanze azotate di origine vegetale. In un alimento è di grande interesse dal punto di vista nutritivo determinare non solo la quantità di proteine presenti ma anche il tipo e la quantità di aminoacidi che compongono la proteina. Il valore biologico di una proteina dipende dalla sua composizione in aminoacidi (aa) e dipende dalla quantità di azoto trattenuto per il mantenimento e/o l'accrescimento e il valore di riferimento è rappresentato dalla composizione amminoacidica dell'uovo (100). Dal rapporto tra il contenuto in aa della proteina dell'uovo e del pane si è stabilito che l'aminoacido limitante è la lisina e che l'EAA (Essential Aminoacid Index) è pari a 58%, un valore senz'altro inferiore ad alimenti di origine animale (>80%), ma comparabile con gli altri alimenti di origine vegetale come l'orzo, il mais, il riso e gli ortaggi. I lipidi sono presenti in quantità trascurabile (poco più dell'1% nel pane bianco) ed è per questo motivo che è sbagliato ritenere il pane un alimento che fa ingrassare, visto che i grassi sono la maggior fonte di

calorie (il doppio dei glucidi a parità di peso) e che gli zuccheri semplici sono presenti in quantità modeste.

Il pane, soprattutto integrale, è una fonte in fibre, minerali e vitamine, aspetto che non deve essere sottovalutato viste le attuali tendenze alimentari che hanno portato a un impoverimento di questi elementi nella dieta quotidiana di milioni di persone.

Quindi il pane bianco non può essere considerato un alimento completo, cioè un alimento che non presenta alcuna carenza, perché non si trovano sufficienti quantità di minerali, fibre, vitamine e perché privo di proteine vegetali, naturalmente incomplete, ma può essere definito un alimento pressoché completo.

#### **4.6 – Gli effetti principali legati all’uso del lievito naturale**

Diversi autori hanno dimostrato che l’uso del lievito naturale come agente lievitante permette di ottenere dei prodotti qualitativamente superiori. Tra i differenti effetti riscontrabili in letteratura possono essere elencati:

- una più lunga durata di conservazione del prodotto a causa della maggior acidità dell'impasto, che rallenta lo sviluppo delle muffe (Brummer et al., 1984);
- sapore e profumo caratteristico come dimostrato da Hansen & Schieberle (2005) grazie a un numero maggiore di metaboliti volatili quando viene usato l'impasto acido;
- un'alveolatura più regolare per via di una produzione dell'anidride carbonica più lenta e graduale per via della maggiore durata del processo fermentativo;
- può avere effetti nutrizionali positivi attraverso l'aumento della biodisponibilità dei minerali (Larsson & Sandberg, 1991);
- ed effetti positivi sulla risposta glicemica nei confronti dei prodotti da forno (Maioli *et al.*, 2008).

## **II. MATERIALI E METODI**

Questa prova sperimentale è stata condotta basandosi sulla ricetta di panificazione proposta per il riconoscimento della D.O.P. per il pane tradizionale a mollica "Moddizzosu". L'impasto acido è stato preparato nella Sezione di Microbiologia del DI.S.A.A.B.A., mentre le prove di panificazione e le analisi su semole, impasti e prodotti finiti sono state eseguite a Valencia nell' INSTITUTO DE AGROQUÍMICA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (IATA), nel Departamento de Ciencia de los Alimentos, nel laboratorio de Cereales sotto la direzione della Doctora Concepción COLLAR ESTEVE.

Il piano sperimentale è stato redatto prendendo come fattori di variabilità:

- lievito di birra,
- lievito naturale a utilizzato a 3 livelli di dosaggio (10, 15, 20%),
- glutine esogeno.

Per verificare l'impatto dei singoli fattori sulla tecnologia di panificazione e sui prodotti finiti sono state elaborati 16 campioni differenti (Tab. 1). Ciò ha permesso di poter meglio evidenziare sia gli effetti indotti da ogni singolo fattore sia l'azione combinata di due variabili.

Nella figura 3 è riportato il diagramma di flusso della panificazione dove sono stati schematizzati i seguenti passaggi:

- **Impastamento**

è stata utilizzata un'impastatrice a braccia tuffanti (PRAT, Spagna) con una velocità di 60 cicli al minuto. Inizialmente sono state aggiunte le due semole e avviata l'impastatrice. Dopo circa 1 minuto sono stati addizionati alla miscela di sfarinati di grano duro il sale disciolto nell'acqua riscaldata a 30°C, il lievito commerciale disciolto nell'acqua e il glutine quando previsti dalla formulazione del campione. La 1a fase di impastamento ha avuto una durata complessiva di 15 minuti.

- **Riposo**

la massa dell'impasto è stata lasciata riposare per 10 minuti dopo la 1a azione miscelatrice.

- **2° Impastamento**

laddove la formulazione del campione lo prevedeva è stato aggiunto il lievito naturale e impastato per 7 minuti. Tutti i campioni per le analisi sugli impasti sono stati prelevati al termine di questo passaggio.

- **1a Fermentazione**

la massa dell'impasto è stata posta in una camera di fermentazione

(INFRISA) a 30°C all'85% di umidità per 30 minuti. La massa è stata coperta da un panno di cotone.

- **Divisione e degassificazione**

trascorsi i 30 minuti l'impasto è stato prelevato dalla camera di fermentazione e si è passati alla divisione dei pani con pezzatura da 600 g. Per controllare lo stato della fermentazione si sono posti 50 g di impasto in un volumetro.

- **Fermentazione in pani**

le pezze da 600 g sono state poi riposte nella camera di fermentazione alle stesse condizioni precedenti. Durante questa fase si è controllato periodicamente l'aumento del volume degli impasti per evitare rischi di sovrafermentazione.

- **Cottura**

gli impasti, una volta raggiunto il massimo sviluppo (poco più del doppio del volume iniziale), sono stati posti in un forno elettrico (EUROFORUS) a 185°C per 25 minuti circa. All'inizio della cottura è stata eseguita una vaporizzazione di 12 secondi per evitare la formazione prematura di una crosta troppo spessa.

- **Raffreddamento**

i pani tolti dal forno sono stati lasciati raffreddare a temperatura ambiente per due ore.

- **Confezionamento e conservazione del prodotto finale**

il pane freddo è stato confezionato in borse di polipropilene coestruso chiuse con termosaldatura. Il pane così confezionato è stato conservato in una camera a 20°C per realizzare le successive analisi.

## **A. Materiali**

### **1.1 - Ingredienti di panificazione**

Sono state utilizzate una semola tal quale e una semola rimacinata confezionate e commercializzate in sacchetti di plastica da 1 Kg del Molino "Galleu" di Ozieri. La loro composizione chimica è stata determinata in accordo con i metodi della International Association for Cereal Science and Technology (ICC, 1994).

Le caratteristiche funzionali sono state ricavate utilizzando il metodo ICC Standard 121 (1992) per i parametri alveografici, il metodo ICC 155 (1994) per l'indice di glutine e il metodo ICC 107/1 (1995) per l'indice di caduta.

Nella preparazione dei campioni sono stati utilizzati i seguenti ingredienti per tutti i campioni:

- Acqua potabile aggiunta secondo le dovute proporzioni a 30°C
- Sale commerciale
- Lievito di birra pressato, in panetti ( $10^{10}$  cellule/g, base secca, LEVAMAX) (quando presente)
- Glutine esogeno (quando presente)
- Semola
- Semola rimacinata

## 1.2 - Messa a punto della madre acida

Per la preparazione dell'impasto acido sono stati utilizzati alcuni microrganismi autoctoni isolati e selezionati da madri naturali prelevate in diverse località su tutto il territorio sardo da parte della Sezione di Microbiologia del DI.S.A.A.B.A. I ceppi utilizzati appartengono alla collezione del Dipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e Biotecnologie Agro-Alimentari e alla Porto Conte Ricerche. Il processo biotecnologico prevede l'inoculo iniziale dei ceppi selezionati in un impasto la cui formulazione (% di acqua, % sale, semolato rimacinato e microflora) riproduce la composizione dell'ecosistema naturale.

Nella prima fase, condotta in laboratorio, i ceppi selezionati sono stati inoculati su YEPD, i lieviti, e su MRS, i batteri lattici, e fatti crescere per 24

h a 30°C.

Si è scelto di creare uno starter naturale con i seguenti microorganismi:

specie	ceppo	% p/p
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PCC 918	0,50%
<i>Saccharomyces exiguus</i>	PCC 914	0,50%
<i>Lactobacillus pentosus</i>	PCC 987	0,01%
<i>Lactobacillus pentosus</i>	PCC 1009	0,01%

Le brodo-culture sono state centrifugate e il pellet di cellule è stato utilizzato per effettuare l'inoculo in un impasto costituito da semola e acqua (madre inoculata).

E' stato preparato un impasto costituito da 200 g di semolato rimacinato di grano duro, 100 mL di acqua in cui sono stati inoculati i microorganismi, sopra descritti, in forma di pellet di cellule. L'impasto è stato incubato a 30°C, 90% di umidità, per 6 ore; è stato quindi messo a 4°C per 16-18 ore.

Successivamente sono stati eseguiti tre rinfreschi successivi, utilizzando un rapporto semolato: acqua: madre di 2:1:2, rispettando le stesse condizioni di temperatura, di umidità e tempi utilizzati nella preparazione iniziale (Sanna, 2007).

La fermentazione è stata condotta in condizioni controllate di temperatura (25°C per 6 ore), monitorando i parametri di interesse quali pH, acidità e composizione della microflora durante la fermentazione e i successivi rinfreschi (Figura 4) .

La composizione microbica della madre acida utilizzata è stata descritta precedentemente, per monitorare la sua evoluzione durante i rinfreschi sono state eseguite delle conte vitali al tempo 0, alle 2h, alle 4h e alle 6h per ogni rinfresco, utilizzando i seguenti terreni di coltura:

- YEPD (diluizioni dalla -1 alla -7)
- WL Nutrient agar (Oxoid) (diluizioni dalla -1 alla -7 )
- MRS (Oxoid) + 1% di maltosio (diluizioni dalla -1 alla -9)

I rinfreschi sono stati eseguiti utilizzando solo la semola rimacinata, per garantire un quantitativo di zuccheri fermentescibili maggiore e rispettando i seguenti parametri tecnologici:

- Temperatura dell' impasto 25° C
- Tempo di incubazione 6 h
- Contenuto in acqua 50 %
- Temperatura dell'acqua 30° C
- Temperatura di incubazione della madre 25°C

### 1.3 - Terreni utilizzati

- **MRS** (Oxoid)

Terreno per la conta dei batteri lattici. Terreno modificato con l'aggiunta del 5% di FYE (Fresh Yeast Extract) + 1% di maltosio e acidificato sino a pH 5,5. Semine effettuate per spatolamento delle diluizioni dalla -2 alla -7. Le piastre sono state incubate a 30°C in giare per l'anaerobiosi.

- **YEPD** (Yeast Extract 1%, Peptone 2%, Glucosio 2%, Agar 2%)

Terreno per purificazione delle colonie di lievito. Le piastre sono state incubate a 25°C per 48 ore.

- **WL Nutrient agar** (Oxoid CM0501)

Terreno che permette di discriminare colonie differenti in base a differenze cromatiche. È un terreno già pronto (è stato aggiunto lo 0,5% di agar per avere una migliore consistenza).

Semine effettuate per spatolamento delle diluizioni dalla -2 alla -7. Le piastre vengono incubate a 30°C per 48 ore.

## **B. Metodi**

### **1. - Caratterizzazione chimica e reologica delle semole**

#### **1.1 - Umidità**

È stata determinata con il metodo ICC 110/1 (1994). Il metodo si basa sull'essiccamento del campione a 130°C a pressione atmosferica. Sono stati pesati 2,5 g di campione e posti in dei pesafiltri precedentemente tarati. Finita questa operazione i pesafiltri sono stati collocati in stufa a 130°C per 1 ora e mezza dal momento in cui la stufa ha raggiunto di nuovo (dopo l'apertura) la temperatura iniziale. Trascorso il tempo i pesafiltri sono stati trasferiti in essiccatore e lasciati raffreddare per 60 minuti, al termine dei quali si è proceduto alla pesata e alla determinazione del valore di umidità per differenza di peso.

#### **1.2 - Proteine**

Sono state determinate seguendo il metodo ICC 105/2 (1994)

(metodo KJELDAHL). Il contenuto in proteine dà un'indicazione sulla qualità delle farine. È stato pesato 1 g di campione e introdotto nel pallone Kjeldahl. Successivamente sono stati aggiunti 0,1 g di biossido di selenio, 0,5 g di solfato di rame, 5 g di solfato di potassio con funzioni di catalizzatore e alla fine 20 ml di acido solforico terminando con la disposizione sulla bocca del pallone di una bolla di vetro. La fase di mineralizzazione ha avuto avvio con il riscaldamento del pallone sotto cappa dopo aver aggiunto delle gocce di paraffina con effetto antischiuma. La soluzione è stata quindi riscaldata fino a renderla limpida e una volta ottenuto questo passaggio si è continuato con la mineralizzazione per 30 minuti, al termine dei quali si è lasciata raffreddare. Si è passati poi alla fase di distillazione con l'aggiunta di 200 ml di acqua distillata, di alcuni granelli di pomice e di una piccola quantità di paraffina. Una volta collegato il pallone al refrigerante sono stati aggiunti al pallone 50 ml di soluzione di NaOH al 40% e si è riscaldato all'ebollizione fino a raccogliere almeno 150 ml di distillato. L'analisi è terminata con la titolazione estraendo la beuta a cui è stato aggiunto l'indicatore e titolando l'ammoniaca raccolta con acido 0,1 N fino a viraggio. La quantità di azoto e di proteine è stata calcolata moltiplicando per un fattore (N x 5,7).

### **1.3 - Ceneri**

Sono state calcolate applicando il metodo ICC 104/1 (1994). In un crogiolo precedentemente tarato sono stati pesati circa 5 g di campione. In un secondo momento il campione è stato carbonizzato su piccola fiamma fino alla scomparsa di fumi bianchi e al termine di questa operazione il crogiolo è stato posto in muffola a 900°C fino a ceneri bianche. Dopo l'incenerimento i campioni sono stati raffreddati in essiccatore e successivamente pesati.

### **1.4 - Grassi**

Sono stati determinati secondo la metodica ICC 136 (1994). In un ditale di carta da filtro sono stati pesati 2 g di campione. Il ditale è stato poi inserito nel tubo di estrazione che è raccordato con un pallone, precedentemente pesato, contenente etere e con un refrigerante dove scorre l'acqua di raffreddamento. Successivamente il pallone è stato riscaldato a bagnomaria in maniera che l'etere potesse evaporare e salire nel refrigerante attraverso il tubo laterale. Il raffreddamento del vapore ha provocato la condensazione e la caduta del solvente sul ditale permettendo l'estrazione del grasso. L'etere poi ha ripetuto più volte lo stesso ciclo fino alla totale estrazione della sostanza grassa. Terminata

quindi l'estrazione si è proceduto con la distillazione dell'etere dal pallone e con il successivo essiccamento del residuo in stufa a 100°C. Dopo il raffreddamento è stato pesato il pallone con il residuo.

### **1.5 - Parametri alveografici**

Sono stati fissati osservando il metodo ICC Standard 121 (1992) utilizzando un alveografo (TRIPPETTE Y RENAUD CHOPIN, Francia). Sono stati usati 250 g per ciascuna semola e una soluzione salina al 2,5% di NaCl per ottenere l'impasto dall'impastatrice fornita con lo strumento. L'azione miscelatrice è durata in tutto 9 minuti, al termine dei quali sono stati estratti 4 pezzi di pasta dopo aver eliminato i primi due cm. I pezzi di pasta sono stati poi lisciati e tagliati con la fustella per poter essere trasferiti nel termostato dell'alveografo a 25°C in base all'ordine di estrazione. Trascorsi 28 minuti dall'inizio dell'impastamento è iniziata la prova con il posizionamento del pezzo di pasta al centro della piastra alveografica. L'inizio della prova è avvenuto con il rigonfiamento della pasta e con la registrazione attraverso un manometro delle variazioni della pressione all'interno della bolla di pasta. È stato posto termine alla prova quando si sono presentate sulla superficie della pasta le prime rotture.

## 1.6 - Indice di glutine

È stato determinato applicando la metodica ICC Standard 155 (1994). Permette di valutare l'attitudine panificatoria di una farina dando informazioni sulla quantità e qualità del glutine presente in essa. Gli apparecchi utilizzati sono stati:

- lo strumento GLUTOMATIC 2200 (PERTEN INSTRUMENTS AB, Svezia) composto da due camere di lavaggio di 55 mm di diametro e un setaccio di 88  $\mu$ m
- una centrifuga 2015 di 6000 $\pm$ 5 rpm (PERTEN INSTRUMENTS AB, Svezia) con due setacci metallici di 22 mm di diametro, che hanno permesso la separazione delle proteine ad alto peso molecolare da quelle a basso p.m. durante la centrifugazione.
- GLUTORK 2020 per la determinazione del glutine secco.

L'analisi ha avuto inizio con la pesata di 10 g di semola che sono stati poi lavati con una soluzione salina (NaCl) al 2% per 5 minuti. Il glutine ottenuto è stato poi posto nella centrifuga per 60 secondi per eliminare l'acqua residua e separare le proteine ad alto p.m. da quelle a basso peso molecolare. Come ultima operazione il glutine è stato disidratato nel GLUTORK a 150°C per 4 minuti.

I parametri ottenuti da questa analisi sono stati:

- Indice di glutine che è dato dalla percentuale di glutine che non

attraversa il setaccio della centrifuga (proteine ad alto p.m.) rispetto al glutine totale ottenuto.

- Glutine umido che è il glutine totale ricavato dall'estrazione
- Glutine secco che è il glutine totale disidratato con il GLUTORK.

### **1.7 - Indice di caduta**

è stato valutato seguendo la metodologia ICC Standard 107/1 (1995) utilizzando un viscosimetro FALLING NUMBER 1500 (PERTEN INSTRUMENT, Svezia). Misura l'attività alfa amilasica della farina basandosi sulla gelatinizzazione rapida di una sospensione di acqua e farina. Sono stati pesati più o meno 7 g di semola in funzione della sua umidità e posti nel tubo viscosimetro insieme a 25 ml di acqua distillata a 20°C. Il tubo è stato poi agitato vigorosamente a mano per 20-30 volte per ottenere una sospensione omogenea. È stato quindi introdotto l'agitatore viscosimetro nel tubo che è stato inserito nel bagnomaria contenente acqua bollente fissando poi il coperchio dell'apparecchio. Dopo 5 secondi dall'inserimento è iniziata l'agitazione facendo compiere all'agitatore un movimento completo di salita e discesa (due per secondo) al ritmo indicato dal cronometro automatico. Al 60° secondo indicato dal cronometro è stato liberato l'agitatore lasciandolo scendere dalla sua posizione superiore nella sospensione gelatinizzata. Una suoneria ha

segnalato la fine della corsa ed il cronometro ha fornito il tempo di caduta a partire dall'immersione del tubo nel bagnomaria.

## **1.8 - Prova farinografica**

E' stata eseguita utilizzando un Farinografo di Brabender (Duisburg, Germania). Si sono pesati 300 g di sfarinato per ogni campione, che sono stati versati nell'impastatrice dopo aver impastato a vuoto per circa due minuti senza la semola e 1 minuto una volta che è stata posata la farina. Successivamente è stata aggiunta nell'impastatrice dell'acqua distillata a 30°C. La prova è stata ripetuta fino a che l'aggiunta di acqua sia stata tale che la banda tracciata dal pennino indicasse un impasto di consistenza costante di 500 unità Brabender. Una volta ottenuta questa condizione l'impastamento è stato proseguito per un tempo totale di 20 minuti dal punto di inizio. I farinogrammi ottenuti sono visibili nella figura 5.

## **1.9 - Analisi RVA**

E' stata eseguita utilizzando la metodologia ICC N°162. Sono stati pesati 3,5 g di semola dentro un tubo cilindrico di alluminio fornito con lo strumento Newport Rapid ViscoAnalyser RVA-4. Successivamente si è versato dentro il tubo 25 ml di acqua distillata e si è dato inizio alla prova

dopo aver posto in cima al cilindro un'elica di plastica, che collegata all'RVA-4 ha permesso di misurare la viscosità della pasta che si forma durante il ciclo termico programmato. L'analisi ha permesso di evidenziare il profilo di pasting dell'amido e la qualità delle proteine dello sfarinato esaminato. Il Rapid Visco Analyser è uno strumento in grado di simulare un processo di cottura e di fornire preziose indicazioni sull'attitudine alla panificazione della farina o della miscela di farine utilizzate.

### **1.10 - Test di sedimentazione in S.D.S. secondo Zeleny**

Il test è stato svolto seguendo le indicazioni contenute nel metodo ICC N°118. E' stata preparata una soluzione A con 29,4 g di S.D.S. in 1 L di acqua distillata, una soluzione B con 10 mL di acido lattico 88% in 80 mL di acqua distillata ed una C composta da 500 mL della soluzione A e 9 mL della B. Si è proceduto quindi ad aggiungere 5mL di acqua distillata nel cilindro con 0,5 g dello sfarinato. Il metodo poi ha previsto l'alternarsi di agitazioni del cilindro con dei tempi di riposo ben definiti e con l'aggiunta di 5 mL della soluzione C al minuto 4. Al minuto 25 è stata effettuata la lettura dell'altezza del volume del sedimento. L'analisi è stata condotta in doppio.

### **1.11 - Indice di giallo**

L'indice di giallo è stato determinato tramite un colorimetro tristimolo Chromameter CR300 (Minolta, Osaka, Giappone) utilizzando la scala CIE LAB. È un parametro legato al contenuto in carotenoidi, soprattutto al pigmento chiamato xantofilla. Il colore è stato misurato ed espresso mediante le coordinate colorimetriche  $L^*$ , che misura la luminosità nell'intervallo tra il nero (=0) ed il bianco (=100),  $a^*$  che misura le differenze tra toni rossi e verdi ed infine  $b^*$  che è una misurazione diretta della colorazione gialla (Oliver *et al.*, 1992).

### **1.12 – Granulometria delle semole**

La suddivisione in differenti classi delle semole a seconda della dimensione delle particelle che le costituiscono è stata eseguita grazie a degli stacci con maglie di diversa grandezza da 500 a 37  $\mu\text{m}$ . Le immagini delle frazioni separate dagli stacci sono presenti nelle figure 6 e 7.

## **2. - Monitoraggio impasto madre**

La composizione microbica del lievito naturale è stata descritta precedentemente, per monitorare la crescita microbica dei lattobacilli e

dei lieviti sono state eseguite le conte vitali al tempo 0, alle 2h, alle 4h e alle 6h per ognirinfresco, utilizzando i seguenti terreni di coltura:

- YEPD (diluizioni dalla -1 alla -7 )
- WL Nutrient agar (Oxoid) (diluizioni dalla -1 alla -7 )
- MRS (Oxoid) + 1% di maltosio (diluizioni dalla -1 alla -9)

I rinfreschi sono stati eseguiti utilizzando solo la semola rimacinata, per garantire un quantitativo di zuccheri fermentescibili maggiore e rispettando i seguenti parametri tecnologici:

- Temperatura dell' impasto 25° C
- Tempo di incubazione 6 h
- Contenuto in acqua 50 %
- Temperatura dell'acqua 30° C
- Temperatura di incubazione della madre 25°C.

### **3. - Caratterizzazione delle proprietà reologiche degli impasti**

La valutazione delle proprietà viscoelastiche degli impasti è stata eseguita simulando le fasi di fermentazione e/o riposo di un processo di panificazione. Per questo scopo è stato utilizzato un texturimetro TA-XT2i

(STATEMICRO SYSTEMS, UK) con l'ausilio del quale sono state misurate le proprietà meccaniche e di superficie degli impasti, così come la estensibilità uniassiale.

### **3.1 - Analisi del profilo di texture**

L'analisi del profilo di texture (TPA, Texture Profile Analysis) è un ottimo strumento per valutare in maniera obiettiva le proprietà di texture offrendo delle misurazioni di diversi parametri con la stessa analisi. La TPA è stata realizzata sia su prodotti intermedi, come gli impasti, perché dà delle indicazioni utili a predire le caratteristiche del prodotto finale, sia sul pane stesso per verificarne la qualità.

L'analisi del profilo di texture consiste in un ciclo di doppia compressione, con un tempo di attesa tra la fine della prima compressione e l'inizio della seconda di 75 secondi. L'impasto dopo la prima compressione tende a tornare allo stato iniziale grazie al suo carattere viscoelastico. Se l'intervallo fosse sufficientemente lungo, si eliminerebbe lo stress occorso nell'impasto e il recupero sarebbe del 100%. È stata usata una sonda cilindrica di alluminio con diametro di 5 cm e con un livello di compressione pari al 60%. Le proprietà meccaniche primarie sono state misurate in assenza di adesività grazie all'uso di un film plastico collocato sulla superficie dell'impasto per evitare distorsioni provocate dal picco

negativo dell'adesività (Collar *et al.*, 1999; Collar *et al.*, 2000). L'adesività dell'impasto è stata calcolata separatamente con una seconda TPA senza film plastico senza prendere in considerazione gli altri parametri.

### **3.2 - Stickiness Test**

Per determinare la viscosità degli impasti è stata utilizzata la sonda di Chen e Hosney (Hosney and Chen, 1994) come viene riportato in bibliografia (Armero e Collar, 1997). E' una prova di estrusione che permette di misurare la viscosità di un impasto come una proprietà di superficie indipendente dalle altre. É stato introdotto nella sonda un quantitativo di circa 15 g di impasto e per ciascun campione sono state ottenute almeno 15 misurazioni.

### **3.3 - Estensibilità uni-assiale**

L'estensibilità alle lunghe deformazioni è stata ricavata per mezzo di una prova di estensibilità uni-assiale. Per fare ciò è stata montata la sonda Kieffer (Stable Micro Systems) sul texturimetro TA-XT2 seguendo la metodologia sviluppata da Kieffer *et al.* (1998). Per ogni campione sono stati presi 20 g di impasto e collocati sopra un modello in teflon, sul quale era stato precedentemente versato dell'olio di paraffina. Grazie al modello

in teflon è stato possibile ricavare delle sottili strisce, utilizzate dopo averle fatte riposare 40 minuti in una stufa a 30°C. La resistenza all'estensione (grammi) e l'estensibilità (millimetri) sono stati determinati in tension mode registrando il picco di forza massima, la distanza al punto massimo e l'estensione al punto di rottura (Swewing, 1995). Per ciascun campione sono state eseguite almeno 12 repliche.

### **3.4 - Rapid Visco Analyser**

Per poter eseguire questa analisi sono stati prelevati e congelati 50 g di impasto da ogni campione. In un secondo momento i differenti impasti conservati in piastre Petri di grandezza sufficiente ad ospitare 50 g di impasto sono stati liofilizzati. Le masse di pasta così trasformate sono state macinate ed è stata misurata l'umidità affinché il campione inserito (circa 3,5 g) nel RVA con 25 ml di acqua avesse un'umidità base del 14%, come recentemente riportato (Collar, 2003). Con l'uso del Newport Rapid Visco Analyser RVA-4 sono stati ottenuti i profili di pasting che hanno permesso di determinare le proprietà di gelatinizzazione, pasting e setback durante la cottura e il raffreddamento (ICC Standard No162).

### **3.5 - Acidità Titolabile Totale e pH**

Sono stati determinati usando il metodo messo a punto da Spicher & Stephan. Per la prova sono stati prelevati 10 g di impasto e inseriti in un barattolo di vetro della capienza di 500 mL. In seguito sono stati aggiunti 100 mL di una soluzione acetone/acqua (5/95, v/v) e si è omogeneizzato il tutto usando un mixer. Alla sospensione posta in agitazione continua sono state aggiunte 2 gocce di fenolftaleina e si è misurato il pH iniziale. Quindi si è titolato usando una soluzione di NaOH 0,1 N (con una microburetta da 10 ml) fino a raggiungere un pH di 8,5 (corrispondente al viraggio della fenolftaleina al rosa). L'acidità titolabile totale è stata espressa come ml di NaOH 0,1N su 10 g di impasto.

### **3.6 - Reometro**

I test in oscillatorio sono stati eseguiti utilizzando un reometro rotazionale che può lavorare in condizioni di sforzo e deformazione controllabili e misurabili (RHEO STRESS 1, TERMO, HAAKE, GERMANIA) utilizzando una geometria piatto-piatto (piatto di 70mm di diametro, distanza di 1 mm tra i due piatti). L'accessorio superiore rotante, costituito da un piatto in acciaio con diametro di 70 mm è stato abbassato fino a raggiungere un'altezza stabilita in 1 mm; la porzione d'impasto in esubero

rispetto alla circonferenza del piatto superiore è stata eliminata. La superficie dell'impasto rivolta verso l'esterno è stata ricoperta con un leggero strato d'olio di vaselina per evitarne la disidratazione. Preliminarmente è stato eseguito un test di strain sweep per identificare la regione viscoelastica lineare ed in base a questo valore, sono state scelti i parametri di analisi; strain di 0,4% (che risultava all'interno della regione lineare). Un test di frequency sweep, con valori di frequenza compresi tra 0,1 e 10 Hz, è stato utilizzato per valutare i cambiamenti delle proprietà reologiche dell'impasto. I test sono stati eseguiti in doppio per ogni tipologia di campione e le porzioni sono state prelevate al termine della fase di impastamento.

## **4. - Caratterizzazione dei prodotti finiti**

### **4.1 - Analisi del profilo di texture**

L'analisi del profilo di texture (TPA, Texture Profile Analysis) è in grado di dare indicazioni sulle proprietà meccaniche di un alimento che possono essere correlate a quelle sensoriali che vengono percepite dai consumatori durante la masticazione. La TPA è stata realizzata usando un TA-XT2i (Stable microsystems, UK). Per determinare sia le proprietà

meccaniche primarie (durezza, coesività ed elasticità), sia quella secondaria (masticabilità) è stata eseguita una prova con un ciclo di doppia compressione, che simula il processo di masticazione nella bocca. Il tempo di attesa tra una compressione e l'altra è stato di 30 secondi. L'analisi è stata eseguita sulla parte centrale di due fette di pane dello spessore di 1 cm poste una in cima all'altra. Ogni campione è stato compresso fino al 50% del suo spessore iniziale usando una sonda di alluminio di 25 mm di diametro. La velocità di discesa della sonda è stata di 1mm/s. La TPA è stata eseguita su tutti i 16 campioni del disegno sperimentale, sia sul pane fresco che sul pane in conservazione, corrispondenti ai giorni 0, 1, 3, 6, 8, 10.

## **4.2 - Volume Specifico**

Il volume del pane è stato misurato utilizzando un pan volumetro Chopin. La misura viene ottenuta grazie allo spostamento di semi di rapa determinato dall'inserimento del pane nell'apposito alloggiamento. A partire dal volume e del peso del pane, si è determinato il volume specifico, che si definisce come la relazione tra il volume del pane e la sua massa. Questo parametro è stato determinato in triplicato su 4 pani di ogni campione.

## **4.3 - Analisi di immagine**

Per lo studio delle caratteristiche dell'alveolatura delle fette di pane si è usato un sistema di analisi di immagine digitale (Crowly et al., 2002). Le immagini delle fette dei vari campioni sono state acquisite a 200 pixel per centimetro con uno ScanJet II scanner (Hewlett-Packard, USA) supportato dal software Deskscan II (alcune delle immagine acquisite sono presenti nelle figure 8 e 9). L'analisi è stata eseguita su quadrati di 50 mm x 50 mm presi dal centro delle immagini. I dati sono stati processati utilizzando il software SigmaScan Pro 5 (Jandel Corporation, USA) e Microsoft Excel 2003 (Microsoft, USA). Per ottimizzare l'analisi si è

scelto di convertire i dati acquisiti con lo scanner in immagini binarie. Sono state rilevate 5 caratteristiche della superficie interna del prodotto finito e successivamente analizzate per creare un profilo per ogni campione. I parametri della mollica che sono stati studiati sono: il numero di alveoli presenti nella zona considerata (un quadrato di 25 cm<sup>2</sup>), la grandezza media alveolare, la percentuale della frazione di vuoto, la distribuzione percentuale del numero di alveoli in diverse classi di grandezza (<0,5 mm, 0,5-1 mm, 1-3 mm, 3-5 mm, 5-10 mm) in funzione del diametro equivalente espresso come  $d_e = 2\sqrt{\text{area}}/\pi$  (Colucci & D'Egidio, 2004).

#### **4.4 - Umidità**

È stata determinata utilizzando il metodo ICC 110/1 (1994) con un sistema a due tappe, perché superiore a un livello di umidità del 16%. Per stabilire l'umidità della prima fase è stata tagliata una forma di pane in piccole parti, quindi queste sono state pesate e lasciate seccare a temperatura ambiente per 24 ore. Trascorso questo tempo i campioni secchi sono stati pesati e per differenza di peso è stata calcolata l'umidità della prima fase, H<sub>1</sub>.

L'umidità della seconda fase H<sub>2</sub> è stata determinata dopo aver triturato il campione della prima fase e averlo posto in stufa per 90 minuti a 130°C e

a pressione atmosferica.

L'umidità totale del pane è stata calcolata applicando la seguente formula:

$$\text{Umidità (\%)} = H_1 + \frac{H_2 \times (100 - H_1)}{100}$$

#### **4.5 - Colore della crosta e della mollica**

Il colore della crosta e delle parti interne dei prodotti finiti è stato determinato su un campione di almeno 4 pani con 8 misurazioni, impiegando un colorimetro tristimolo (Chromameter-2 Reflectance, Minolta, Osaka, Japan), accoppiato ad un'unità di misurazione CR-300. Lo strumento prima dell'utilizzo è stato calibrato con mattonella di riferimento bianca (L=9,28; a=0,41; b=1,89). Il colore è stato misurato utilizzando lo spazio di colore di Hunter (L, a, b), il valore L indica la luminosità, il parametro a fornisce l'indicazione dell'attribuzione del colore nel suo passaggio dal verde (-a) al rosso (+a), mentre b dà l'indicazione del passaggio del colore dal blu (-b) al giallo (+b).

## **4.6 - Calorimetria a Scansione Differenziale (DSC)**

Per studiare il fenomeno dell'invecchiamento del pane è stato utilizzato un Calorimetro a scansione differenziale. Sono stati presi circa 60 mg di mollica dal centro della fetta di pane dei diversi campioni per i differenti giorni di conservazione (0, 1, 3, 6, 8, 10). Il campione è stato introdotto dentro capsule di acciaio inossidabile (PERKIN ELMER LVC 0319-0218) chiuse ermeticamente (QUICK PRESS, PERKIN ELMER 0990-8467). Per eseguire la prova calorimetrica si è utilizzato il DSC-7 (PERKIN ELMER, USA). Tutti i campioni sono stati analizzati in duplicato prendendo come riferimento una capsula vuota.

Il profilo utilizzato è stato il seguente (Andreu et al., 1999):

- 1 minuto a 25°C
- Riscaldamento fino a 130°C con una velocità di 10°C al minuto.

A partire dal termogramma ottenuto è stata analizzata l'entalpia di fusione dell'amilopectina per ogni campione.

## **4.7 Il modello AVRAMI**

I dati della durezza e della chewiness misurate con la TPA e dell'entalpia di retrogradazione misurata con il DSC sono stati modellizzati secondo l'equazione di Avrami (modello basato sulla retrogradazione

dell'amido):

$$\theta = (T_{\infty} - T_t) / (T_{\infty} - T_0) = \exp(kt^{-n})$$

dove  $\theta$  è la frazione totale di cambi nella mollica o di entalpia o di ricristallizzazione che devono ancora avvenire.  $T_{\infty}$ ,  $T_t$  e  $T_0$  sono valori sperimentali della proprietà al tempo 0, t e all'infinito (o al valore limite), k è un'aliquota costante e n è l'esponente Avrami.

#### **4.8 - Analisi sensoriale**

L'analisi sensoriale del pane fresco e conservato è stata eseguita da un panel di giudici addestrati usando una scala semi strutturata con un punteggio da 1 a 10. Nell'analisi dei risultati è stato preso in considerazione solo l'accettabilità globale dei singoli campioni per i giorni di conservazione stabiliti (0, 1, 3, 6, 8, 10).

#### **4.9 – Analisi Statistica**

Per l'elaborazione statistica dei dati si è utilizzato il software statistico, Statgraphics v7.1 (Bitstream, Cambridge, MN). Sui dati delle analisi sugli impasti e del pane fresco (il disegno sperimentale è presente nella tabella 13) si è eseguita l'ANOVA plurifattoriale, in cui i 3 fattori presi in considerazione sono stati il lievito industriale (L), il glutine esogeno (G)

e l'impasto acido a tre percentuali di utilizzo (10%, 15%, 20%). Per una valutazione sui singoli campioni è stata eseguita l'ANOVA ad una via nel caso della durezza della TPA sul pane fresco. La differenza fra le medie è stata effettuata applicando il Tukey's Test con un livello  $p \leq 0,05$  e  $p \leq 0,01$ .

### **III. RISULTATI E DISCUSSIONE**

#### **1. MATERIE PRIME**

##### **1.1 Caratteristiche delle semole utilizzate: parametri chimici, fisici e reologici**

Nel lavoro eseguito sono state utilizzate semole commerciali vendute in confezioni da 1kg. I dati riguardanti le analisi chimiche, riportati nella Tabella 2, hanno messo in evidenza delle differenze importanti tra la semola (S) e la semola rimacinata (SR). Il contenuto in ceneri è un parametro inserito nel decreto legge che regola la commercializzazione degli sfarinati di grano duro. Più è alto il loro valore, maggiore è il contenuto in sali minerali. In entrambi i casi i risultati ottenuti sono vicini ai limiti minimi fissati per legge (0,70 e 0,90 su 100 parti di sostanza secca, rispettivamente per semola e semolato). Il quantitativo di sostanze azotate per la S (10,07% su s.s.) risulta vicino al limite di 10,50% su s.s., mentre per la SR il risultato ottenuto (9,71% su s.s.) è ben più distante dal limite minimo di 11,50% su s.s. L'umidità, per entrambi gli sfarinati, è rimasta contenuta nei limiti legali pari a una percentuale del 15,50%. In tabella 3 e nella figura 10 sono riportati i

risultati dell'analisi granulometrica dei due sfarinati. Nella semola utilizzata il 70% delle particelle ha un diametro compreso tra 425 e 210  $\mu\text{m}$ , mentre la semola rimacinata ha presentato l'80% delle particelle aventi un diametro compreso tra 149 e 53  $\mu\text{m}$  e la quota restante un diametro inferiore a 53  $\mu\text{m}$ . I dati concordano con il lavoro di Simeone *et al.* (2001) per quanto concerne la semola industriale visto che, nel loro caso, un campione di semola industriale aveva circa l'80% di particelle con un diametro compreso tra 400 e 200  $\mu\text{m}$ . Per la semola rimacinata industriale Simeone *et al.* (2001) riportano che il 75% delle particelle era compreso tra 280 e 112  $\mu\text{m}$ , risultato che si discosta da quello ricavato per la SR usata in questa sperimentazione, perché nello stesso intervallo sono state trattenute solo il 50% delle particelle. Le determinazioni del falling number eseguite con la semola non hanno permesso di ricavare alcun risultato. Ciò dovrebbe essere legato alla sua composizione granulometrica che non ha permesso un'idratazione tale da permettere la gelatinizzazione dell'amido. Per la SR, invece, è stato registrato un valore di 691 s che indica una scarsa attività amilasica. L'indice di giallo è un parametro che può influenzare il colore finale del prodotto e quindi il gradimento del consumatore e, in questa sperimentazione, ha fatto registrare un valore di 23,02 per la semola e 17,19 per la rimacinata. Entrambi i valori sono in linea con altri studi presenti in letteratura

(Pasqualone *et al.*, 2004; Spina *et al.*, 2001). La prova farinografica è stata eseguita sulla semola, sulla semola rimacinata e sulla miscela delle due nelle percentuali usate nella panificazione. In tabella 4 sono riportati i valori medi dei principali parametri farinografici e alveografici. Per quanto riguarda il W alveografico la semola rimacinata ha mostrato un valore di 193 mentre per la semola 162 confermando quanto visto con l'indice di glutine in Tabella 2. Il rapporto rilevato di P/L è stato di 1,47 per la S e di 3,64 per la SR. Per il frumento tenero, un valore di W alveografico maggiore di  $170 \times 10^4$  J ed un rapporto P/L compreso tra 0,3 e 0,7 vengono ritenuti ottimali per la panificazione (Cubadda & Pasqui, 1985). Nel caso del frumento duro e, in particolare della panificazione di tipo Altamura (che è simile al sistema di produzione del pane "Moddizzosu"), è stato riscontrato che i valori medi delle semole utilizzate oscillano tra 1,9 e 2,5 di P/L e tra 147 e  $250 \times 10^{-4}$  J di W (Simeone *et al.*, 2001). I valori riportati sono risultati ottimali per tollerare a lungo le sollecitazioni meccaniche dovute ai ripetuti impastamenti connessi al procedimento tradizionale. Ciò significa che sia la semola utilizzata che la rimacinata hanno mostrato un valore di W che indica un glutine forte mentre il rapporto P/L è risultato più equilibrato per la S e squilibrato per la SR visto che il valore di 3,64 indica un'ampia tenacità del glutine. In tabella 4 sono inoltre riportati i valori medi dei principali indici farinografici calcolati per la

semola, la semola rimacinata e la miscela delle due utilizzata per la prova di panificazione. La percentuale di assorbimento idrico ha fatto registrare un valore del 50% per la S e del 56% per la SR, un valore molto basso per la semola e basso per la semola rimacinata, se confrontati con altri dati pubblicati da Spina *et al.* (2001). Al contrario, i valori di stabilità sono risultati molto alti per la S (13,5 min), e buoni (4 min) per la rimacinata, non trovando conferma con i dati alveografici, che hanno invece evidenziato una scarsa forza del glutine. Il grado di rammollimento permette di prevedere il comportamento dell'impasto a seguito di un prolungato impastamento e di quantificare l'entità dello snervamento del glutine. Il risultato della semola rimacinata pari a 100 UB è un risultato mediocre, mentre per la S il dato di 50 UB è da ritenersi un valore buono. La semola ha un tempo di sviluppo più lungo rispetto alla SR di 2 minuti. Per la miscela di semola e semola rimacinata utilizzata nella prova di panificazione, i dati farinografici hanno dato risultati intermedi rispetto a quelli ottenuti per i soli sfarinati, eccezion fatta per la stabilità dove, invece di assistere a una diminuzione di questo parametro, si è assistito a un aumento. I viscogrammi ottenuti con il Rapid Visco Analyser sono visibili nella figura 11. Anche in questo caso, come per l'analisi con il Farinografo Brabender, sono state studiate le proprietà della sola semola, della sola semola rimacinata e della miscela delle due nel rapporto

percentuale impiegato per la prova di panificazione. I dati ottenuti della miscela degli sfarinati, presenti nella tabella 5, sono risultati intermedi tra i valori della S e della SR come nel caso dell'analisi farinografica. I risultati e i grafici dell'RVA hanno evidenziato (come per il Falling Number) che per la semola la quantità di campione, il tempo della prova e la temperatura raggiunta non hanno portato alla gelatinizzazione dell'amido. Per completare le informazioni sull'attitudine panificatoria delle semole è stato determinato l'indice di sedimentazione in SDS (tabella 2). È un'analisi che permette di riconoscere la qualità delle proteine della farina che formano il glutine. È noto che i valori del grano duro sono fortemente più bassi di quelli che si ottengono con le farine di grano tenero (Dexter *et al.*, 1981). Il valore di 16 mm ottenuto dalla semola è molto basso mentre per la SR il risultato ricavato, pari a 39 mm, si colloca tra i valori più bassi delle cultivar di grano duro analizzate da Simeone *et al.* (2001) (soprattutto le varietà Arcangelo e Appulo).

## **1.2 Caratteristiche microbiologiche dell'impasto acido utilizzato**

I risultati del controllo del pH e delle conte vitali dei lieviti e dei lattobacilli (LAB) durante i rinfreschi sono stati schematizzati nella figura

12. Si può osservare come alla partenza della madre acida il rapporto tra lieviti e LAB sia inferiore a 1:100 che si riscontra e si conserva dal 1° rinfresco fino al 3°. Dopo la preparazione dell'impasto acido il numero di lattobacilli e di lieviti è molto simile, circa  $10^7$ , ma al termine delle 6 ore i lieviti crescono di un ordine decimale mentre i LAB di due ordini. Le conte vitali durante i 3 rinfreschi riportano, più o meno tutte, gli stessi risultati, con un aumento da  $10^6$  a  $10^7$  per i lieviti e da  $10^7$  a  $10^9$  per i lattobacilli. Quindi, i tre rinfreschi si rendono necessari non tanto per il numero di microrganismi, ma per aumentare il volume dell'impasto acido e per il livello di pH. Infatti, durante il tempo di incubazione la madre acida parte da un pH vicino a 6,00 e allo scadere delle 6 ore ha fatto registrare un pH di quasi 5,00. Nei tre rinfreschi successivi il pH iniziale è sempre vicino a 5,50, ma con l'aumentare dei rinfreschi diminuisce il valore del pH raggiunto al termine della fase di incubazione, registrando così un valore vicino a 4.50 per il primo rinfresco, 4.20 per il secondo e sotto i 4 per il terzo.

## **2. PROVA DI PANIFICAZIONE**

La prova di panificazione è stata eseguita su tutte le formulazioni presenti nella tabella 1. In figura 3 è riportato il diagramma di flusso dello schema di panificazione adottato. Come già riportato, lo schema seguito è

stato preso dalla domanda per la richiesta di riconoscimento della Denominazione di Origine Protetta per il pane tradizionale "Moddizzosu".

## **2.1 Formulazione degli impasti**

Lo studio reologico degli impasti permette di ricavare preziose informazioni sulle proprietà viscoelastiche durante gli stadi iniziali del processo di panificazione e consente di prevedere, con buona approssimazione, la qualità del prodotto finale. Per la caratterizzazione reologica degli impasti vengono simulate le diverse fasi che avvengono durante il processo di panificazione. Queste tappe sono: impastamento, fermentazione/riposo e cottura. Di seguito vengono riportati i risultati ottenuti dall'analisi statistica multifattoriale, che ha messo in evidenza gli effetti dei diversi fattori sulle proprietà dell'impasto.

### ***2.1.1 Effetti dell'aggiunta del lievito naturale***

Nella tabella 6 sono riportati i dati ottenuti dalle analisi eseguite con lo strumento TA-XT2i associato a diverse sonde per eseguire la TPA, la Stickiness e il Kieffer test. La prova TPA fornisce delle informazioni sulle proprietà reologiche macroscopiche, che danno indicazioni sulla struttura dell'impasto e sul comportamento meccanico. Il lievito naturale ha un

effetto significativo sulla durezza (Hardness) dell'impasto riducendola da 5756 g fino ai valori di 3598 e 3875 g, quando presente al 15 e al 20%. Risultati opposti sono stati registrati per l'adesività misurata con la TPA in cui l'innesto dell'IA determina un decremento di questo parametro alle dosi più alte. Armero & Collar (1997) hanno riportato dei dati che concordano sull'adesività, mentre contrastano sulla durezza rispetto ai dati ottenuti in questo lavoro. Altri autori (Schober *et al.*, 2003) hanno pubblicato risultati differenti da quelli ottenuti in cui gli effetti degli acidi sulla rete glutinica generano un aumento della sofficità e dell'elasticità. Per l'adesività, l'associazione lievito madre con glutine è risultata significativa ed è insieme alla gommosità l'unico caso riscontrato nell'esame della TPA. I valori di springiness e di resilience sono collegati al concetto di elasticità, infatti la springiness può essere considerata come la percentuale di recupero del suo stato originale dopo la deformazione generata dalla sonda e la resilience come la capacità istantanea o la velocità con la quale avviene tale recupero dalla deformazione esercitata sull'impasto. E' possibile notare che l'impiego dell'impasto madre diminuisce i valori di springiness e accresce di poco i valori della resilience. L'analisi statistica ha rivelato che anche i dati della coesività (cohesiveness) mettono in evidenza un effetto significativo del lievito naturale sull'impasto in questo caso però indipendente dalla quantità di

utilizzo (Tab. 6). Si passa infatti da un valore medio dello 0,473 in sua assenza a valori superiori a 0,601 quando impiegato. Questi risultati indicano che l'uso dell'IA genera impasti meno elastici ma con un tasso di velocità di recupero della deformazione maggiore. La gommosità (gumminess) è un parametro secondario che si ottiene dal prodotto della durezza per la coesività. L'impasto acido genera un decremento significativo da 2774 (g\*s) a 2335 (g\*s) della gommosità, rispetto ad un impasto privo di IA, se presente a percentuali elevate. La stickiness ha dimostrato che l'utilizzo dell'IA provoca un incremento della viscosità, infatti tale parametro cresce da 25 a 35 g nel caso del lievito naturale al 20% (Tab. 6) L'estensibilità uniassiale è stata misurata con l'applicazione al texturimetro TA-XT2i della sonda Kieffer. L'utilizzo dell'impasto madre come agente lievitante causa un decremento significativo della resistenza all'estensione uniassiale, ad eccezione della concentrazione più alta (Tab. 6). Gli altri parametri, grazie al lievito naturale aggiunto in dosi elevate, fanno registrare un aumento significativo. Le misure dinamiche in oscillatorio hanno permesso di valutare gli effetti del lievito madre sulle proprietà viscoelastiche dell'impasto. Tutti gli impasti hanno mostrato lo stesso andamento per l'angolo di fase ( $\delta$ ) e il modulo di accumulo ( $G'$ ) all'interno dell'intervallo delle frequenze considerate (da 0,1 a 10 Hz). Nella tabella 7 sono riportati i valori ottenuti dall'analisi reometrica a 1 Hz

di frequenza. Il lievito madre, indipendentemente dalla percentuale di utilizzo, ha aumentato significativamente l'angolo di fase ( $\delta$ ) e diminuito il modulo di accumulo ( $G'$ ). L'angolo di fase varia tra  $0^\circ$  (materiale elastico ideale, solido Hookiano) e  $90^\circ$  (materiale viscoso ideale, liquido Newtoniano). Per tutti i materiali viscoelastici l'angolo è compreso tra  $0^\circ$  e  $90^\circ$ , dunque più basso è il valore, più elastico è il materiale. Il valore del modulo di accumulo ( $G'$ ) è aumentato al crescere della frequenza e l'andamento delle curve è stato simile per tutti gli impasti analizzati (fig 13 A e B). I risultati ottenuti concordano con studi presenti in bibliografia (Angioloni *et al.*; Clarke *et al.*, 2002), dove viene riportato che l'uso di lievito naturale genera un impasto meno elastico, meno compatto e quindi più facilmente lavorabile. I dati riguardanti il pH e l'acidità totale titolabile, come ci si poteva aspettare, hanno mostrato un impatto significativo del lievito naturale (IA) sugli impasti (Tab. 8, Fig. 14). Si può notare come a un aumento della quota impiegata di lievito naturale corrisponda una diminuzione del pH passando da un 6,11 in assenza dell'IA fino a un 5,40 alla massima dose di IA. Corrispondentemente, la presenza del lievito naturale determina un accrescimento dell'acidità totale titolabile (ATT) da un valore medio di 2,91 mL di NaOH in sua assenza fino a 4,41 mL, quando aggiunto al 20 per cento. Tutto ciò è legato all'attività metabolica dei LAB, che porta alla produzione di acido lattico ed acetico (Gobbetti *et*

al., 2005). L'associazione di più fattori ha mostrato significatività solo per il pH nelle associazioni impasto acido/glutine e IA/lievito di birra. Il Newport Rapid Visco Analyser RVA-4 è stato utilizzato per tracciare i profili di viscosità di pasting di tutti i campioni (un profilo tipo è presente nella fig. 15). E' uno strumento che, rispetto all'Amilografo Brabender, consente di accorciare i tempi, di diminuire la quantità di campione utilizzato e di eliminare l'uso di unità di misura arbitrarie della viscosità. Uno studio relativamente recente (Collar, 2003) ha trovato diverse correlazioni tra alcuni parametri ricavabili dai profili di pasting del RVA (picco di viscosità, setback, pasting temperature) e gli indici della cinetica del raffermaimento del pane. Nella tabella 9 sono riportati gli esiti dell'analisi statistica sui principali parametri dei profili ottenuti dal RVA. L'impasto acido non ha influenze significative sulle temperature di pasting, mentre determina un decremento della viscosità a 95°C e del setback quando aggiunto al 20%. Per quanto riguarda il picco di viscosità il lievito madre a basse e medie concentrazioni ha fatto registrare dei valori più bassi rispetto a quando non impiegato. Se utilizzato ad alte dosi la viscosità registrata non ha presentato differenze con i campioni privi di IA.

### ***2.1.2 Effetti dell'aggiunta del glutine***

Il glutine esogeno (G) generalmente può essere aggiunto per

cercare di compensare un deficit in alcuni sfarinati. Solitamente i suoi effetti riguardano il miglioramento delle proprietà meccaniche dell'impasto, una durata della lievitazione minore (grazie all'aumento della capacità di trattenere i gas), un aumento del volume del pane e un prolungamento della conservabilità. Dai dati ottenuti per il pH e per l'acidità totale titolabile risulta che il glutine provoca un aumento limitato per entrambi, ma significativo solo nel caso del pH (Tab. 8). L'aggiunta di glutine all'impasto incide sulle proprietà meccaniche, infatti l'analisi TPA ha rivelato un aumento della durezza media da 3260 a 5831 g. Ciò si può spiegare con il fatto che l'aggiunta di glutine esogeno si integra con il glutine presente negli sfarinati rafforzandone la struttura e i legami. I risultati evidenziano che il glutine determina un incremento significativo di tutti i parametri stimati con la TPA (Tab. 6), per cui l'aggiunta di glutine produce impasti più adesivi (da 13754 a 20187), più coesivi (da 0,561 a 0,624), più gommosi (da 1753 a 3424) e più elastici, sia per la springiness (da 0,482 a 0,624), sia per la resilience (da 0,155 a 0,187). La viscosità misurata con la sonda applicata al texturimetro ha fatto registrare un decremento con l'aggiunta del G (da 32 a 27g). Per la prova dell'estensibilità uniaassiale l'aggiunta di glutine ha portato all'incremento di tutti i parametri, ad eccezione dell'estensione alla rottura che è diminuita da 64 a 54 mm. I dati ricavati con la sonda Kieffer forniscono

informazioni sul comportamento che avranno gli impasti durante la cottura e sono collegate alla quantità e qualità del glutine. E' quindi del tutto plausibile che l'aggiunta di glutine a una miscela di sfarinati poveri in glutine corrisponda un aumento dei parametri ricavati con la sonda Kieffer. I test reologici fondamentali hanno dimostrato che il G determina un lieve, ma significativo aumento dell'angolo di fase ( $\delta$ ) (tab. 7), come il lievito di birra e il lievito naturale, ma a differenza loro ha un effetto opposto sul modulo di accumulo  $G'$ , dove è stato registrato un forte aumento invece di un decremento. Si può quindi affermare, visto anche l'esiguo aumento dell'angolo di fase, che gli impasti contenenti glutine esogeno risultano più elastici, più compatti e più difficili da lavorare. Ovviamente, tale effetto dovrebbe dipendere dalla quantità di glutine aggiunto agli sfarinati, che in questa sperimentazione è stata elevata rispetto alle dosi di norma utilizzate. Il profilo di pasting viene modificato dall'aggiunta di glutine per quanto riguarda il picco di viscosità e la temperatura di pasting (per quest'ultimo con una significatività al 5%) (Tab. 9). L'aumento della temperatura di pasting per il glutine, unico fattore in grado di condizionare significativamente questo parametro, dovrebbe coincidere con un ritardo del processo di raffermaimento secondo quanto riportato da Collar (2003).

### **2.1.3 Effetti dell'aggiunta del lievito industriale**

Il lievito di birra (LB) è l'agente lievitante comunemente usato in panificazione. È costituito da cellule di *Saccharomyces cerevisiae* che garantiscono tempi di fermentazione brevi e comodità d'uso che non può essere paragonata alla lievitazione naturale. Come l'IA anche il lievito di birra ha riportato differenze significative simili per il pH e l'acidità totale titolabile anche se di entità minore. Infatti, i campioni contenenti il LB fanno abbassare il pH da 5,75 a 5,67 e provocano un incremento di ATT da 3,71 a 3,79 mL di NaOH (Tab.8). L'uso del LB ha un comportamento analogo all'IA per le proprietà dell'impasto nel caso della durezza (decremento da 5614 a 3477 g), dell'elasticità, ma solo per la springiness (da 0,602 a 0,484), della gommosità (da 3165 a 2012 g\*s) e per i risultati della Stickiness e Kieffer, ad eccezione dell'area dove ha fatto registrare un decremento (da 278 a 202 g\*s)(Tab. 6). I risultati delle prove in oscillatorio mostrano (Tab 7; Fig.13) per il lievito industriale gli stessi effetti del lievito naturale. L'associazione IA/LB esalta gli effetti dei singoli fattori, generando impasti con angoli di fase ( $\delta$ ) più alti e valori del modulo di accumulo ( $G'$ ) più bassi. Il lievito di birra ha influito significativamente solo sul picco di viscosità, facendo registrare una diminuzione di questo parametro, come il glutine e l'impasto acido al 10 e al 15% (Tab. 9). Per gli altri parametri non sono stati riscontrati altri

effetti significativi.

## 2.2 Tempi di lievitazione

I tempi di lievitazione dei diversi impasti sono riportati nella figura 16. C'è da premettere che i due campioni privi di agenti lievitanti (CONT e CONTG) non hanno fatto registrare alcun aumento di volume dopo 180 minuti. La presenza del LB ha dato un impulso notevole alla velocità di fermentazione, perché in tutti i campioni dove era prevista la sua presenza è stato raggiunto il volume limite fissato in precedenza (poco più del doppio del volume iniziale) entro i 50 minuti. La presenza contemporanea dell'impasto acido con il lievito industriale, da come si può vedere nella figura 16, ha determinato per tutti i campioni una curva di fermentazione con la stessa tendenza. Questo effetto è senz'altro dovuto alla presenza del lievito di birra in una percentuale del 2%, che non ha permesso lo sviluppo di differenze tra i campioni di controllo (CONTL e CONTLG) e quelli addizionati con l'IA (SDL10, SDL15, SDL20) e il glutine (SDLG10, SDLG15, SDLG20). I prodotti lievitati con il solo impasto madre hanno avuto bisogno di tempi molto più lunghi rispetto ai 40-45 minuti ottenuti per raggiungere il volume acquisito dai campioni lievitati con il LB. In questo caso la quantità di IA è determinante sui tempi di fermentazione e anche la presenza di

glutine incide sui tempi di lievitazione. Infatti, il campione SD10, contenente il 10% di lievito naturale, ha impiegato 240 minuti per giungere a 120 mL, mentre la stessa formulazione arricchita con il glutine SDG10 30 minuti in meno. Il dosaggio intermedio, SD15, è giunto al limite di volume in 170 minuti, mentre il dosaggio più alto, SD20, in 155 minuti. Gli impasti contenenti le quote maggiori di lievito madre e addizionati di glutine esogeno, SDG15 e SDG20, non hanno presentato differenze e si sono rivelati quelli con il minor tempo di lievitazione (145 minuti), tra i campioni lievitati con il solo IA. I tempi di lievitazione hanno mostrato una grande differenza tra il campione lievitato con la quota minore di IA (SD10) e gli altri due (SD15 e SD20), in cui non è stata registrata una differenza proporzionale alle dosi di utilizzo dell'IA. Il glutine esogeno in tutti e tre i campioni (SDG10, SDG15, SDG20) ha permesso di ridurre i tempi di lievitazione, probabilmente grazie ai suoi effetti sulla rete glutinica, che hanno permesso di trattenere meglio la CO<sub>2</sub> generata dalle lievitazioni biologiche.

### **3. CARATTERISTICHE DEL PANE FRESCO**

I campioni di pane fresco sono stati lasciati riposare per più di due ore prima di effettuare le analisi di struttura, per evitare che il calore

alterasse i risultati ottenuti. I dati dell'umidità dei campioni nel giorno di produzione e dopo 10 giorni di conservazione sono riportati nella Figura 17. Non sono state riscontrate differenze significative per quanto riguarda l'influenza dei diversi fattori, ma si può comunque mettere in evidenza che la percentuale di umidità nei campioni senza alcun agente lievitante ha fatto registrare i valori più elevati compresi tra il 39 e il 41%, e per i restanti campioni contenenti o il solo lievito naturale o il lievito di birra o l'associazione dei due sono stati ottenuti valori tra il 35 e il 39,3%. La maggiore umidità dei campioni CONT e CONTG può essere spiegata dall'assenza di lievitazione, che ha portato alla cottura di impasti pesanti, privi di una struttura cresciuta sotto la spinta dell'anidride carbonica fornita dalle fermentazioni microbiche. A sostegno di questa ipotesi vi è il maggior peso e i volumi minori, osservabili nelle figure 18 e 19, per questi due campioni.

I risultati dimostrano che l'uso di IA non riduce la durezza del pane fresco, ad eccezione dell'uso di alte dosi, rispetto all'LB (Tab. 11 o è la tab. 10? Mettere Fig. 20). Anche il glutine, tranne un caso (SDLG10), ha portato ad una diminuzione dei valori di durezza (Fig.20). Il risultato, come si può vedere dalla Fig. 20 è che il campione con il valore più basso di durezza era quello che prevedeva l'uso di G, LB e IA alla dose massima. Nella stessa tabella 10 si può osservare come tutti e tre i fattori incidano

positivamente anche sul volume specifico e in particolare per l'IA le dosi più alte hanno prodotto pani di maggior volume (figura 18); l'effetto dell'IA concorda con quanto presente in letteratura per pani di grano tenero (Collar *et al.*, 1994b). La combinazione di due fattori ha un effetto significativo solo quando sono associati il glutine e il lievito di birra per la durezza e il lievito naturale e lievito industriale nel caso del volume specifico. L'utilizzo del lievito commerciale e del lievito madre permette di ottenere prodotti finiti più elastici (springiness e resilience), più coesi e più masticabili (chewiness), tenendo presente che la masticabilità è un proprietà meccanica secondaria ricavata da quelle primarie (durezza, elasticità, coesività). La presenza del glutine non ha influito sulla capacità di recupero della deformazione (springiness), anzi ne ha ritardato la velocità di recupero (resilience). Il G non ha determinato cambiamenti sulle altre proprietà meccaniche della TPA (cohesiveness e chewiness), mentre ha inciso sul volume specifico perché i campioni contenenti glutine esogeno si sono dimostrati più voluminosi (visibile anche nella figura 18). I pesi delle forme (figura 19) non hanno mostrato differenze significative essendo oscillati tra 525 e 541 grammi, ad eccezione dei due privi di agenti lievitanti (CONT e CONTG), come detto precedentemente, che hanno fatto registrare i pesi più elevati (570 e 559 grammi). L'applicazione dell'analisi d'immagine per la valutazione della struttura

della mollica del pane è una tecnologia di recente applicazione che ha il vantaggio di essere oggettiva e non invasiva. I risultati rappresentati nella figura 21 non mostrano i campioni CONT e CONTG perché, non avendo avuto una fase di lievitazione con qualche agente lievitante, non hanno potuto sviluppare la tipica struttura alveolare del pane. La classe di diametro equivalente con le maggiori percentuali è quella con le dimensioni più piccole (la (?) <0,5mm) con valori che oscillano tra 77, 75 e 70 % per i campioni fermentati con il solo lievito naturale e il glutine esogeno e tutti gli altri con valori compresi nell'intervallo 64-69%. La seconda classe non ha registrato percentuali differenti tra i diversi campioni ad eccezione del SDG10 con il valore di 24%; tutti gli altri hanno mostrato valori tra il 14 e il 19%. La classe compresa tra 1 e 3 mm ha mostrato delle differenze per i prodotti fermentati con il solo lievito madre (SD10, SD15, SD20) con un intervallo di risultati tra il 18 e il 20%, rispetto agli altri con valori tra il 14 e il 17%. Piccole percentuali sono state riscontrate per le classi più grandi tra i 3-5 mm (1-3%) e oltre i 5 mm (0-2%). Gli altri parametri dell'analisi d'immagine, presenti nella tabella 11, hanno evidenziato che tutti e tre i fattori incrementano il numero di alveoli presenti sulla mollica. I dati ottenuti dall'applicazione della colorimetria a riflettanza sulla crosta e sulla mollica sono illustrati nella tabella 12. Il colore della crosta è stato modificato solo dal IA, se si esclude la

coordinata b, che in presenza del LB ha fatto registrare un aumento della colorazione gialla. Il lievito naturale alla dose più bassa ha presentato i valori minori per la luminosità e quelli più alti per la colorazione rossa (corrispondente alla coordinata a), insieme alla dose più elevata del IA. Sembrerebbe quindi che i prodotti più scuri con minore luminosità e tonalità rosse più intense siano quelli con la dose di impasto madre al 10% e solo per la colorazione rossa quelli al 20%. Per la mollica la luminosità ha mostrato valori significativamente differenti con l'applicazione dei fattori G e LB e non IA. Caso opposto per il colore rosso, dove solo i campioni con IA ad alta quantità hanno un valore diverso, con una maggiore tendenza al rosso a differenza degli altri più vicini al verde. Infine, il colore giallo dato dalla coordinata b, tipico dei pani di semola, viene diminuito dalla presenza di G e dell'IA al 10 e al 15%, mentre è incrementato con LB e IA al 20%.

#### **4. COMPORTAMENTO DEL PANE DURANTE LA CONSERVAZIONE**

Per la valutazione del comportamento dei campioni durante la fase di conservazione sono stati utilizzati due strumenti: il texturimetro TA-XT2, eseguendo una prova di TPA su due fette di pane prive di crosta e

sovrapposte, e il calorimetro a scansione differenziale con il quale si è osservato l'andamento della retrogradazione dell'amilopectina. I dati ottenuti sono stati modellizzati secondo l'equazione modificata di Avrami che altri autori hanno applicato per la descrizione del rafferimento e del processo di indurimento della mollica (Kim & D'Appolonia, 1977; Russel, 1983). Questi autori hanno fissato i parametri dell'equazione per regressioni non-lineari e dai quali hanno ricavato un  $n$  (esponente di Avrami) vicino all'1 basandosi sulla retrogradazione dell'amido. Sebbene sia stato dimostrato che la retrogradazione dell'amido sia solo uno dei molteplici processi coinvolti nel fenomeno dello "staling" (Zobel & Kulp, 1996) il modello Avrami risulta comunque utile perchè permette di ricavare cinetiche con un elevato grado di adattamento dei dati (Armero & Collar, 1998). Nelle tabelle 14 e 15 vengono mostrati i risultati dei parametri dell'equazione di Avrami, sia sui dati del calorimetro, sia sulla durezza della TPA del texturimetro. Armero & Collar (1998) hanno riportato che, solitamente, valori più bassi di  $n$  e  $k$  coincidono con un processo di invecchiamento del pane più lento, anche se nelle valutazioni si deve comunque tener conto del valore  $T_{\infty}$  (noto anche come valore limite). Per comprendere meglio i dati ottenuti sono stati riportati, nelle figure 22, 23, 24 e 25 gli andamenti della durezza (g) e del valore  $\Delta H$  (J/g) nelle forme fissate dall'applicazione del modello Avrami (A) e nelle

forme dei dati grezzi (B). Tra i campioni prodotti con il solo lievito naturale (SD10, SD15 e SD20) solo quello ottenuto con l'uso ad alte dosi dell'IA riesce ad avere un esponente di Avrami in linea con il campione di controllo (CONTL) fermentato con il solo lievito industriale. SD20 ha infatti un valore di  $n$ , sia per la durezza che per il  $\Delta H$ , poco più alto di CONTL ma compensato da un  $k$  più basso in entrambi i casi. SD10, il pane prodotto con il tempo di fermentazione più lungo, ha invece registrato i valori di  $n$  più alti e ciò viene confermato dall'andamento grafico presente nella figura 23. Il prodotto lievitato con una dose di impasto madre intermedia (SD15) ha una velocità di staling superiore a CONTL e a SD20 sebbene abbia fatto registrare un valore di  $n$  più basso nel caso della durezza. Probabilmente, però, tale valore è legato a un limite di durezza più elevato ( $T_{\infty}=9413$ ), rispetto a tutti gli altri campioni, perché graficamente mostra un andamento diverso da CONTL e SD20. L'aggiunta di glutine (CONTLG, SDG10, SDG15, SDG20) alle formulazioni dei campioni appena trattati ha diminuito le differenze tra i tre campioni lievitati con il solo IA e ha rallentato il processo di indurimento della mollica a carico del campione di controllo visto che, al 10° giorno ha fatto registrare un valore di hardness inferiore a 1400 g. I valori dell'esponente di Avrami confermano come all'aumentare della dose di impasto madre rallenti lo staling, sebbene quando venga addizionato glutine esogeno il campione di controllo

(CONTLG) manifesta, sia graficamente che con il valore di  $n$ , un processo di invecchiamento più lento. Nel caso dei campioni fermentati sia con lievito industriale che con lievito madre (SDL10, SDL15, SDL20), dal punto di vista grafico presentano un andamento più ritardato del pane fermentato con il solo lievito di birra (CONTL) e di quelli lievitati con il solo IA (SD10, SD15 e SD20). Ciò è riscontrabile anche nei valori di  $n$  e  $k$  (tabella 14) dove SDL10 ha un valore  $n$  superiore a CONTL ma con un  $k$  inferiore, SDL15 con  $k$  e  $n$  molto bassi (probabilmente legati al  $T_{\infty}$  elevato) e l' $n$  di SDL20 maggiore del campione di controllo compensato da un  $k$  più basso. Analogamente a quanto visto prima, anche per i campioni lievitati con IA e lievito industriale, l'aggiunta di glutine esalta le differenze tra i campioni aventi differenti dosi di impasto madre, mostrando graficamente come all'aumento di IA corrisponda una minor durezza della mollica. Da segnalare che in questo caso il campione di controllo addizionato di glutine presenta lo stesso andamento del pane fermentato alla dose maggiore di IA. Il confronto tra i campioni lievitati con solo IA e LB più IA va a favore di questi ultimi perché sia graficamente che con i parametri di Avrami risulta che il processo di staling è più lento. A completamento delle informazioni ricavate da questa sperimentazione l'analisi sensoriale ha permesso di valutare anche l'accettabilità dei prodotti finiti durante la fase di conservazione (Figura 26). Al giorno 0 tutti i campioni hanno superato

la soglia limite di accettabilità pari a 6 punti, ma già al giorno 1 il campione di controllo (CONTL) lievitato con LB e privo di glutine non superava il valore minimo. Al giorno 3 solo cinque campioni su 14 avevano superato il punteggio minimo (SD10, SDL10, SDL15, SDL20 e SDLG20) e tra questi si può mettere in evidenza che 4 su 5 contenevano il LB e i tre dosaggi di IA. Soltanto il campione contenente tutti i tre fattori e, tra questi l'IA alla dose più elevata, è risultato accettabile al 6° giorno di conservazione. Tutti i pani dopo il giorno 6 hanno ottenuto punteggi nettamente inferiori rispetto al valore minimo.

## **5 - Conclusioni**

Le analisi eseguite in questa sperimentazione hanno permesso di approfondire meglio gli effetti del lievito industriale, dell'impasto madre e del glutine esogeno su un prodotto tipico tradizionale come il pane "Moddizzosu". Gli sfarinati utilizzati, sebbene di scarsa-media qualità, hanno permesso di panificare e di ottenere dei pani di buona fattura, anche se non hanno portato ad un'alveolatura aperta tipica di altri pani di grano duro (come il pane di Altamura).

A livello di impasti si è avuto la conferma che l'uso dell'impasto madre permette di avere impasti meno compatti, meno elastici e quindi più facilmente lavorabili. L'aggiunta di glutine produce effetti contrari sugli

impasti contrastando l'azione del LB e dell'IA, sebbene sia di aiuto per migliorare le carenze strutturali di alcuni sfarinati.

L'uso del LB abbrevia notevolmente i tempi di fermentazione, ma l'IA in dosi elevate permette di ottenere dei tempi di lievitazione più ragionevoli, con soli 100 minuti in eccesso rispetto a quelli ottenuti con l'uso del lievito di birra. Il glutine esogeno aiuta ad accorciare i tempi di fermentazione e, con molta probabilità, l'uso di grani duri selezionati appositamente per la panificazione dovrebbe aiutare ad avere un processo fermentativo di durata inferiore.

Il pane fresco prodotto con l'aggiunta o con solo IA risulta essere più morbido di quello fermentato con il lievito industriale, quando si usano dosi elevate. Il glutine permette di avere un prodotto sempre più morbido rispetto allo stesso prodotto privo di G. Lunghi tempi di fermentazione portano a pani più scuri, probabilmente grazie ad una maggiore attività proteolitica e quindi alla formazione di quei precursori che partecipano alla reazione di Maillard. I dati derivanti dall'analisi con la calorimetria a scansione differenziale per la valutazione del fenomeno dello staling non hanno portato a grandi differenze e ciò potrebbe essere legato alle caratteristiche delle materie prime, sebbene si possa comunque affermare che sia l'IA (soprattutto al 20%) che il G esercitano un ruolo anti

raffermimento evidenziato da un effetto positivo sul volume del pane, ma anche sugli andamenti della durezza.

L'analisi sensoriale ha confermato che, quando si usa l'impasto madre, si ottengono dei prodotti con una accettabilità sensoriale più lunga nel tempo, sebbene i risultati migliori siano stati ottenuti con la presenza di tutti i tre fattori analizzati in questo lavoro.

In conclusione, l'uso dell'IA sembra apportare per alcune caratteristiche dei significativi effetti benefici, che potrebbero probabilmente essere aumentati ricorrendo a materie prime con caratteristiche ottimali per questo tipo di lavorazione. In futuro, pertanto, è auspicabile un ulteriore lavoro di ricerca per la selezione delle migliori materie prime da utilizzare con gli impasti acidi.

## **IV. TABELLE**

**Tabella 1 – Formulazioni utilizzate per l’ottenimento di 16 campioni**

Ingredienti	CONTL <sup>x</sup>		CONTLG		SDL10		SDLG10		SDL5		SDLG15		SDL20		SDLG20	
	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane
Semola	--	3400	--	3400	--	3400	--	3400	--	3400	--	3400	--	3400	--	3400
Sem.Rim.	--	850	--	850	425	425	425	425	637,5	212,5	637,5	212,5	850	--	850	--
Acqua	--	2337,5	--	2337,5	213	2125	213	2125	319	2025	319	2025	425	1913	425	1913
Sale	--	63,8	--	63,8	--	63,8	--	63,8	--	63,8	--	63,8	--	63,8	--	63,8
Liev.Ind.	--	85	--	85	--	85	--	85	--	85	--	85	--	85	--	85
Imp.Ac.	--	--	--	--	638	--	638	--	956	--	956	--	1275	--	1275	--
Glutine	--	--	--	127,5	--	--	--	127,5	--	--	--	127,5	--	--	--	127,5

Ingredienti	CONT		CONTG		SD10		SDG10		SD15		SDG15		SD20		SDG20	
	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane	I.A.	Pane
Semola	--	3400	--	3400	--	3400	--	3400	--	3400	--	3400	--	3400	--	3400
Sem.Rim.	--	850	--	850	425	425	425	425	637,5	212,5	637,5	212,5	850	--	850	--
Acqua	--	2337,5	--	2337,5	213	2125	213	2125	319	2025	319	2025	425	1913	425	1913
Sale	--	63,8	--	63,8	--	63,8	--	63,8	--	63,8	--	63,8	--	63,8	--	63,8
Liev.Ind.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Imp.Ac.	--	--	--	--	638	--	638	--	956	--	956	--	1275	--	1275	--
Glutine	--	--	--	127,5	--	--	--	127,5	--	--	--	127,5	--	--	--	127,5

<sup>x</sup> La lettera L indica la presenza del lievito industriale nella formulazione del campione, la lettera G indica la presenza del glutine esogeno, SD seguite dai numeri 10, 15 e 20 indicano l’uso del lievito naturale a diverse percentuali, le lettere CONT indicano i campioni presi da riferimento come controlli

Costantino Fadda,

Pani tradizionali prodotti con pasta acida: valutazione delle caratteristiche tecnologiche degli impasti, delle caratteristiche di texture del prodotto finito e cambiamenti durante la fase di conservazione, Tesi di dottorato in Biotecnologie Microbiche Agroalimentari, Università degli studi di Sassari

**Tabella 2 – Dati chimici, fisici e colorimetrici sugli sfarinati utilizzati**

<b>Determinazione</b>	<b>Semola (S)</b>	<b>Semola rimacinata (SR)</b>
Proteine (% s.s.)	10,07	9,77
Lipidi (% s.s.)	0,81	1,18
Ceneri (% s.s.)	0,71	0,87
Umidità (%)	15,51	15,12
Glutine Umido	64	26
Glutine Secco	23	10
Indice di Glutine	69	96
Indice di Giallo	23,02	17,19
SDS (mm)	16	39
Falling Number (s)	--	691

**Tabella 3 – Dati dell’analisi granulometrica della semola e della semola rimacinata**

Tipo di macinato	Dimensioni dello staccio ( $\mu\text{m}$ )										
	500	425	350	300	210	149	100	74	53	37	<37
Semola	0,00*	6,14	25,90	33,02	14,40	11,90	3,34	5,21	0,00	0,00	0,00
Semola rimacinata	0,00	0,00	0,00	0,00	0,59	18,07	28,89	23,89	9,07	7,57	11,92

\* Percentuale di particelle trattenute dallo staccio

**Tabella 4 – Valori alveografici e farinografici della semola (S), della semola rimacinata (SR) e della miscela utilizzata nella sperimentazione**

Campione	Dati Alveografici		Dati Farinografici			
	W (J x 10 <sup>4</sup> )	P/L	Assorbimento idrico (%)	Sviluppo (min)	Indice di Caduta a 12' (UB)	Stabilità (min)
Semola (S)	162	1,47	50	4	50	13
Semola rimacinata (SR)	193	3,64	56	2	100	4,5
S (75%) + SR (25%)	--	--	52	4	55	14,5

**Tabella 5 – Valori del Rapid Visco Analyzer sulla semola (S), sulla semola rimacinata (SR) e sulla miscela delle due**

	<b>Picco Viscosità</b>	<b>Holding strength</b>	<b>Breakdown</b>	<b>Final visc</b>	<b>Total Setback</b>	<b>Peak time</b>	<b>Pasting temp</b>	<b>Setback</b>	<b>Visc at 95°C</b>	<b>Visc at end 95°C</b>	<b>Visc at 50°C</b>
Semola (S)	1371	1236	135	3186	1950	7,0	89	1816	107	1379	2612
Semola rimacinata (SR)	2488	1765	723	3543	1778	5,9	85	1055	210	1930	2793
S (75%) + SR (25%)	1553	1510	44	3341	1831	5,6	81	1788	136	1529	2715

**Tabella 6 – Risultati dell’analisi statistica multifattoriale della TPA, del Stickiness e Kieffer test eseguiti sugli impasti**

Fonte di variazione	Liv.	TPA impasti					Stickiness		Kieffer			Area (g*s)
		Hardness (g)	Adhesiveness	Springiness	Cohesiveness	Resilience	Gumminess (g*s)	(g)	Res. to ext. (g)	Ext at max (mm)	Ext at break (mm)	
Gluten (G)												
	0 <sup>x</sup>	3260a <sup>y</sup>	13754a	0,482a	0,561a	0,155a	1753a	32b	13a	23a	64b	180a
	1	5831b	20187b	0,604b	0,624b	0,187b	3424b	27a	25b	29b	54a	300b
Lievito (L)												
	0	5614b	18068b	0,602b	0,610a	0,168a	3165b	28a	26b	25a	52a	278b
	1	3477a	15873a	0,484a	0,575a	0,173a	2012a	31b	13a	27a	66b	202a
Impasto acido (IA)												
	0	5756c	16068b	0,785c	0,473a	0,155a	2774b	25a	22c	22a	52a	239a
	10	4954bc	11441a	0,523b	0,601b	0,171ab	2875b	29b	17a	27b	61b	222a
	15	3598a	20069c	0,345a	0,682b	0,187b	2371a	29b	19b	28b	57ab	248a
	20	3875ab	20305c	0,519b	0,613b	0,170ab	2335a	35c	20bc	28b	64b	252b
Fattori	GL	Mean squares										
G	1	5,3X10 <sup>7***z</sup>	3,3X10 <sup>8***</sup>	0,119**	0,032*	0,0081***	2,2X10 <sup>7***</sup>	195***	1140***	265***	810***	1,2 X10 <sup>5***</sup>
L	1	3,7X10 <sup>7***</sup>	3,9X10 <sup>7***</sup>	0,111**	0,010 NS	0,0002 NS	1,1 X10 <sup>7***</sup>	69***	1365***	21 NS	1755***	4,7 X10 <sup>4***</sup>
IA	3	2,4X10 <sup>7***</sup>	1,5X10 <sup>7**</sup>	0,263***	0,060***	0,0013***	6,1 X10 <sup>5**</sup>	143***	31,1***	71***	228***	1478*
G X L	1	1,4X10 <sup>7***</sup>	4,7X10 <sup>7***</sup>	0,503***	0,183***	0,0117***	1,5 X10 <sup>6***</sup>	3,78 NS	176***	25*	116*	1540*
G X IA	3	5,9X10 <sup>5 NS</sup>	2,1X10 <sup>7***</sup>	0,010 NS	0,004 NS	0,0002 NS	3,6 X10 <sup>5*</sup>	55,5***	4,87*	35**	55 NS	948 NS
L X IA	3	3,8X10 <sup>5 NS</sup>	4,4X10 <sup>7***</sup>	0,005 NS	0,01 NS	0,0014***	4,0 X10 <sup>5*</sup>	46***	17,9***	76***	290***	1986**
Errore	19	6,1X10 <sup>5</sup>	2,2X10 <sup>6</sup>	0,012	0,004	0,0002	8,8 X10 <sup>4</sup>	4,41	1,33	5,16	20,8	341

<sup>x</sup> Il numero 0 indica assenza della fonte di variazione, il numero 1 indica presenza del glutine e del lievito industriale, i valori 10, 15 e 20 indicano la presenza di impasto madre al 10, 15 e 20%.

<sup>y</sup> A lettere diverse per colonna e fonte di variazione corrispondono medie statisticamente differenti secondo il Tukey's test per P<0,01.

<sup>z</sup> \*\*\*, \*\*, \* Significatività per 0,001, 0,01 e 0,05, rispettivamente.

**Tabella 7 – Risultati dell’analisi statistica multifattoriale dei valori del modulo di accumulo (G’) a 1 Hz di frequenza degli impasti analizzati**

Fonte di Variazione	Livello	Modulo di accumulo G’ (KPa)	Angolo di fase $\delta$ (°)
Gluten (G)			
	0 <sup>x</sup>	6275a <sup>y</sup>	23,31a
	1	9889b	23,68b
Lievito (L)			
	0	8839b	22,80a
	1	7776a	24,19b
Impasto acido (IA)			
	0	9495b	22,67a
	10	8084a	23,76b
	15	8209a	23,57b
	20	7439a	23,98b
Fattori	GL		
G	1	8,01X10 <sup>7</sup> *** <sup>z</sup>	1,06**
L	1	9,03X10 <sup>6</sup> ***	15,35***
IA	3	5,93X10 <sup>6</sup> ***	2,63***
G X L	1	1,19X10 <sup>6</sup> NS	0,79*
G X IA	3	7,49X10 <sup>5</sup> NS	0,23 NS
L X IA	3	1,99X10 <sup>6</sup> *	2,64***
Errore	19	3,94X10 <sup>5</sup>	0,104

<sup>x</sup> Il numero 0 indica assenza della fonte di variazione, il numero 1 indica presenza del glutine e del lievito industriale, i valori 10, 15 e 20 indicano la presenza di impasto madre al 10, 15 e 20%.

<sup>y</sup> A lettere diverse per colonna e fonte di variazione corrispondono medie statisticamente differenti secondo il Tukey's test per P<0,01.

<sup>z</sup> \*\*\*, \*\*, \* Significatività per 0,001, 0,01 e 0,05, rispettivamente.

**Tabella 8 – Risultati dell’analisi statistica multifattoriale sui dati del pH e dell’acidità titolabile totale (ATT)**

Fonte di variazione	Livello	pH	ATT (ml NaOH 0,1N)
Glutine (G)	0 <sup>x</sup>	5,70a <sup>y</sup>	3,73a
	1	5,71b	3,77a
Lievito (L)	0	5,75b	3,71a
	1	5,67a	3,79b
Impasto Madre (I)	0	6,11d	2,91a
	10	5,75c	3,64b
	15	5,60b	4,05c
	20	5,40a	4,41d
Sommaro ANOVA			
Fattore	Gradi di libertà	Mean squares	
Glutine (G)	1	0,007*** <sup>z</sup>	0,011*
Lievito (L)	1	0,049***	0,052***
Impasto Madre (I)	3	0,729***	3,339***
G X L	1	0,001 NS	0,001 NS
G X I	3	0,005***	0,004 NS
L X I	3	0,003**	0,004 NS
Errore	19	0,001	0,002

<sup>x</sup> Il numero 0 indica assenza della fonte di variazione, il numero 1 indica presenza del glutine e del lievito industriale, i valori 10, 15 e 20 indicano la presenza di impasto madre al 10, 15 e 20%.

<sup>y</sup> A lettere diverse per colonna e fonte di variazione corrispondono medie statisticamente differenti secondo il Tukey’s test per  $P < 0,01$ .

<sup>z</sup> \*\*\*, \*\*, \* Significatività per 0,001, 0,01 e 0,05, rispettivamente.

**Tabella 9 – Risultati dell’analisi statistica multifattoriale sui principali parametri dei profili di viscosità ricavabili dal RVA**

Fonte di variazione	Livello	Peak viscosity (cPa)	Setback (cPa)	Visc at 95° (cPa)	Pasting Temp (°C)
Gluten (G)					
	0 <sup>x</sup>	2284b <sup>y</sup>	725a	146a	85,52a
	1	2096a	730a	150a	82,11a
Lievito (L)					
	0	2284b	736a	148a	82,6a
	1	2097a	720a	148a	85,03a
Impasto acido (IA)					
	0	2232b	735b	168b	82,84a
	10	2142a	746b	144a	83,09a
	15	2176a	746b	141a	83,54a
	20	2213ab	683a	139a	85,8a
Fattori	GL				
G	1	2,83X10 <sup>5***z</sup>	242 NS	149 NS	100*
L	1	2,78X10 <sup>5***</sup>	2048 NS	0,03 NS	47,4 NS
IA	3	1,28X10 <sup>4***</sup>	7256**	1489**	14,6 NS
G X L	1	1,03X10 <sup>4**</sup>	1250 NS	0,78 NS	44,7 NS
G X IA	3	1,17X10 <sup>4***</sup>	1,0310 <sup>4***</sup>	70 NS	21,5 NS
L X IA	3	1,48X10 <sup>4***</sup>	962 NS	877*	22,8 NS
Errore	19	972	998	194	12,2

<sup>x</sup> Il numero 0 indica assenza della fonte di variazione, il numero 1 indica presenza del glutine e del lievito industriale, i valori 10, 15 e 20 indicano la presenza di impasto madre al 10, 15 e 20%.

<sup>y</sup> A lettere diverse per colonna e fonte di variazione corrispondono medie statisticamente differenti secondo il Tukey's test per P<0,01.

<sup>z</sup> \*\*\*, \*\*, \* Significatività per 0,001, 0,01 e 0,05, rispettivamente.

**Tabella 10 – Risultati dell’analisi statistica multifattoriale della TPA, del Stickiness e Kieffer test eseguiti sugli impasti**

Fonte di variazione	Liv.	TPA Pane					Volume Specifico
		Hardness (g)	Springiness	Cohesiveness	Resilience	Chewiness	(mL/g)
Glutine (G)							
	0 <sup>x</sup>	1196b <sup>y</sup>	0,973a	0,829a	0,452b	789a	3,34a
	1	1045a	0,957a	0,828a	0,441a	628a	3,52b
Lievito (L)							
	0	1816b	0,943a	0,788a	0,401a	1054b	3,13a
	1	426a	0,986b	0,869b	0,493b	363a	3,73b
Impasto acido (IA)							
	0	3093b	0,921a	0,730a	0,325a	1667b	2,57a
	10	511ba	0,978b	0,873b	0,503c	434a	3,42b
	15	446a	0,981b	0,860b	0,488c	377a	3,80c
	20	435a	0,978b	0,852b	0,472b	357a	3,93c
Fattori	GL	Mean squares					
G	1	1,8X10 <sup>5***z</sup>	0,002 NS	2,2X10 <sup>-5</sup> NS	1,0X10 <sup>-3***</sup>	2X10 <sup>5</sup> NS	0,27***
L	1	1,5X10 <sup>7***</sup>	0,015**	0,053***	0,067***	3,1X10 <sup>6***</sup>	2,916***
IA	3	1,4X10 <sup>7***</sup>	0,007**	0,035***	0,054***	3,2X10 <sup>6***</sup>	3,015***
G X L	1	1,4X10 <sup>7***</sup>	0,001 NS	3,78X10 <sup>-6</sup> NS	1,13X10 <sup>-5</sup> NS	7,2X10 <sup>4</sup> NS	0,028 NS
G X IA	3	3,6X10 <sup>4</sup> NS	0,002 NS	9,91X10 <sup>-4</sup> NS	9,1X10 <sup>-4***</sup>	5,7X10 <sup>4</sup> NS	0,027 NS
L X IA	3	2,5X10 <sup>4</sup> NS	0,006*	0,0278***	0,0499***	3,2X10 <sup>6***</sup>	3,001***
Errore	19	1,4X10 <sup>4</sup>	0,0013	6,01X10 <sup>-4</sup>	4,99X10 <sup>-5</sup>	6,3X10 <sup>4</sup>	0,0177

<sup>x</sup> Il numero 0 indica assenza della fonte di variazione, il numero 1 indica presenza del glutine e del lievito industriale, i valori 10, 15 e 20 indicano la presenza di impasto madre al 10, 15 e 20%.

<sup>y</sup> A lettere diverse per colonna e fonte di variazione corrispondono medie statisticamente differenti secondo il Tukey's test per P<0,01.

<sup>z</sup> \*\*\*, \*\*, \* Significatività per 0,001, 0,01 e 0,05, rispettivamente.

**Tabella 11 – Indici ottenuti tramite l'analisi d'immagine**

Fonte di variazione	Livello	Numero Alveoli	Grandezza media alveolare	% Frazione di vuoto
Gluten (G)	0 <sup>x</sup>	863a <sup>y</sup>	0,671b	25,73b
	1	948b	0,483a	19,32a
Lievito (L)	0	806a	0,437a	16,58a
	1	1045b	0,717b	28,48b
Impasto acido (IA)	0	510a	0,569ab	19,62a
	10	1010b	0,609b	23,85b
	15	999b	0,588ab	22,92b
	20	1103c	0,544a	23,73b
Fattori	GL		Mean square	
G	1	5,8X10 <sup>4***z</sup>	0,28***	329***
L	1	3,2X10 <sup>5***</sup>	0,62***	1132***
IA	3	5,7X10 <sup>5***</sup>	0,006**	31***
G X L	1	8,3X10 <sup>4***</sup>	0,28***	230***
G X IA	3	3,7X10 <sup>4***</sup>	0,21*	155***
L X IA	3	4X10 <sup>5***</sup>	0,40***	638**
Errore	19	2230	0,001	0,993

<sup>x</sup> Il numero 0 indica assenza della fonte di variazione, il numero 1 indica presenza del glutine e del lievito industriale, i valori 10, 15 e 20 indicano la presenza di impasto madre al 10, 15 e 20%.

<sup>y</sup> A lettere diverse per colonna e fonte di variazione corrispondono medie statisticamente differenti secondo il Tukey's test per P<0,01.

<sup>z</sup> \*\*\*, \*\*, \* Significatività per 0,001, 0,01 e 0,05, rispettivamente.

**Tabella 12 – Dati dell’analisi colorimetrica sulla crosta e sulla mollica**

Fonte di variazione	Liv.	Colore Crosta			Colore Mollica		
		L	a	b	L	a	b
Gluten (G)							
	0 <sup>x</sup>	58,33a <sup>y</sup>	8,6a	23,56a	69,10a	-1,44a	20,05b
	1	56,26a	9,93a	24,02a	72,72b	-2,92a	18,70a
Lievito (L)							
	0	56,35a	9,00a	22,88a	69,59a	-2,72a	18,05a
	1	58,26a	9,52a	24,70b	72,23b	-1,64a	20,70b
Impasto acido (IA)							
	0	62,61b	6,90a	24,02a	69,26a	-2,78a	20,44b
	10	52,09a	11,47b	23,43a	71,56a	-2,73a	18,56a
	15	57,35ab	9,09ab	25,19b	72,04a	-3,09a	18,00a
	20	57,16ab	9,59b	22,51a	70,77a	-0,13b	20,49b
Fattori GL							
G	1	34 NS <sup>z</sup>	14,21 NS	1,67 NS	105***	17,51 NS	14,49**
L	1	29 NS	2,19 NS	26,59**	55,76**	9,30 NS	55,94***
IA	3	147**	28,23***	10,03*	11,83 NS	15,23**	13,14***
G X L	1	86 NS	9,31 NS	0,85 NS	8,20 NS	21,66*	23,38***
G X IA	3	222***	21,38**	2,18 NS	48,92***	17,52**	2,42 NS
L X IA	3	242***	55,43***	16,02**	63,73***	18,19**	7,54**
Errore	19	22,78	2,91	2,89	3,95	3,009	1,05

<sup>x</sup> Il numero 0 indica assenza della fonte di variazione, il numero 1 indica presenza del glutine e del lievito industriale, i valori 10, 15 e 20 indicano la presenza di impasto madre al 10, 15 e 20%.

<sup>y</sup> A lettere diverse per colonna e fonte di variazione corrispondono medie statisticamente differenti secondo il Tukey's test per P<0,01.

<sup>z</sup> \*\*\*, \*\*, \* Significatività per 0,001, 0,01 e 0,05, rispettivamente.

**Tabella 13 – Disegno sperimentale usato per l'analisi statistica multifattoriale**

	Fattori di variabilità				
	Lievito di birra	Impasto Acido 10%	Impasto Acido 15%	Impasto Acido 20%	Glutine Secco
CONT	0	0	0	0	0
CONTG	0	0	0	0	1
CONTL	1	0	0	0	0
CONTLG	1	0	0	0	1
SDL10	1	1	0	0	0
SDLG10	1	1	0	0	1
SDL15	1	0	1	0	0
SDLG15	1	0	1	0	1
SDL20	1	0	0	1	0
SDLG20	1	0	0	1	1
SD10	0	1	0	0	0
SDG10	0	1	0	0	1
SD15	0	0	1	0	0
SDG15	0	0	1	0	1
SD20	0	0	0	1	0
SDG20	0	0	0	1	1

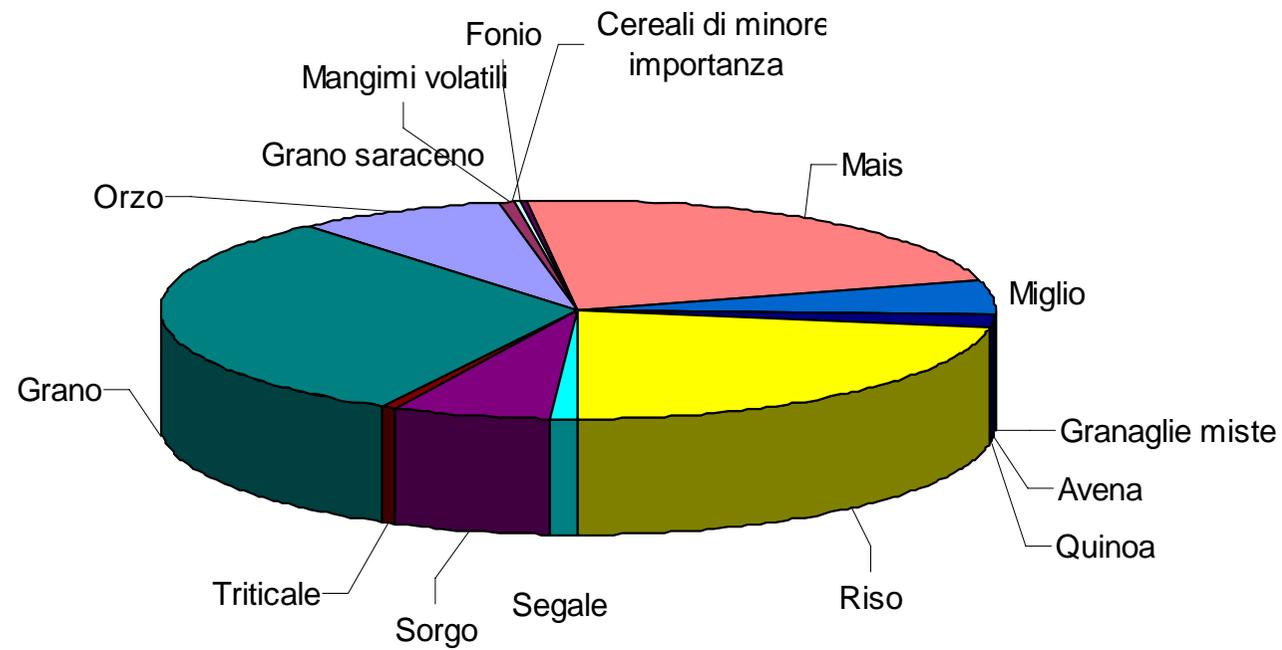
**Tabella 14 – Valori dei parametri dell'equazione di Avrami applicata ai dati del calorimetro a scansione differenziale**

Campioni	Parametri Avrami				
	$T_0$	$n$	$k$	$T_\infty$	$r^2$
CONTL	0,0009	0,9172	0,2859	1,7193	0,99
CONTLG	0,0009	0,9172	0,2859	1,7191	0,99
SDL10	0,0016	0,8601	0,2911	1,7946	0,98
SDLG10	0,0031	0,8528	0,2876	1,8105	0,99
SDL15	0,0021	0,5824	0,1216	4,2805	0,96
SDLG15	0,0021	0,6147	0,1814	3,0656	0,99
SDL20	0,0051	0,8980	0,2557	1,8626	0,99
SDLG20	0,0015	0,7402	0,2455	2,1479	0,99
SD10	0,0011	1,2464	0,2075	1,6409	0,96
SDG10	0,0222	1,2051	0,2414	1,5557	0,96
SD15	0,0148	1,1550	0,2404	1,5202	0,98
SDG15	0,0080	0,9158	0,2730	1,6091	0,97
SD20	0,0021	1,084	0,239	1,545	0,97
SDG20	0,0019	1,044	0,234	1,575	0,96

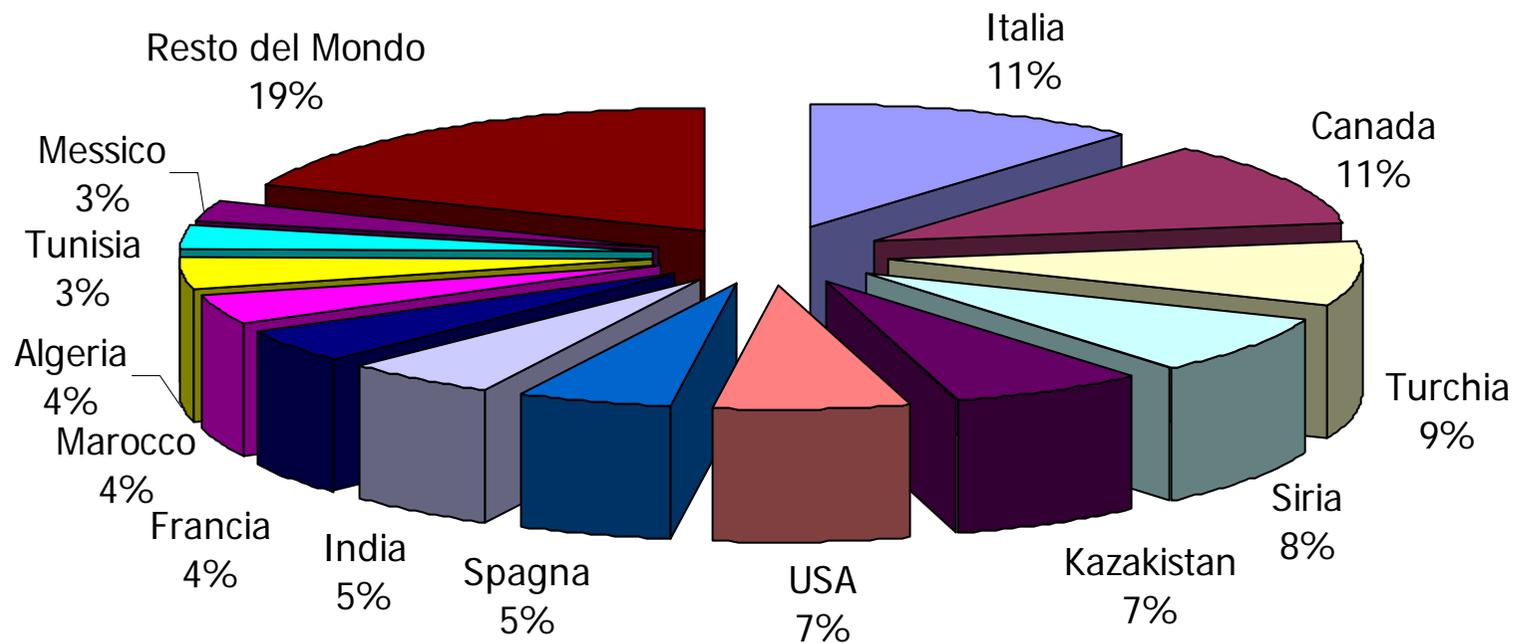
**Tabella 15 – Risultati dei parametri dell'equazione di Avrami applicata ai dati della Hardness della TPA del texturimetro**

	$T_0$	$n$	$k$	$T_\infty$	$r^2$
CONTL	504	0,804	0,585	1716	0,98
CONTLG	364	0,279	0,095	5927	0,96
SDL10	339	1,020	0,526	1448	0,97
SDLG10	520	1,290	0,487	1816	0,99
SDL15	513	0,232	0,124	5929	0,99
SDLG15	339	0,573	0,482	1745	0,92
SDL20	533	0,973	0,360	1605	0,99
SDLG20	318	0,740	0,2455	3587	0,95
SD10	678	2,066	0,347	2672	0,85
SDG10	488	0,755	0,253	2562	0,83
SD15	612	0,622	0,050	9413	0,95
SDG15	415	1,026	0,431	1808	0,98
SD20	459	0,872	0,441	1749	0,86
SDG20	397	1,138	0,395	1639	0,83

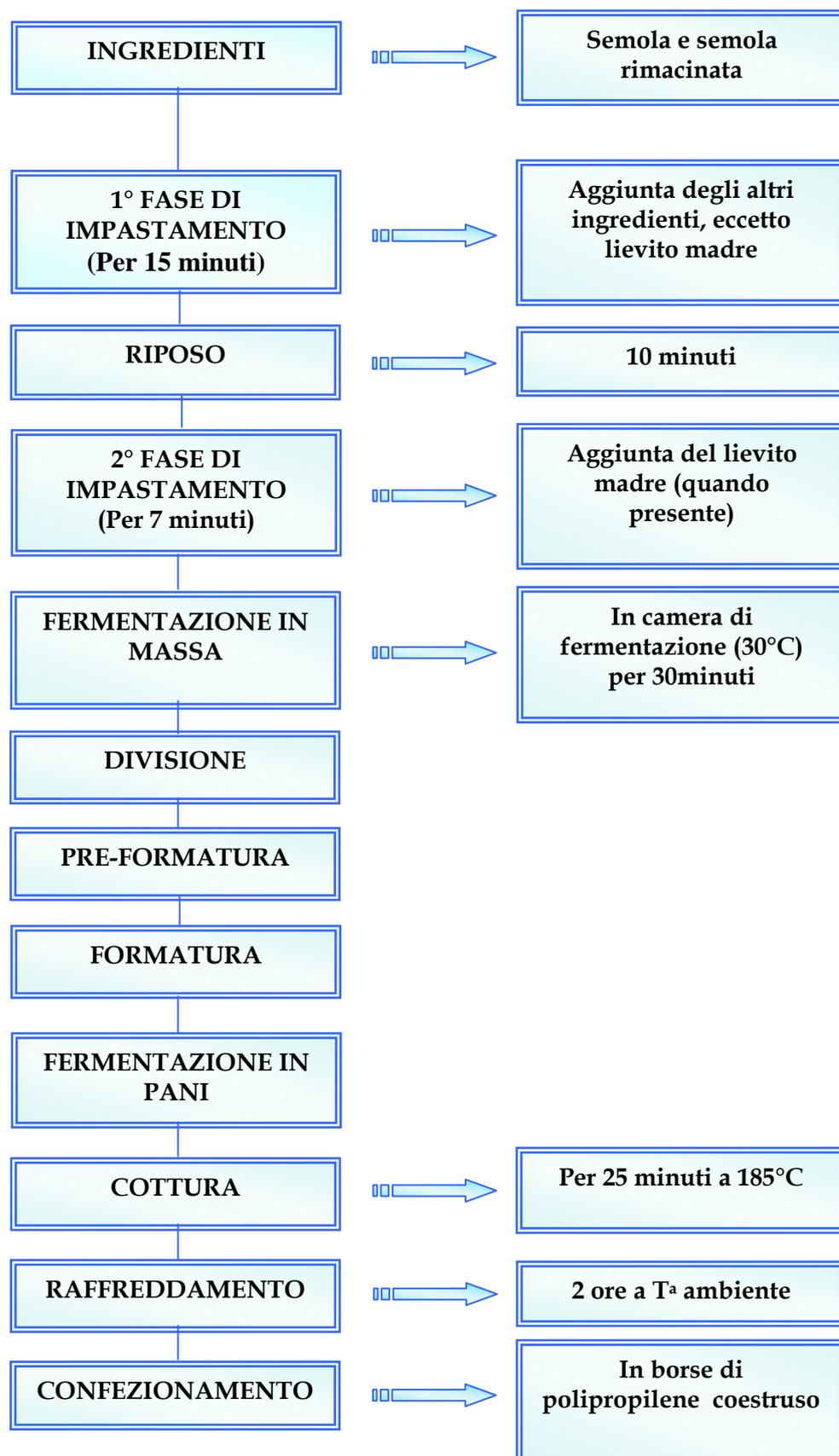
## **V. FIGURE**



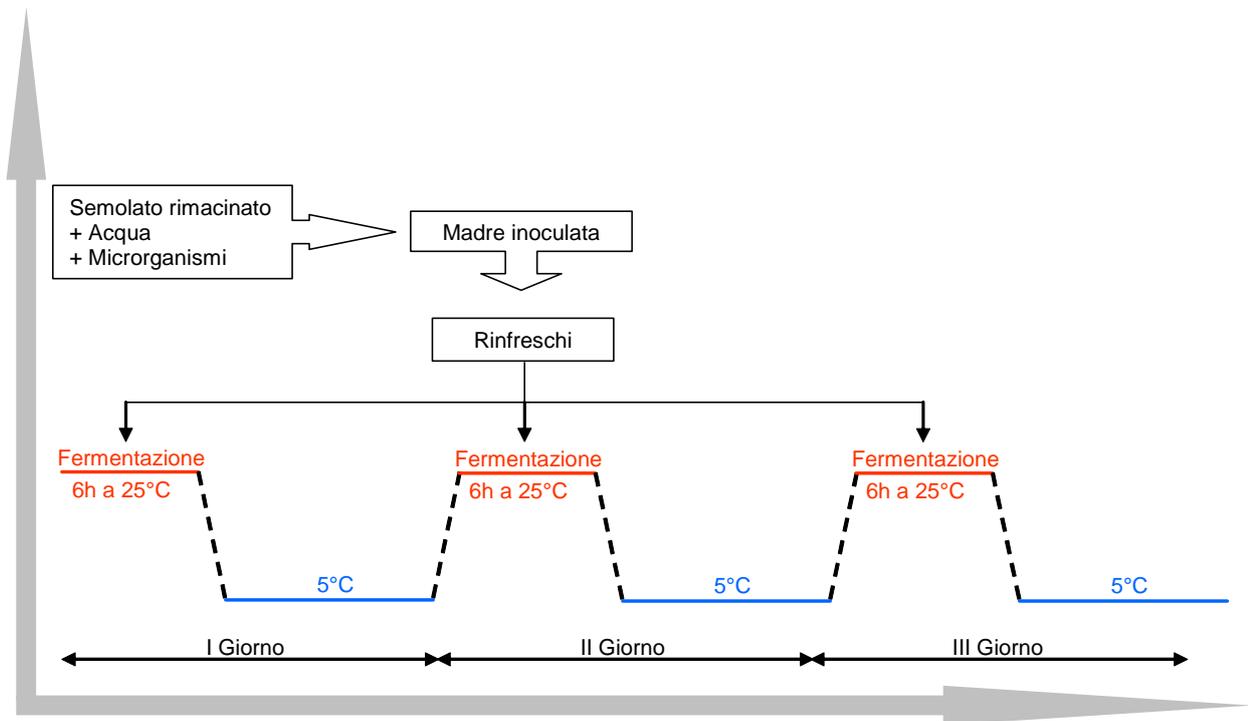
**Figura 1 – Distribuzione dei differenti cereali in funzione del numero di ettari coltivati in tutto il mondo  
(Fonte FAO, 2007)**



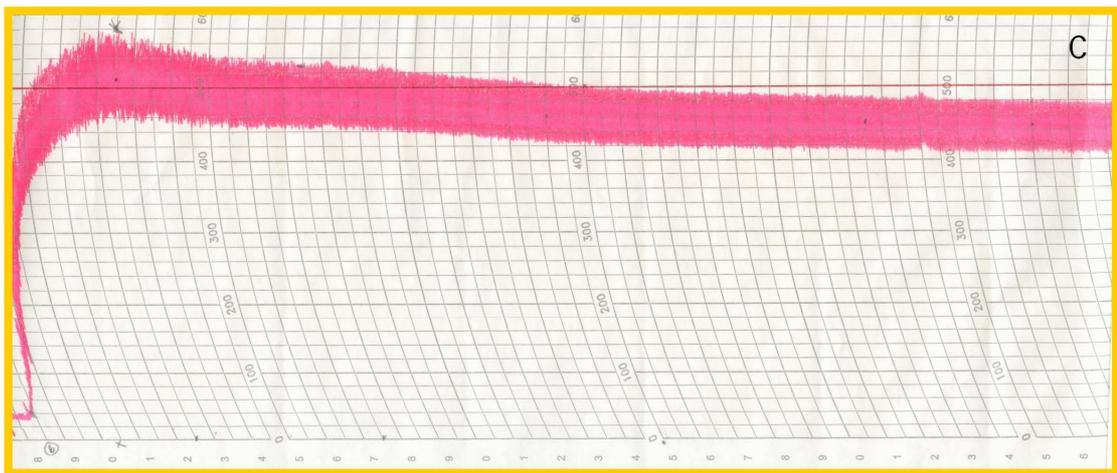
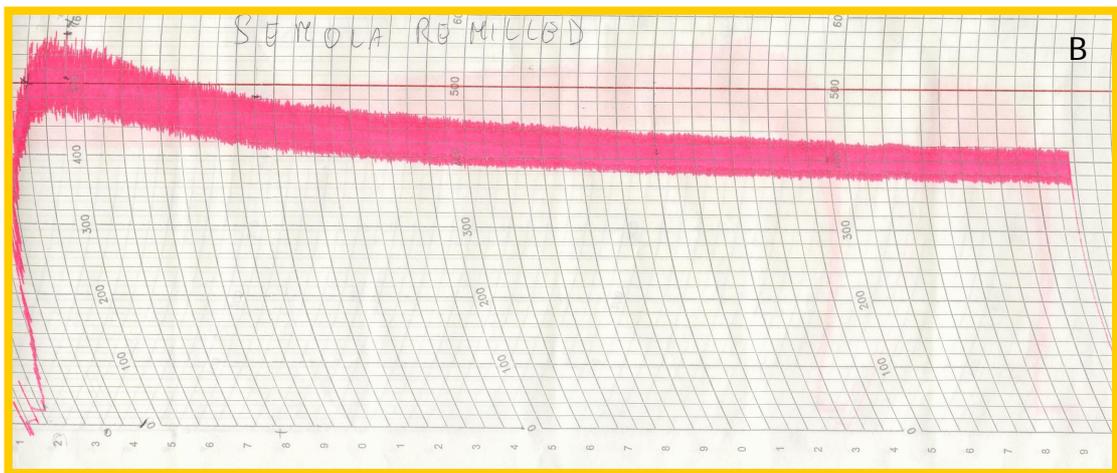
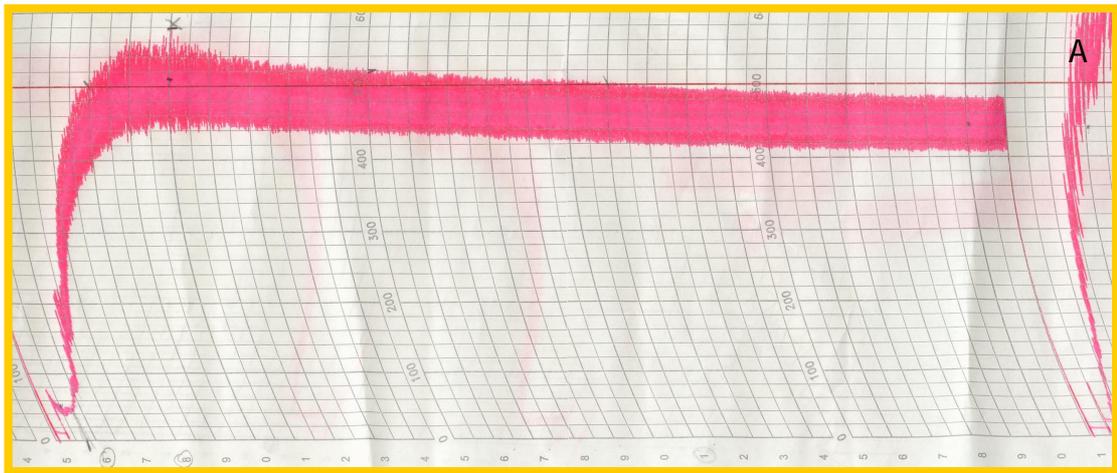
**Figura 2 – Produzione di frumento duro nel mondo nel quadriennio 2001-2004 espresso in percentuale (Fonte Igc)**



**Figura 3 - Diagramma di flusso per l'elaborazione del pane "Moddizzosu"**



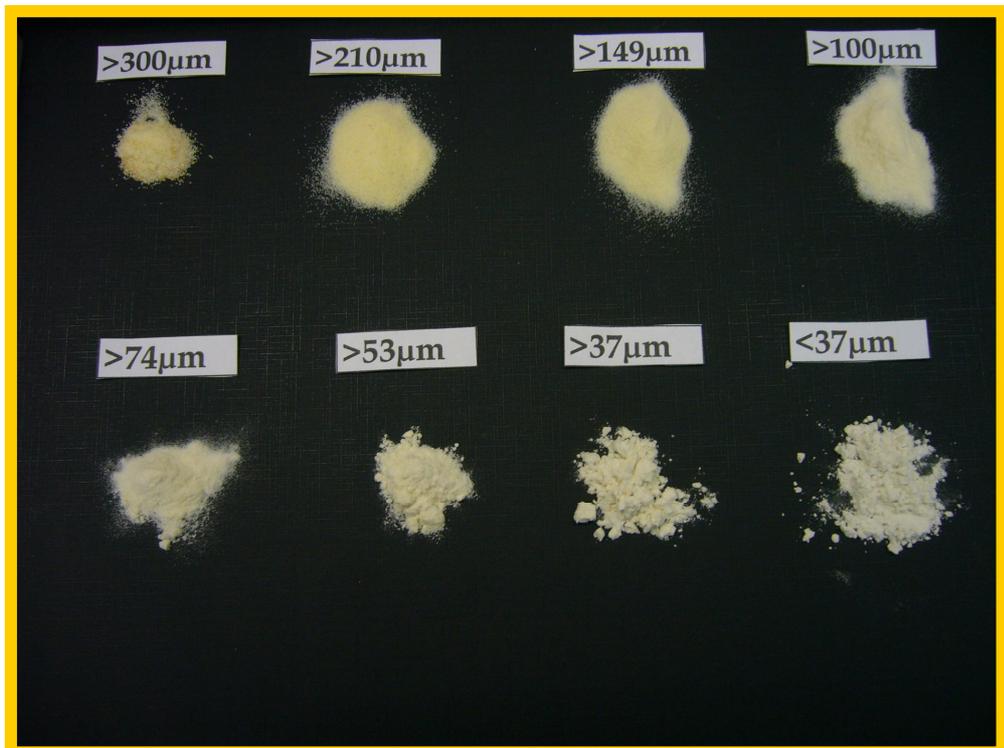
**Figura 4 - Diagramma di produzione della madre acida**



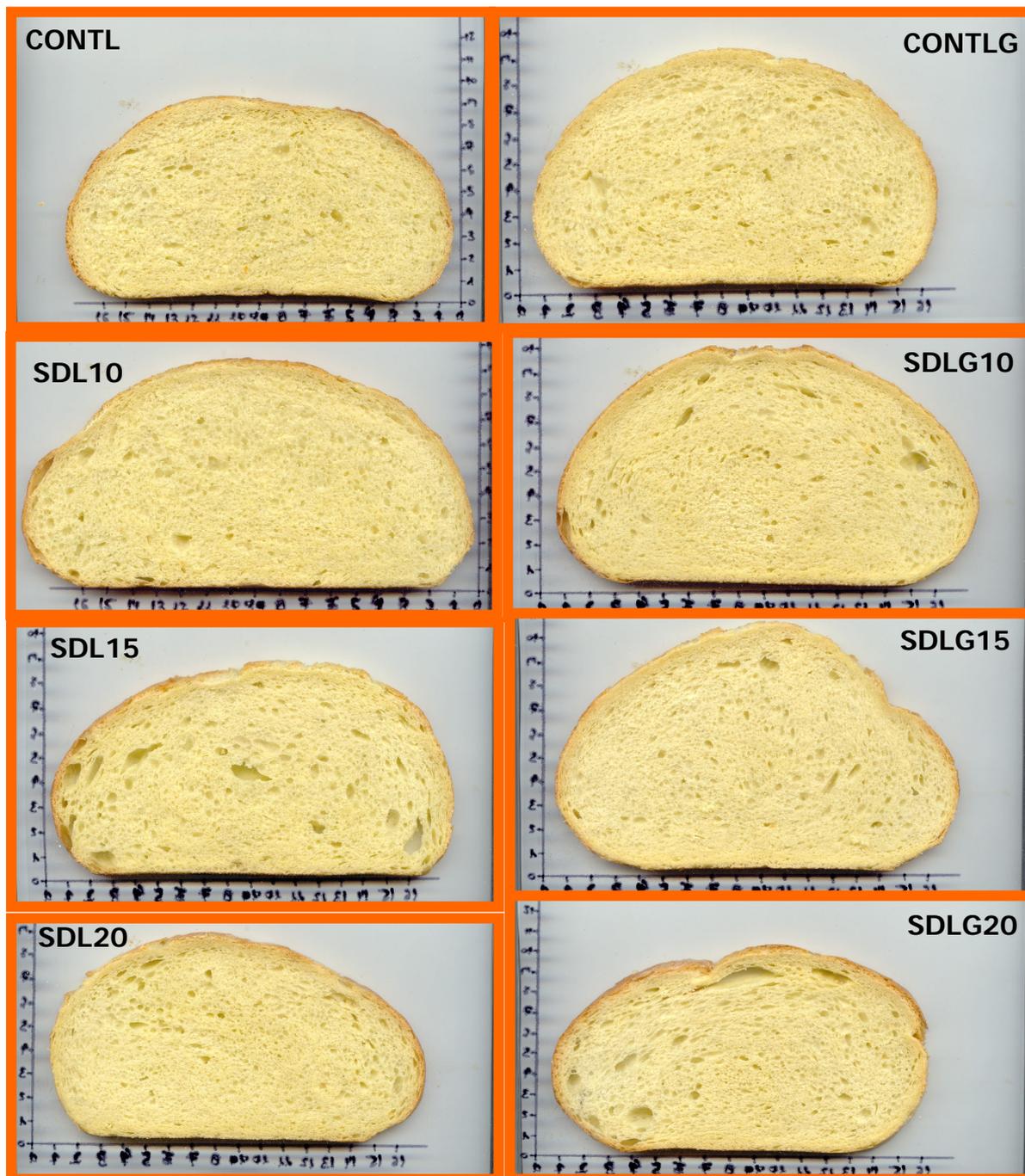
**Figura 5 – Farinogrammi della semola (A), della semola rimacinata (B) e della miscela delle due nelle proporzioni usate nella prova di panificazione (C)**



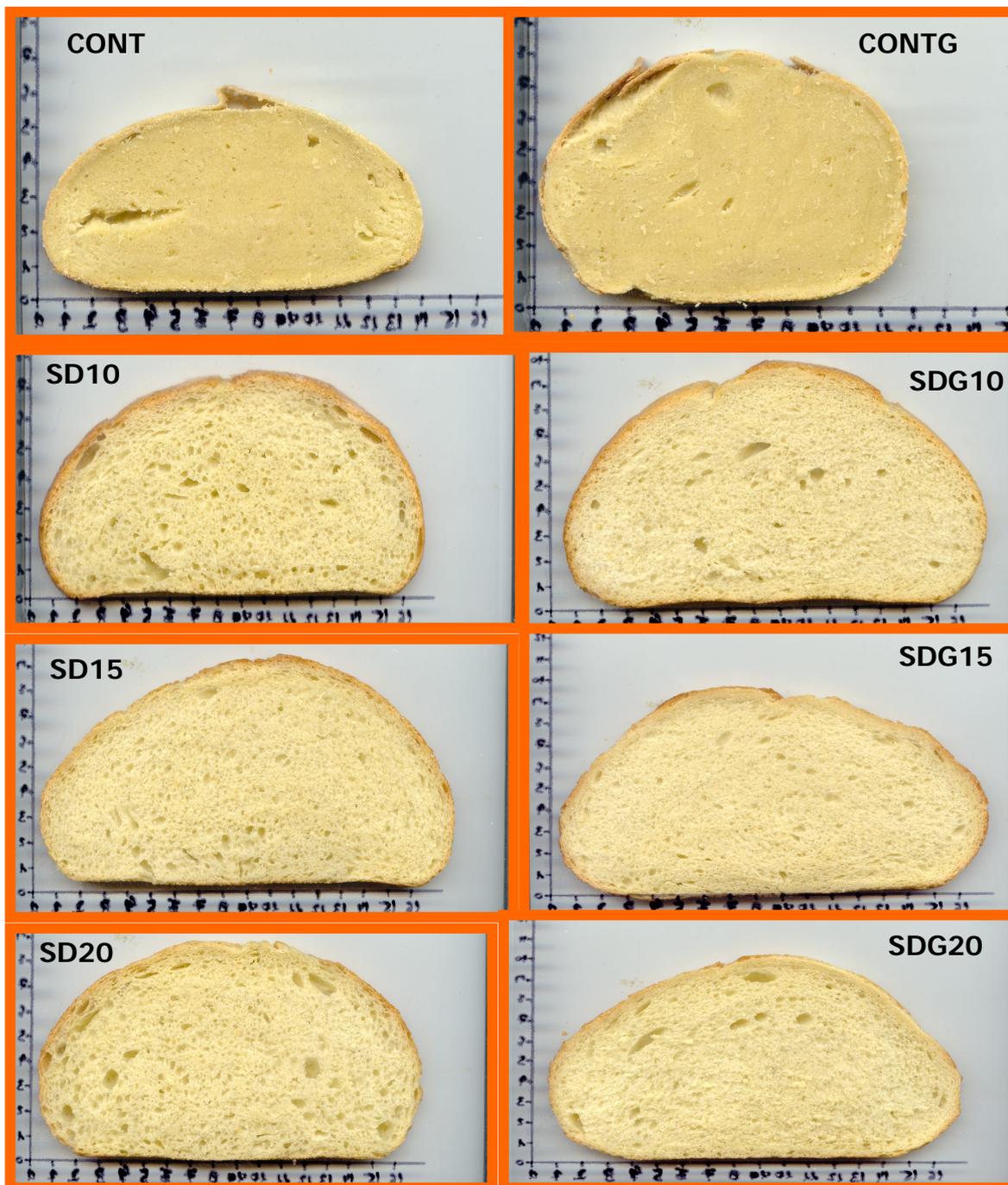
**Figura 6 – Frazioni della semola trattenute da differenti stacci**



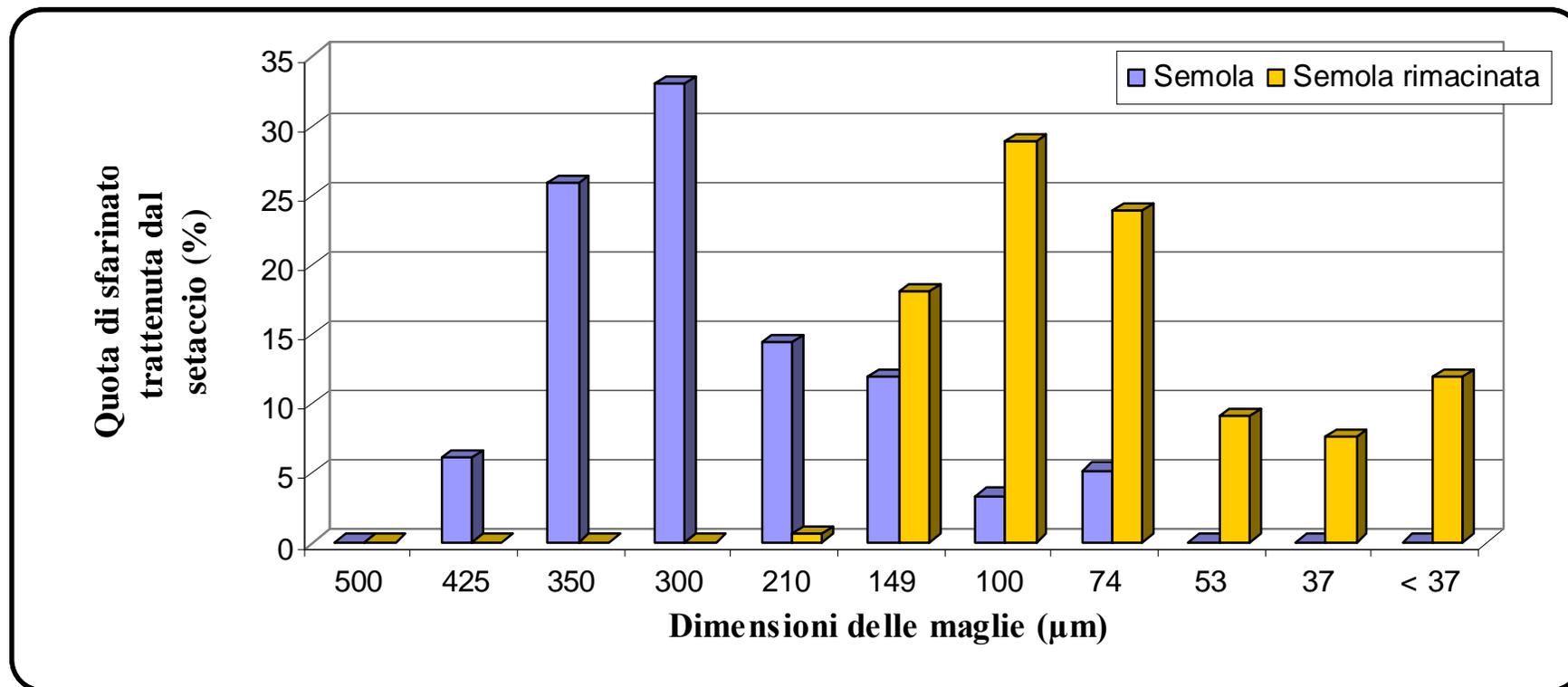
**Figura 7 – Frazioni della semola rimacinata trattenute da differenti stacci**



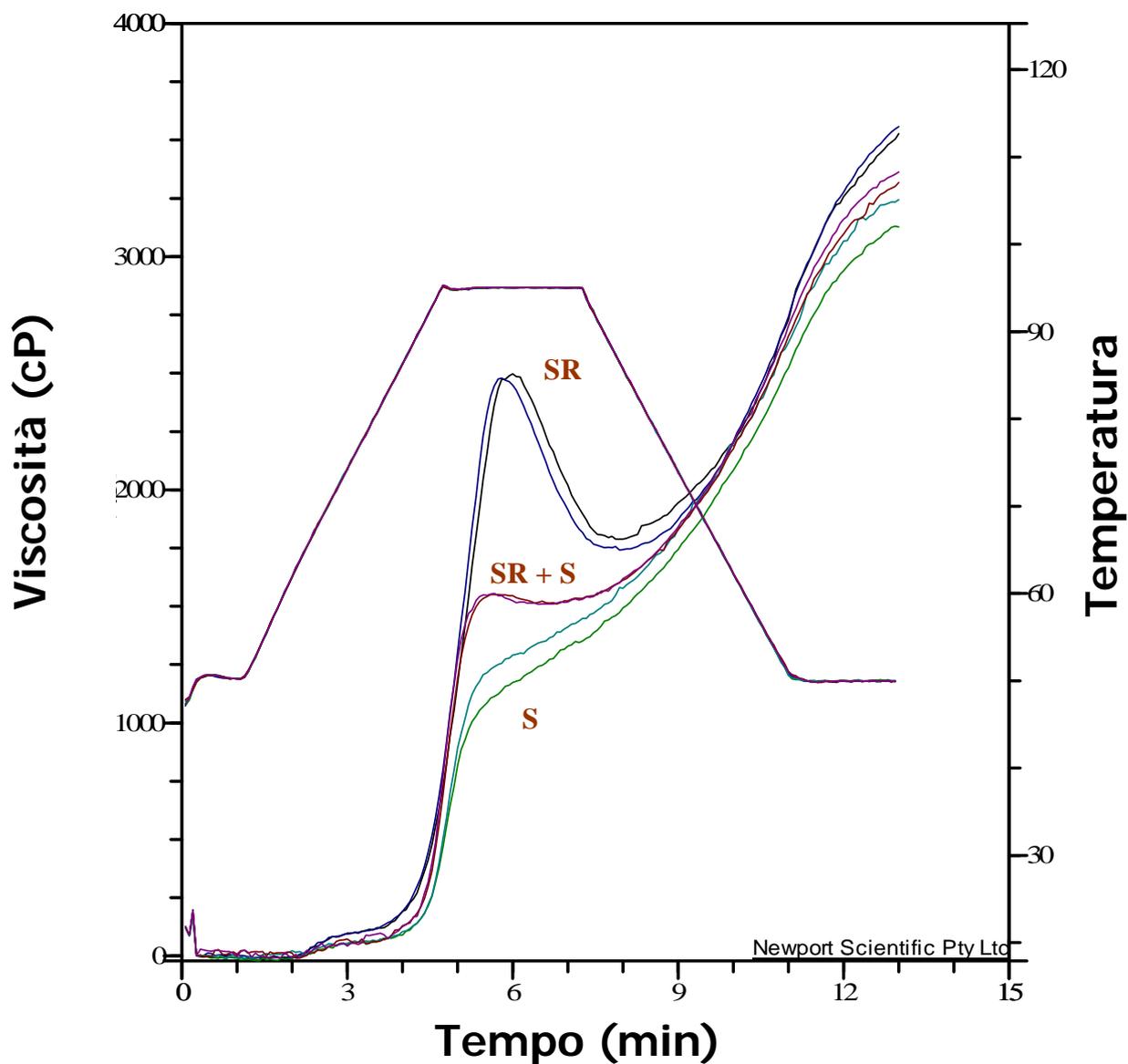
**Figura 8 – Immagini catturate con lo scanner per l’analisi con il software SigmaScan Pro 5.**



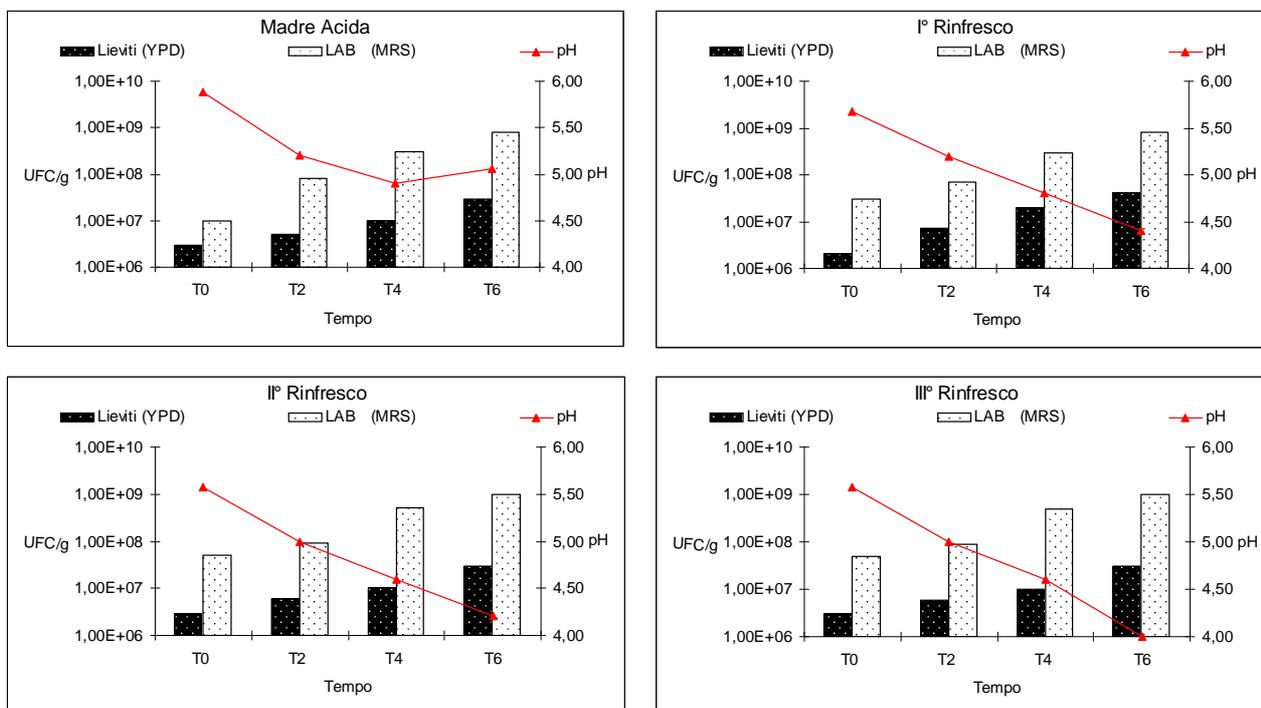
**Figura 9 – Immagini catturate con lo scanner per l'analisi con il software SigmaScan Pro 5.**



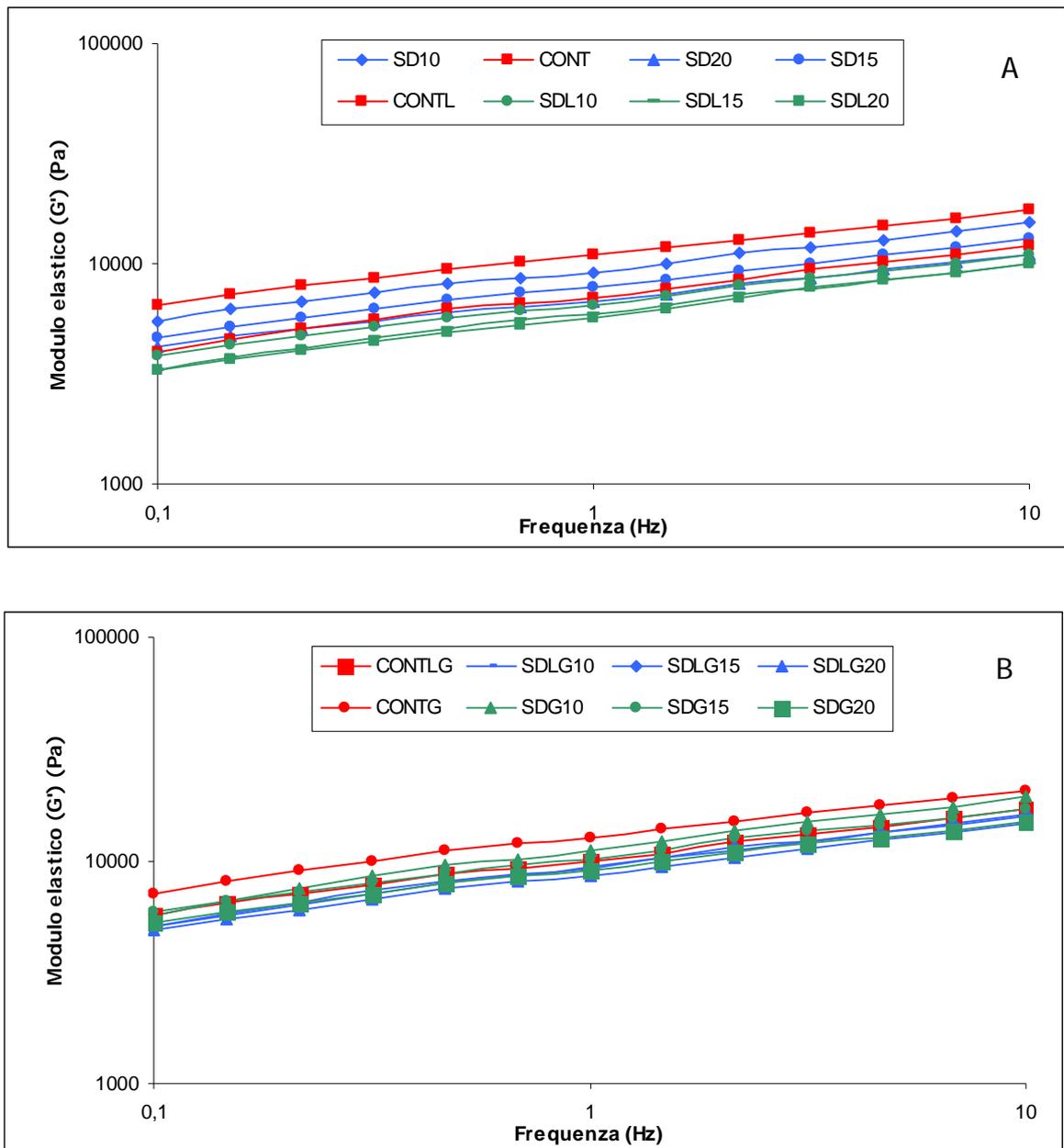
**Figura 10 – Risultati dell’analisi granulometrica delle semole utilizzate**



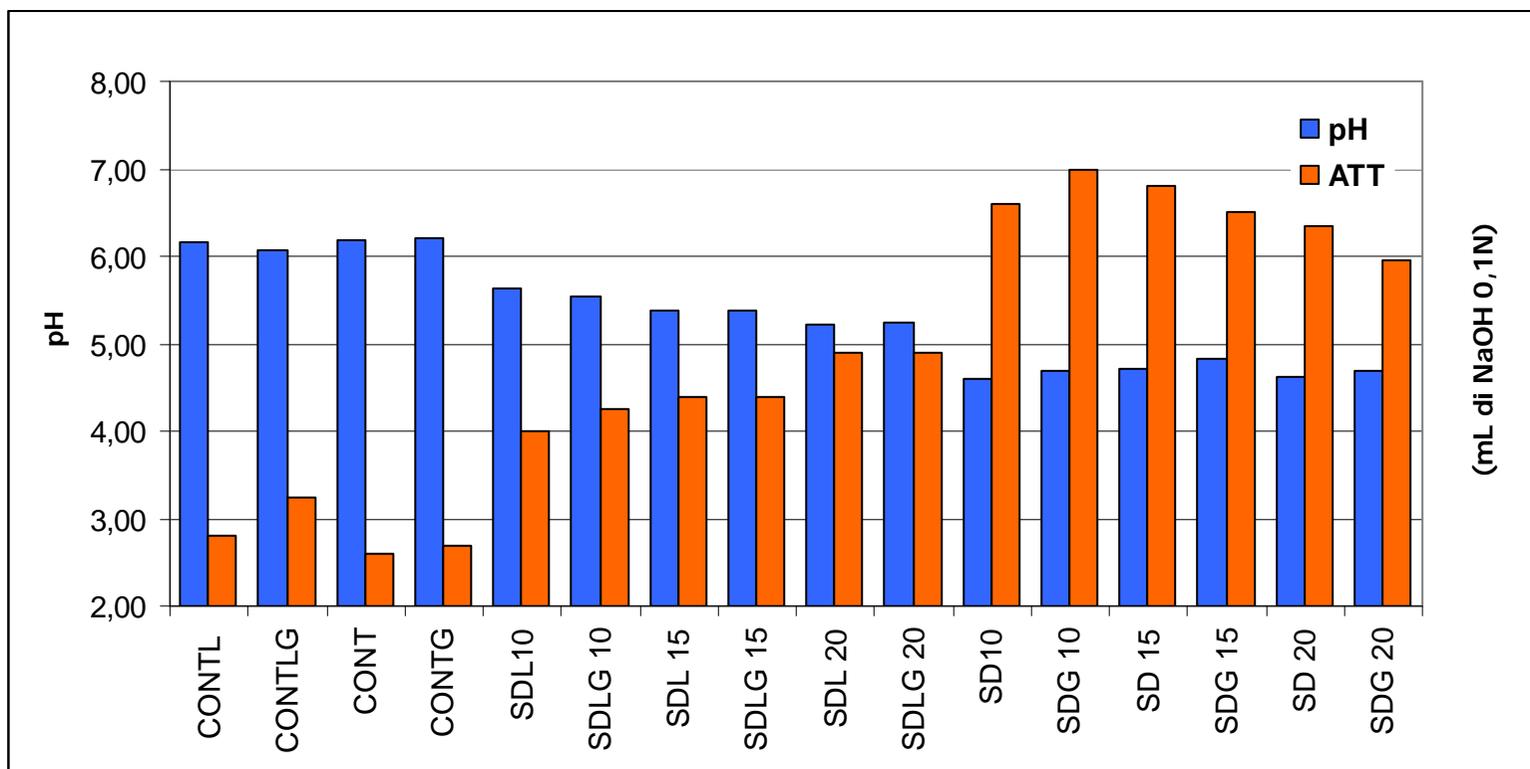
**Figura 11 – Profili di pasting del RVA sulla Semola (S), sulla Semola rimacinata (SR) e sulla miscela dei due (75%S+25%SR) (SR + S)**



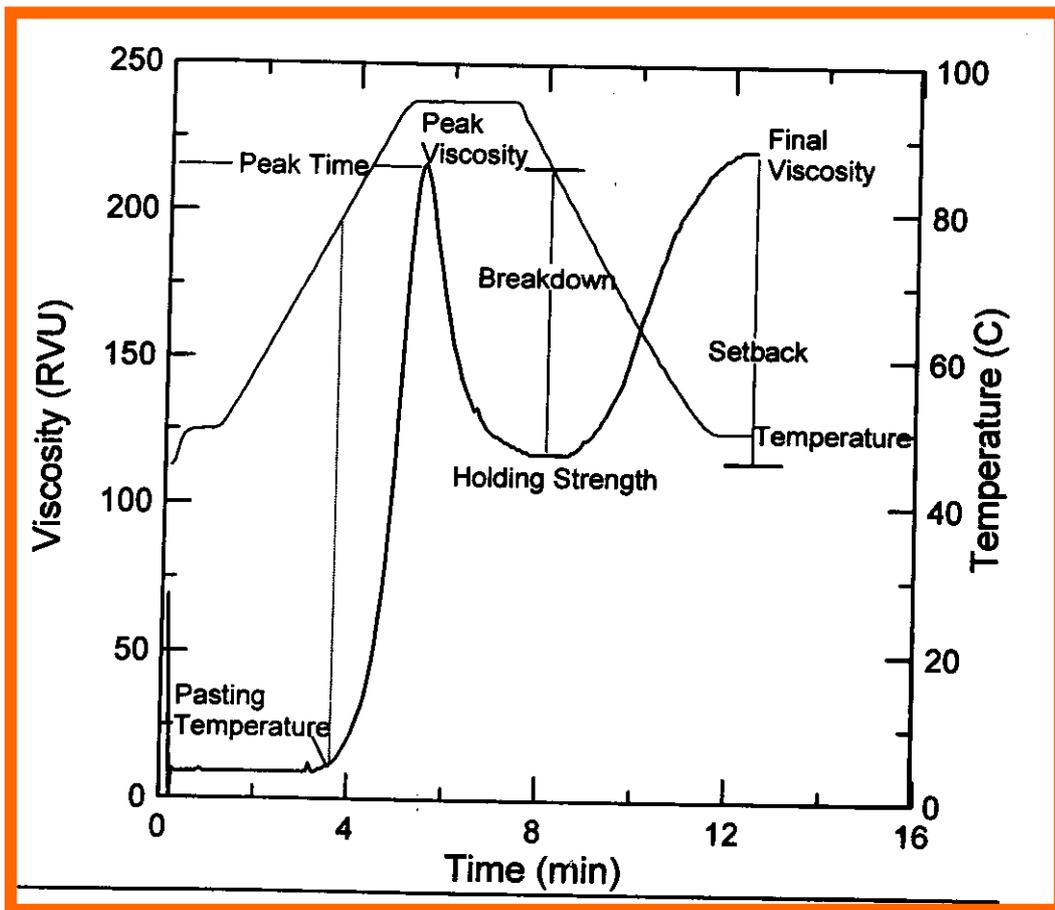
**Figura 12 – Andamento del pH e delle conte vitali della Madre Acida durante il processo di rinfresco**



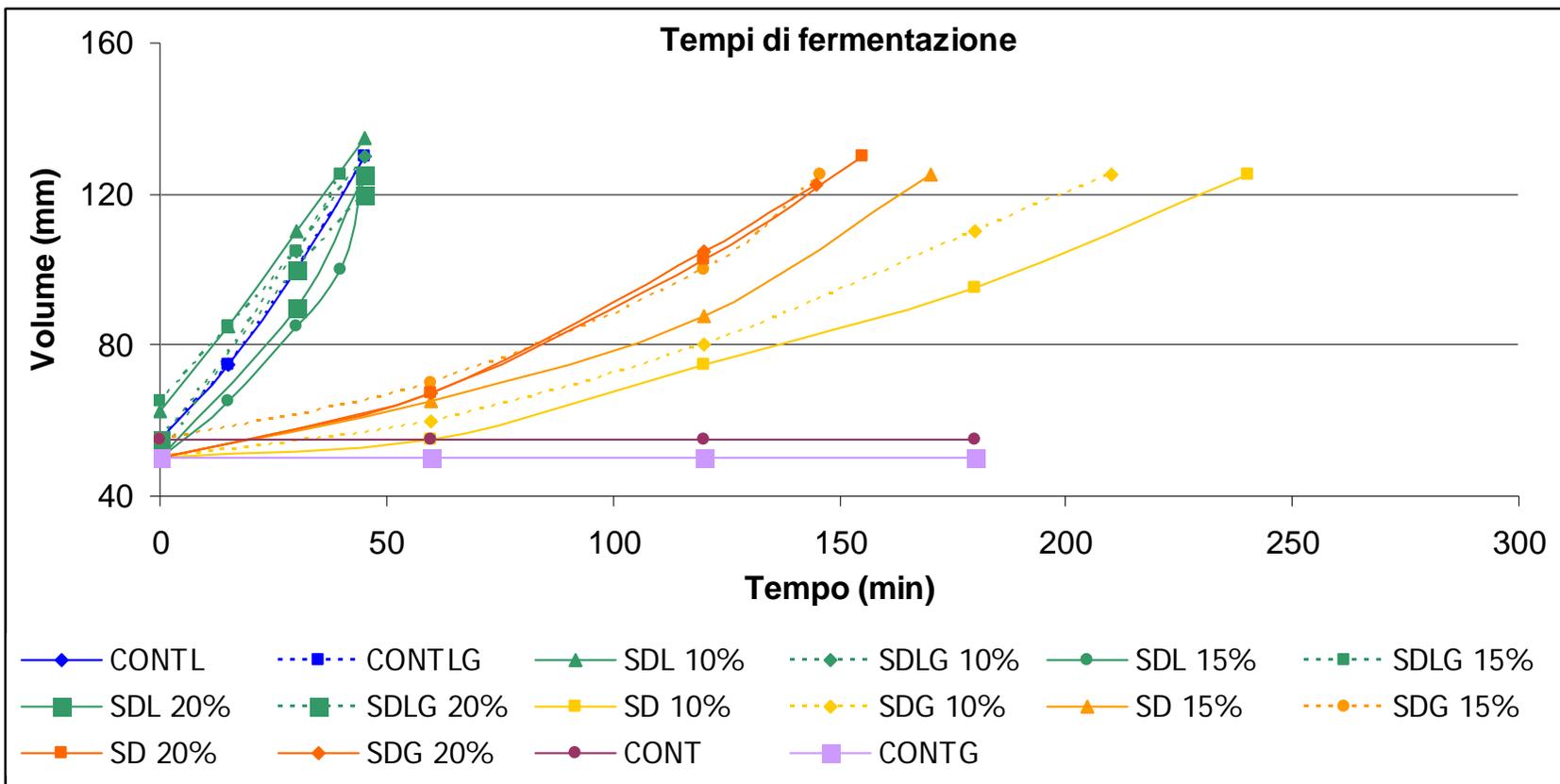
**Figura 13 – Rappresentazione grafica dei valori del modulo di accumulo (G') in funzione della frequenza per gli impasti analizzati senza (A) e con (B) glutine esogeno**



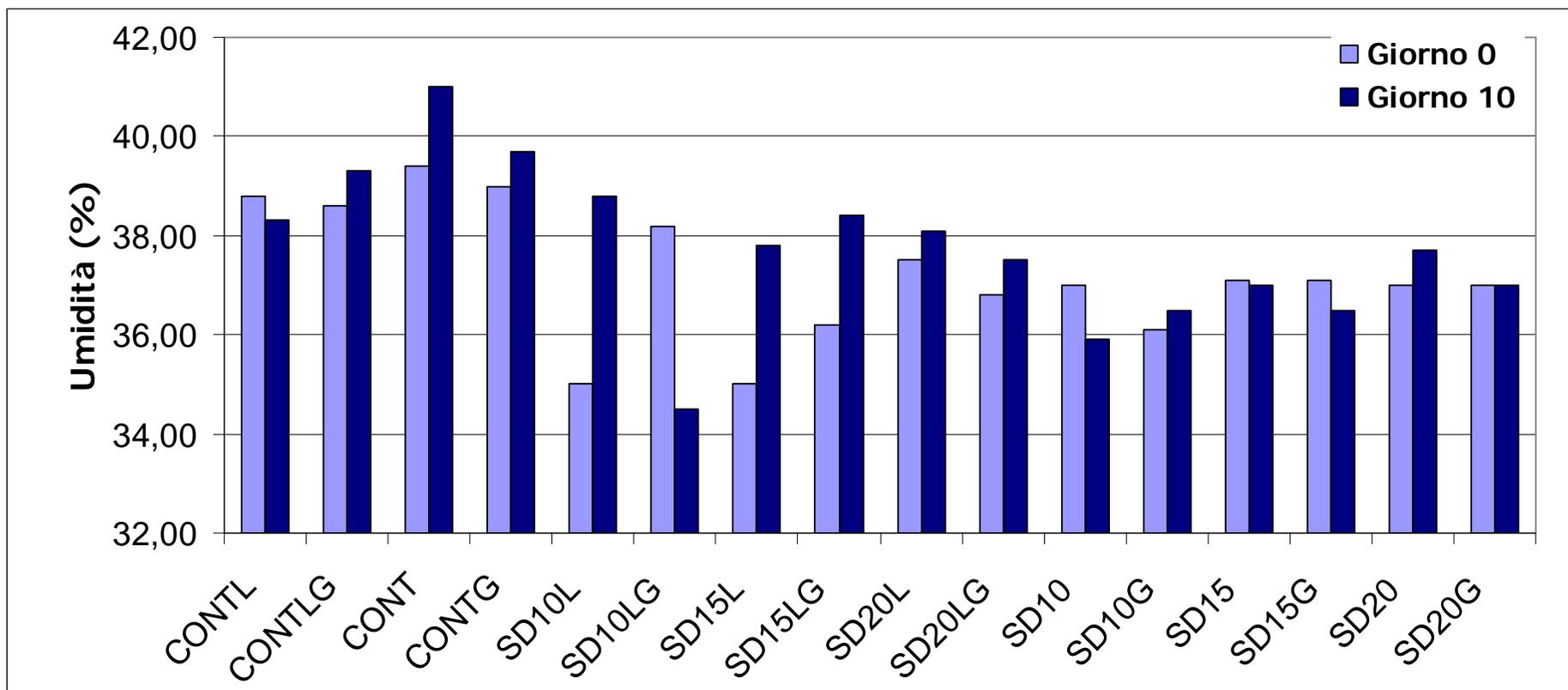
**Figura 14 – Valori del pH e dell’acidità totale titolabile (ATT) degli impasti dei 16 campioni**



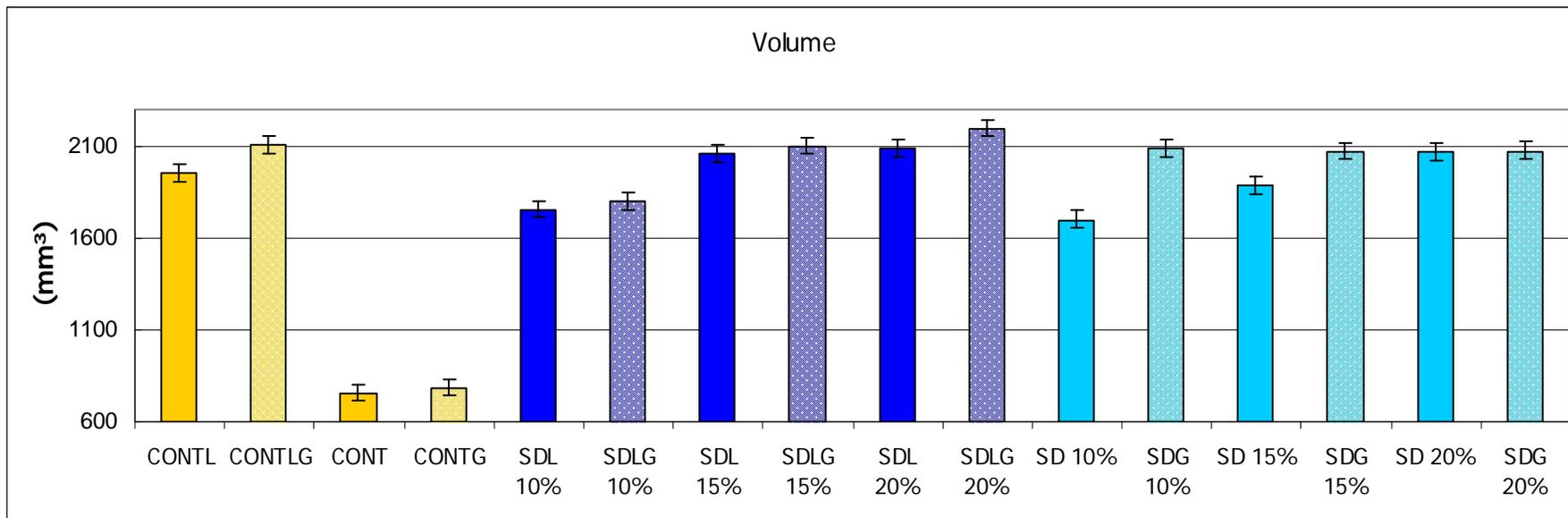
**Figura 15 – Profilo di pasting e di gelatinizzazione tipico del Rapid Visco Analyser RVA-4**



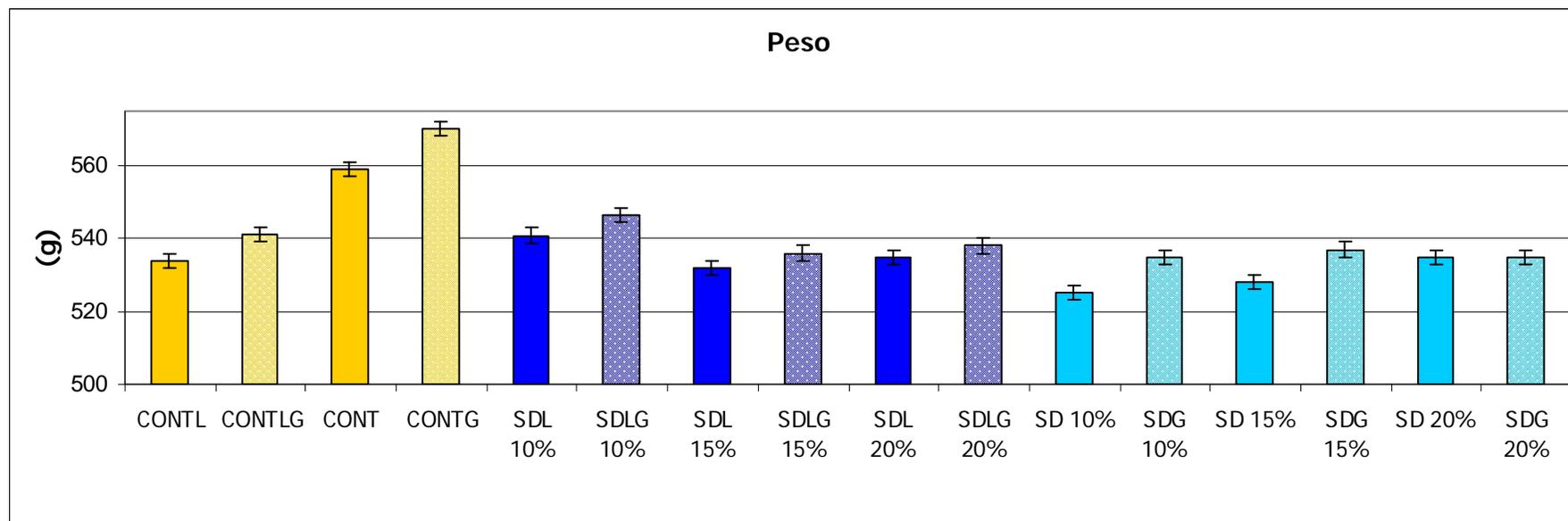
**Figura 16 – Rappresentazione grafica dell'aumento dei volumi degli impasti durante la fermentazione**



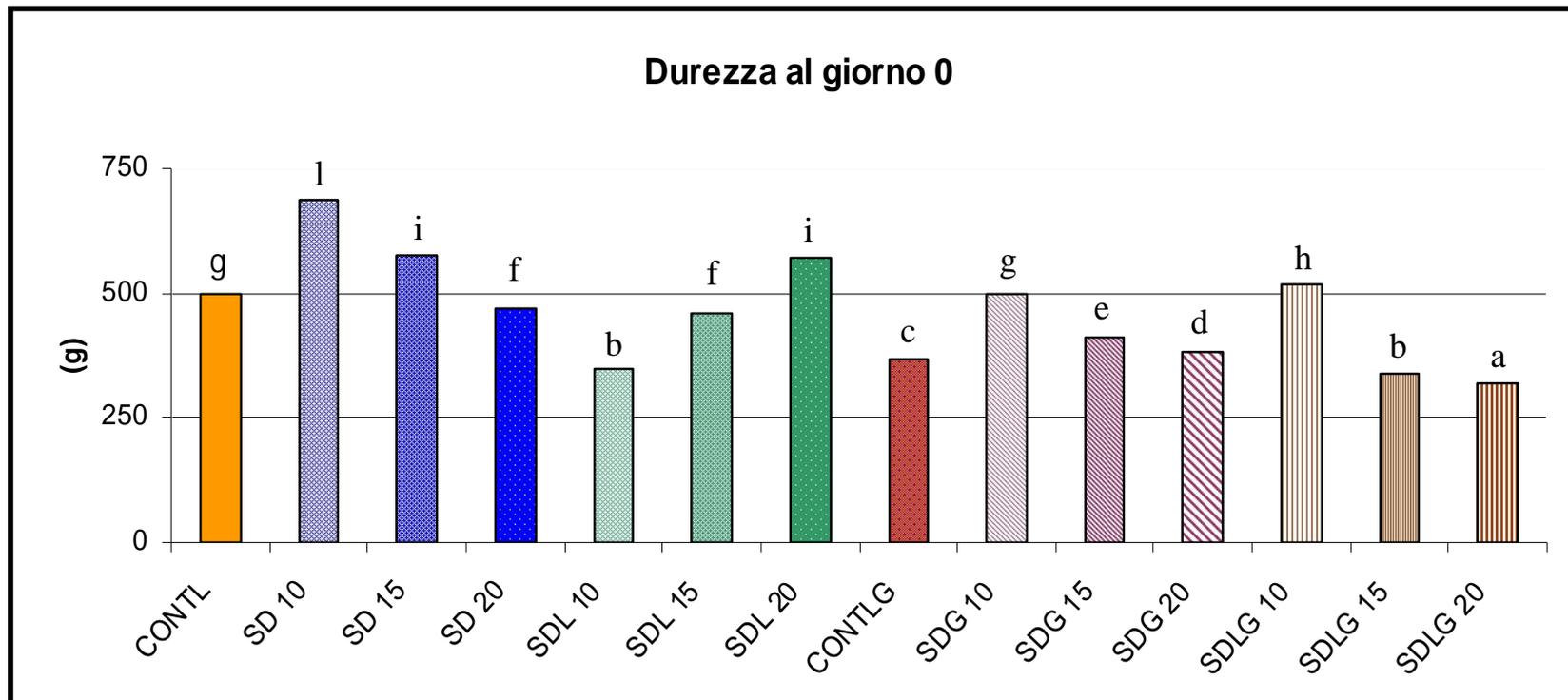
**Figura 17 – Risultati dell’Umidità dei prodotti finiti al giorno 0 e al 10° giorno di conservazione**



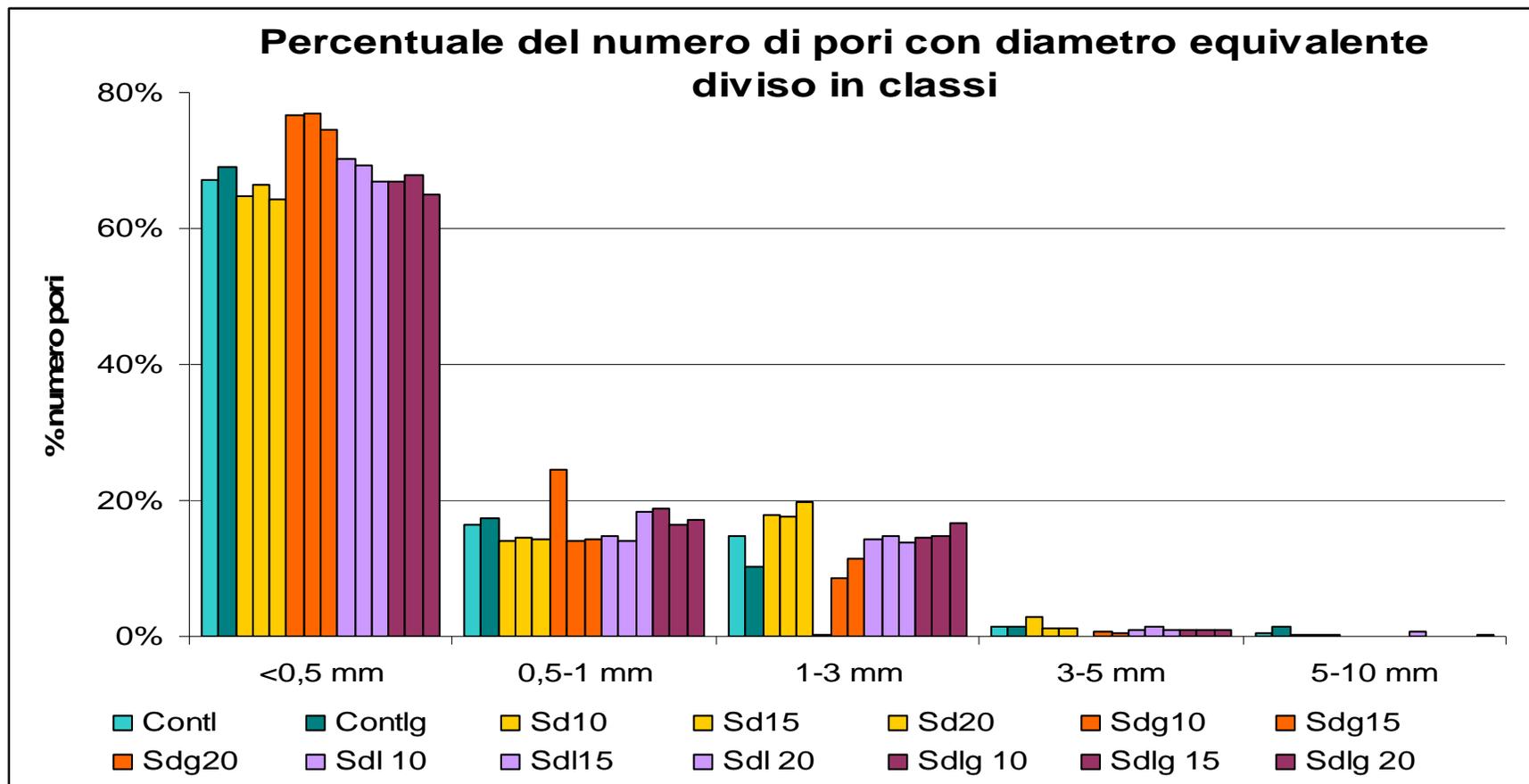
**Figura 18 – Volumi medi dei prodotti finiti misurati con il Volumetro Chopin**



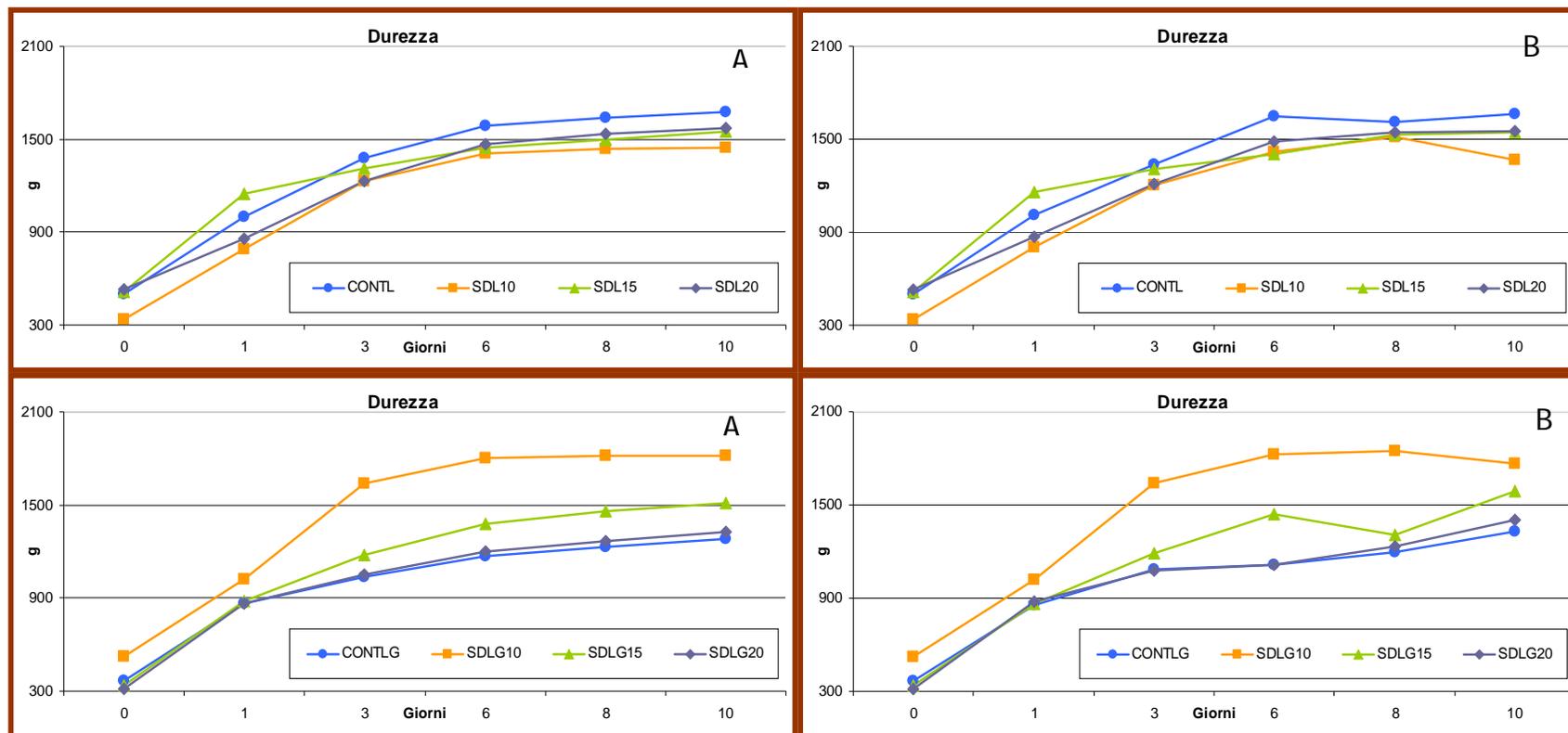
**Figura 19 – Peso medio dei prodotti finiti**



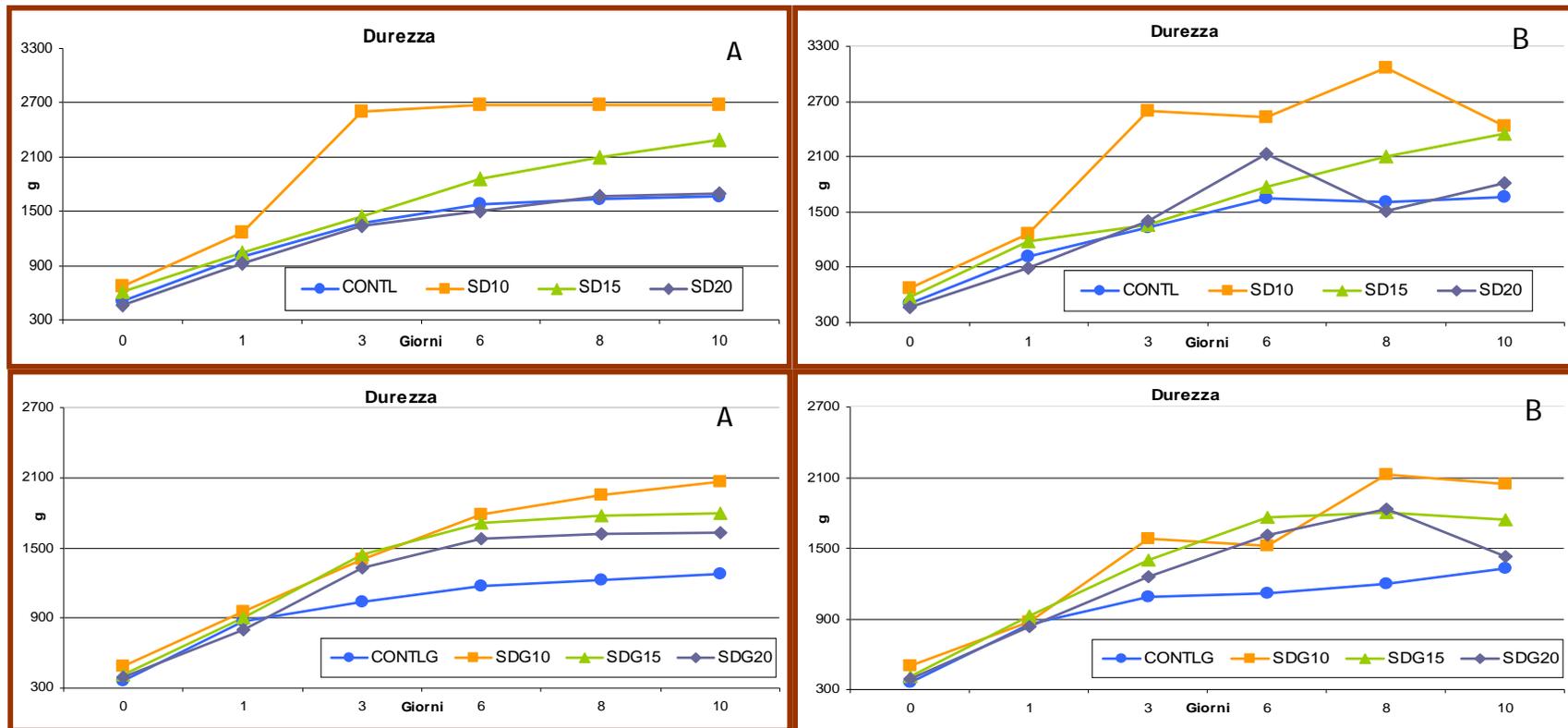
**Figura 20 – Rappresentazione grafica dei valori di durezza al giorno 0 misurata con la TPA**



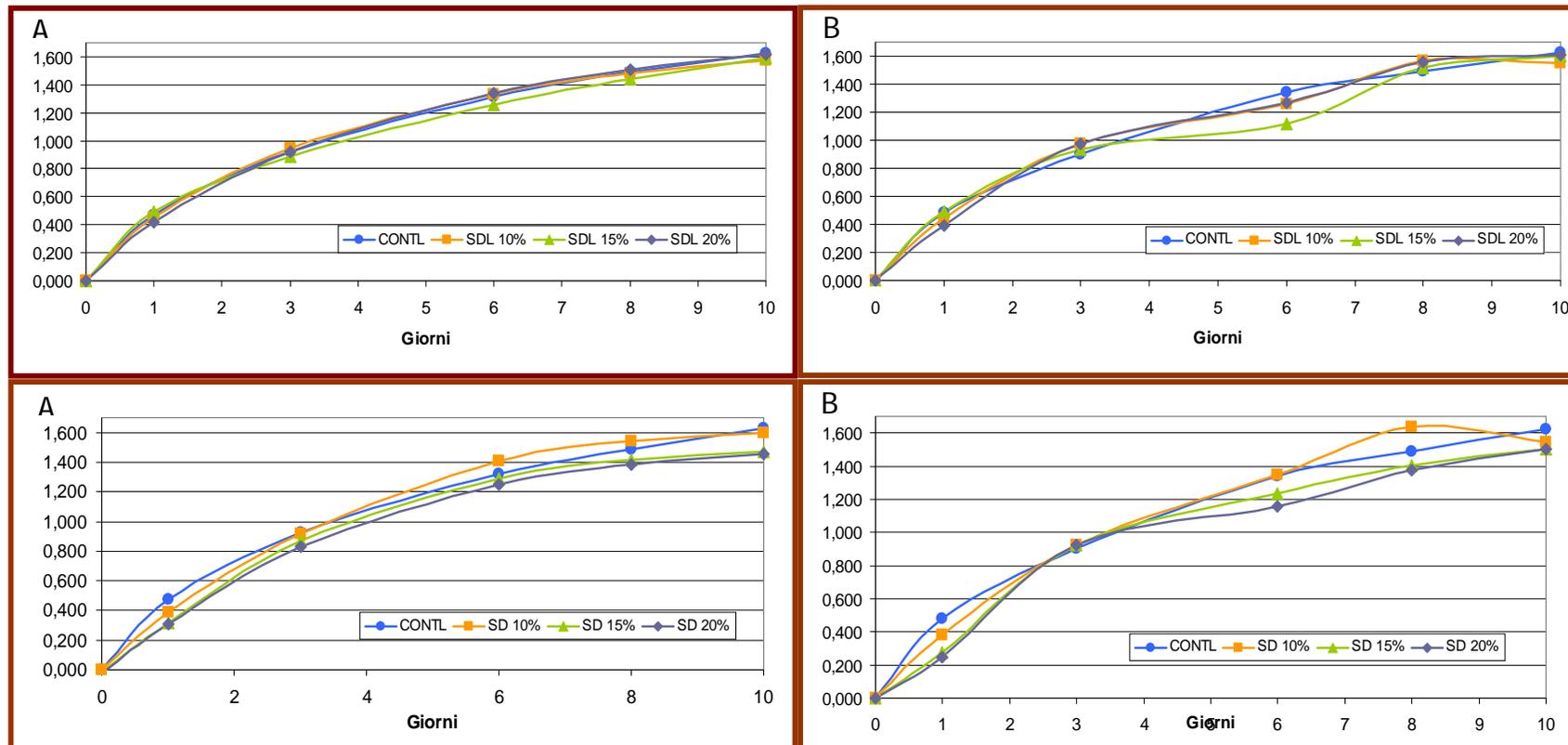
**Figura 21 – Distribuzione percentuale del numero di alveoli in funzione della divisione in classi del diametro equivalente**



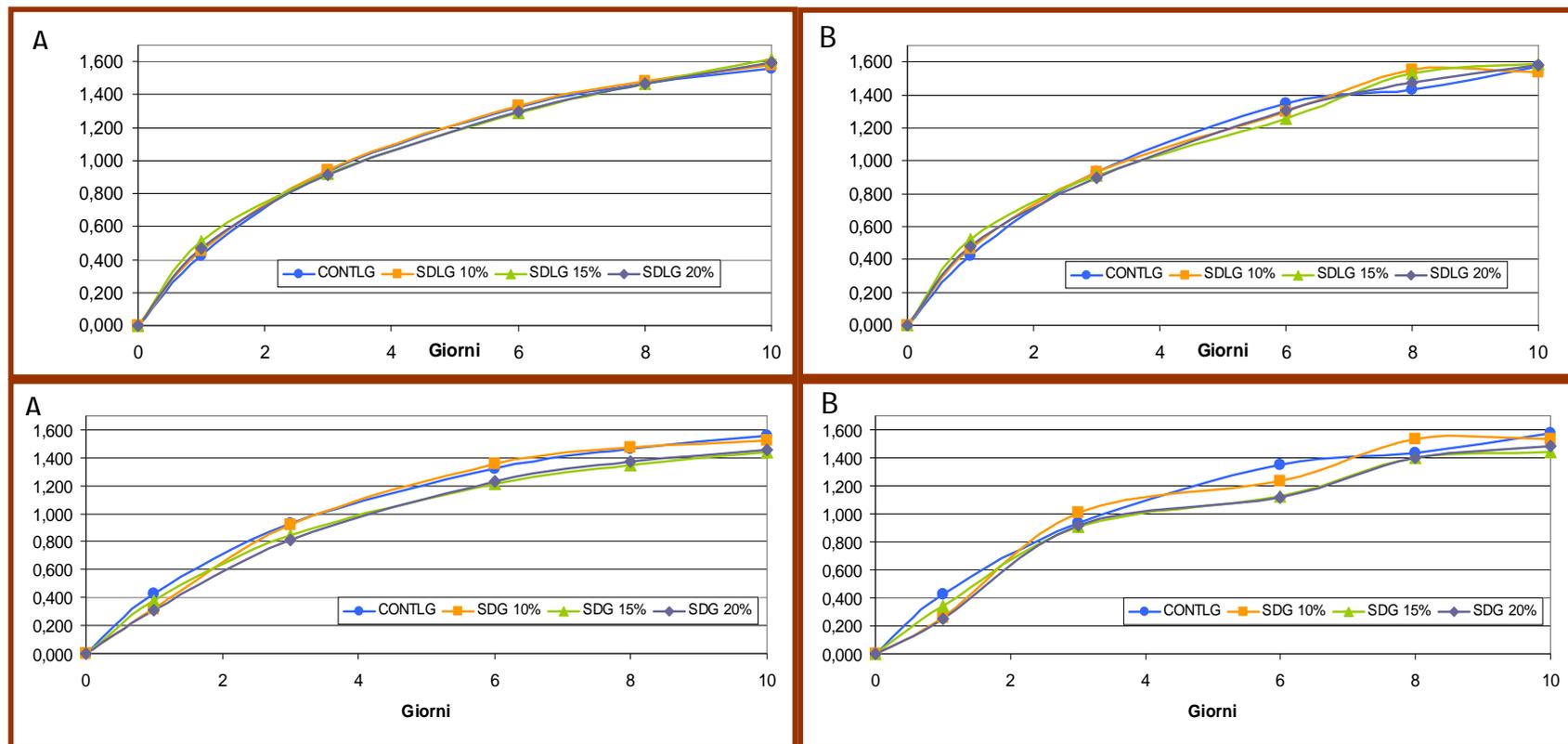
**Figura 22 – Profili della Durezza (g) durante la conservazione espressi secondo i dati ottenuti dalla modellizzazione con l'equazione di Avrami (A) e i dati originali (B)**



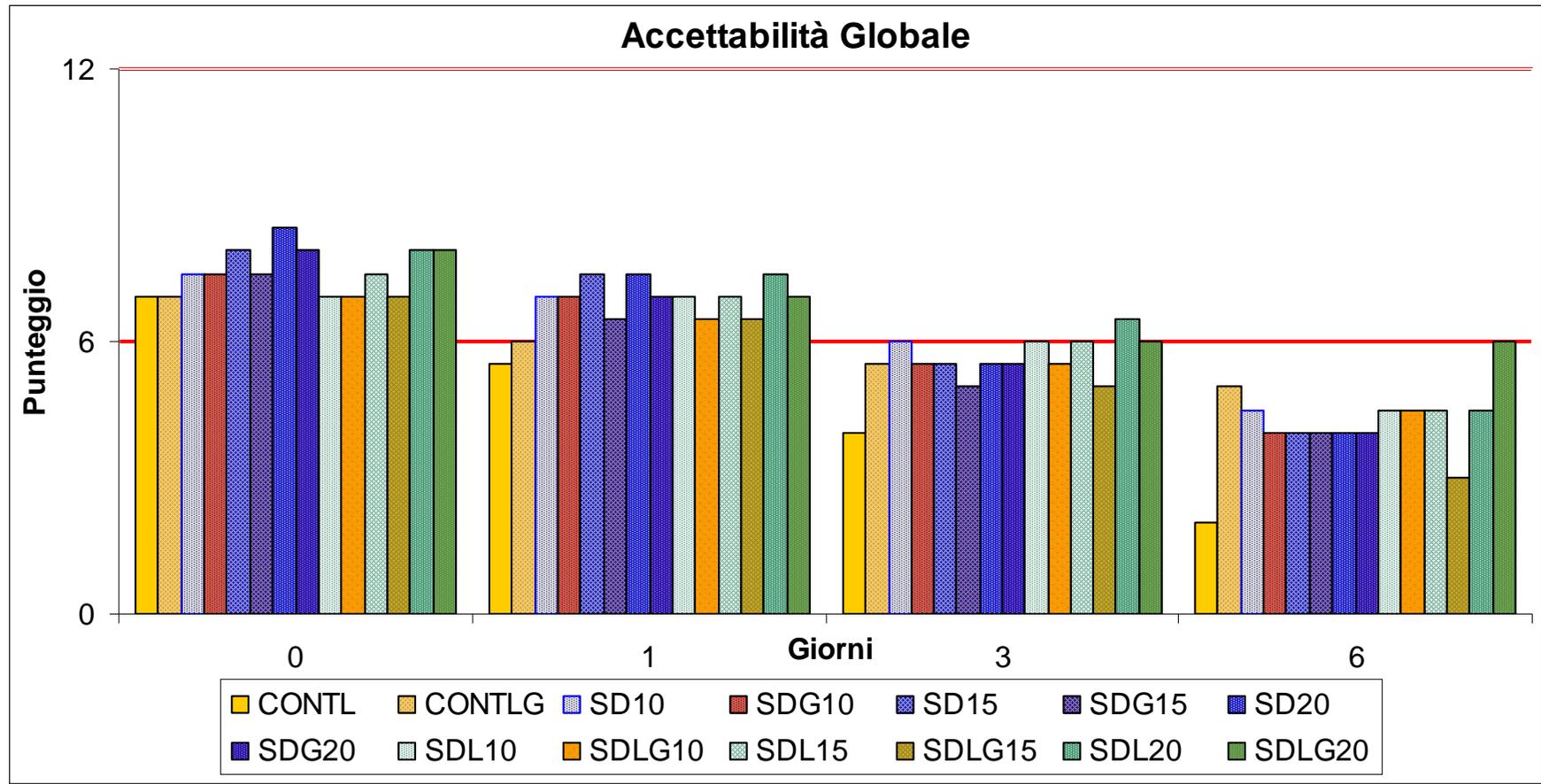
**Figura 23 – Profilo della Durezza (g) durante la conservazione con i risultati ottenuti dalla modellizzazione con l'equazione di Avrami (A) e i dati grezzi (B)**



**Figura 24 – Profili della variazione di Entalpia ( $\Delta H$  J/g) durante la conservazione espressi secondo i dati ottenuti dalla modellizzazione con l'equazione di Avrami (A) e i dati originali (B)**



**Figura 25 – Profili della variazione di Entalpia ( $\Delta H$  J/g) durante la conservazione espressi secondo i dati ottenuti dalla modellizzazione con l'equazione di Avrami (A) e i dati originali (B)**



**Figura 26 – Punteggi dell'accettabilità globale durante la fase di conservazione**

## **VI. BIBLIOGRAFIA**

**Addari C., 1991.** "La leggenda del lievito", in: In nome del pane – Forme, tecniche, occasioni della panificazione tradizionale in Sardegna, 23.

**Alziator F., 1957.** Il Folklore Sardo, 1957, 112.

**Andreu P., Collar C. & Martinez-Anaya M.A., 1999.** Thermal properties of doughs formulated with enzymes and starters. European Food Research and Technology, 209, 286-293.

**Angioloni A., Romani S., Pinnavaia G. & Dalla Rosa M., 2006.** Characteristics of bread making doughs: influence of sourdough fermentation on the fundamental rheological properties. European Food Research and Technology, 222, 54-57.

**Armero E. & Collar C., 1997.** Texture properties of formulated wheat doughs. Relationships with dough and bread technological

quality. Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung Forschung A, 204(2), 136–145.

**Armero E. & Collar C., 1998.** Crumb Firming Kinetics of Wheat Breads with Anti-staling Additives. Journal of Cereal Science, 28, 165-174.

**Barber S., Báguena R., Martinez-Anaya M. A. & Torner M. J., 1983.** Microflora de la masa madre panaria. I. Identificación y propiedades funcionales de microorganismos de masas madre industriales, elaboradas con harina de trigo. Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, 23, 552-562.

**Böcker G., Stolz P. & Hammes W. P., 1995.** Neue Erkenntnisse zum Ökosystem Sauerteig und zur Physiologie des sauerteigtypischen Stämme *Lactobacillus sanfrancisco* und *Lactobacillus pontis*. Getreide Mehl und Brot, 49, 370–374.

**Bottiglioni G. 1925.** La Vita Sarda.

**Brummer J.M., Stephan H. & Spicher G., 1984.** Getreide Mehl und Brot, 38, 203-205.

**Brummer J.M. & Lorenz K., 1991.** European developments in wheat sourdoughs. Cereal Foods World, 36, 310–314.

**Buléon, A., Colonna, P., Planchot V. & Ball, S. 1998.** Starch granules: Structure and biosynthesis. International Journal of Biological Macromolecules, 23, 85–112.

**Clarke C. I., Schober T.J. & Arendt E.K., 2002.** Cereal Chemistry, 79, 640-647.

**Collar C., Benedito de Barber C. & Martínez-Anaya M.A., 1994a.** Microbial sourdoughs influence acidification properties and breadmaking potential of wheat dough. Journal Food Science, 59, 629-633.

**Collar C., Martínez J.C., Andreu P. & Armero E., 2000.** Effects of enzyme associations on bread dough performance. A

response surface analysis. *Food Science and Technology International*, 6(3), 217-226.

**Collar C. 2003.** Significance of viscosity profile of pasted and gelled formulated wheat doughs on bread staling. *European Food Research Technology*, 216, 505–513.

**Colonna P. & Buléon A., 1992.** New insights on starch structure and properties. In *Cereal chemistry and technology: A long past and a bright future*, Proceedings of the ninth international cereal and bread congress 25–42.

**Corsetti A., Lavermicocca P., Morea M., Baruzzi F., Tosti N. and Gobbetti M., 2001.** Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeast from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy. *International Journal Food Microbiology*, 64, 95-104.

**Corsetti A., De Angelis M., Dellaglio F., Paparella A., Fox P. F., Settanni L. & Gobbetti M. 2003.** Characterization of

sourdough lactic acid bacteria based on genotypic and cell-wall protein analyses. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 641–654.

**Crowly P., Schober T. J., Clarke C. I. & Arendt E. K., 2002.**

The effect of storage time on textural and crumb grain characteristics of sourdough wheat bread. *European Food Research and Technology*, 214, 489–496.

**Cubadda R. & Pasqui L.A., 1985.** Risultati di una sperimentazione quadriennale sulle caratteristiche tecnologiche-qualitative della produzione nazionale di frumento tenero. Sezione grafica INN, Roma.

**De Vuyst L., Schrijvers V., Paramithiotis S., Hoste B., Vancanneyt M., Swings J., Kalantzopoulos G., Tsakalidou E. & Messens W., 2002.** The biodiversity of lactic acid bacteria in Greek traditional wheat sourdoughs is reflected in both composition and metabolite formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 6059–6069.

**Delitala E., 1993.** "Comunicare con il pane" in "Su Pani Fatti in Domu – Vitalità di una tradizione popolare", AAVV, Cagliari.

**Della Marmora A., 1839.** Viaggio in Sardegna, Torino, 132.

**Dettori A., 1993.** "Le Parole del Pane" in "Su Pani Fatti in Domu – Vitalità di una tradizione popolare", AAVV, Cagliari.

**Dexter J.E., Matsuo R. R., Preston K. R. & Kilborn R. H., 1981.** Comparison of gluten strength, mixing properties, baking quality and spaghetti quality of Canadian durum and common wheat. Canadian International Food Science Technology Journal, 14 (2), 108.

**Di Trapani A. M. & Schimmenti E., 2005.** Calano le superfici di frumento duro. L'Informatore Agrario, 35, 33-37.

**Eliasson A. C. & Larsson K., 1993.** Cereals in breadmaking. A molecular colloidal approach. New York, NY: Marcel Dekker.

**Flagella Z., 2006.** Qualità nutrizionale e tecnologica del frumento duro. *Rivista Agronomica*, 1, 203-239.

**Gobbeti M., De Angelis M., Corsetti A. & Di Cagno R., 2005.** Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 57-69.

**Gujral H.S., Rosell, C.M., 2004a.** Functionality of rice flour modified with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science*, 39, 225-230.

**Hamad S. H., Dieng M. C., Ehrmann M. A. & Vogel, R. F., 1997.** Characterization of the bacterial flora of Sudanese sorghum flour and sorghum sourdough. *Journal of Applied Microbiology*, 83, 764–770.

**Hammes W. P. & Gänzle M. G., 1998.** Sourdough breads and related products. In B. J. B. Woods, *Microbiology of Fermented Foods* (Vol. 1), 199–216. Londra: Blackie Academic/Professional.

**Hammes W. P., Stolz P. & Gänzle M. 1996.** Metabolism of lactobacilli in traditional sourdoughs. *Advances in Food Science*, 18, 176–184.

**Hansen A. & Schieberle P., 2005.** Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: applied and fundamental aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 85–94.

**Henry R. J., 1985.** A comparison of the non-starch carbohydrates in cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36, 1243–1253.

**Hizukuri S., Takeda Y. & Yasuda M., 1981.** Multi-branched nature of amylose and the action of debranching enzymes. *Carbohydrate Research*, 94, 205–213.

**Hoseney R.C. & Chen W.Z., 1994.** US Patent 5 280 616.

**International Association for Cereal Chemistry.** ICC-Standard No 162. Approved 1996. ICC, Detmold Germany.

**International Association for Cereal Chemistry.** ICC-Standard No 121. Approved 1972, Revised 1992.

**International Association for Cereal Chemistry.** ICC-Standard No 155. Approved 1994.

**International Association for Cereal Chemistry.** ICC-Standard No 107/1. Approved 1968, Revised 1995.

**International Association for Cereal Chemistry.** ICC-Standard No 110/1. Approved 1960, Revised 1976.

**International Association for Cereal Chemistry.** ICC-Standard No 104/1. Approved 1960, Revised 1990.

**International Association for Cereal Chemistry.** ICC-Standard No 105/2. Approved 1980, Revised 1994.

**International Association for Cereal Chemistry.** ICC-Standard No 136. Approved 1984.

**International Association for Cereal Chemistry.** ICC-Standard No 115/1. Approved 1972, Revised 1992.

**International Association for Cereal Chemistry.** ICC-Standard No 118. Approved 1972, Revised 1992.

**Jelaca S. L. & Hlynca I., 1972.** Effect of wheat-flour pentosans in dough, gluten and bread. *Cereal Chemistry*, 49, 489–495.

**Johnson R. H. & Welch E. A., 1968.** Baked goods dough and method. US Patent Application US 3, 368-903.

**La Marmora A., 1839.** Viaggio in Sardegna, Torino, 190-192.

**Larsson M. & Sandberg A-S., 1991.** Phytate reduction in bread containing oat flour, oat bran or rye bran. *Journal of cereal Science*, 14, 141-149.

**Levine H. & Slade L., 1990.** Influence of the glassy and rubbery states on the thermal mechanical and structural

properties of doughs and baked products. In H. Faridi, & J. M. Faubion (Eds.), Dough rheology and baked products texture, 157–330. New York, NY: Van Nostrand Reinhold.

**Kline L. & Sugihara T. F., (1971).** Microorganisms of the San Francisco sour dough bread process. II. Isolation and characterization of undescribed bacterial species responsible for the souring activity. *Applied Microbiology*, 21, 459–465.

**Kieffer R., Wieser H., Henderson M.H. & Graveland A., 1998.** Correlations of the breadmaking performance of wheat flour with rheological measurements on a micro-scale. *Journal of Cereal Science*, 27(1), 53 - 60.

**Kim S. K. & D'Appolonia B. L., 1977.** Bread staling studies I. Effect of protein content on staling rate and bread crumb pasting properties. *Cereal Chemistry*, 54, 207.

**Maioli M., Pes G. M., Sanna M., Cherchi S., Dettori M., Manca E. & Farris G. A., 2008.** Sourdough - leavened bread improves postprandial glucose and insulin plasma levels in

subjects with impaired glucose tolerance. *Acta Diabetologica*, 45, 91–96.

**Meroth C. B., Walter J., Hertel C., Brandt M. & Hammes W. P., 2003.** Monitoring the bacterial population dynamics in sourdough fermentation processes by using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 475–482.

**Müller M. R. A., Wolfrum G., Stolz P., Ehrmann M. A. & Vogel R. F., 2001.** Monitoring the growth of *Lactobacillus* species during a rye flour fermentation. *Food Microbiology*, 18, 217–227.

**Official Journal of the European Communities, 2001.** C 156, vol. 44, 30 May 2001, 10-15. (2001/C 156/04).

**Olesen T., Qi Si J. & Donelyan, V. 1994.** Use of lipase in baking.

International Patent Application WO 94/04035.

**Oliver J. R., Blankeney A. B. & Allen H. M., 1992.** Measurement of flour color space parameters. *Cereal Chemistry* 69, (5), 546-551.

**Osborne T. B., 1907.** The proteins of the wheat kernel. Publ. 84. Carnegie Inst. Washington. D.C.

**Ottogalli G., Galli A. & Foschino R., 1996.** Italian bakery products obtained with sour dough: characterization of the typical microflora. *Advances in Food Science*, 18, 131–144.

**Parker R. & Ring S. G., 2001.** Aspects of the physical chemistry of starch. *Journal of Cereal Science*, 34, 1–17.

**Porru R., 1832.** Nou Dizionariu Universali Sardu-Italianu.

**Qi Si J., 1997.** Synergistic effect of enzymes for breadmaking. *Cereal Foods World*, 42, 802–807.

**Raffo A., Pasqualone A., Sinesio F., Paoletti F., Quaglia G. & Simeone R., 2003.** Influence of durum wheat cultivar on the sensory

profile and staling rate of Altamura bread. *European Food Research Technology*, 218, 49–55.

**Röcken W. & Voysey P.A., 1995.** Sour-dough fermentation in breadmaking. *Journal Applied Bacteriology Symposium Supplement* 79, 38S–48S.

**Russell P. L., 1983.** A kinetic study of bread staling by differential scanning calorimetry and compressibility measurements. The effects of added monoglyceride. *Journal of Cereal Science*, 35(8), 297-303.

**Sanna M., 2007.** Tesi di dottorato “Studio dei microrganismi delle paste acide e messa a punto di starter misti per i pani tipici della Sardegna”, Università di Sassari.

**Schober T. J., Dockery P. & Arendt E. K., 2003.** Model studies for wheat spurdough systems using gluten, lactate buffer and sodium chloride. *European Food Research Technology*, 217, 235-243.

**Simeone R., Blanco A., Pasqualone A. & Fares C., 2001.**

Attitudine panificatoria delle semole rimacinate utilizzate nella produzione del pane di Altamura. *Tecnica Molitoria*, 52, 34-44.

**Shibanuma K., Takeda Y., Hizukuri S. & Shibata S., 1994.**

Molecular-structures of some wheat starches. *Carbohydrate Polymers*, 25, 111–116.

**Spicher G. & Stephan H., 1987.** Handbuch Sauerteig Biologie, Biochemie, Technologie. BBV, Wirtschafts Informationen GmbH, Hamburg.

**Spicher G. & Stephan H., 1993.** Handbuch Sauerteig, Biologie-Biochemie-Technologie.

**Spina A., Sciacca F., Palumbo M., Boggini G. & Romano E., 2001.** Attitudine panificatoria di varietà di frumento duro. *Tecnica Molitoria*, 52(11), 1096-1106.

**Stephan H. & Neumann H., 1999a.** Technik der Roggen-Sauerteigführung. In G. Spicher, & H. Stephan (Eds.), *Handbuch*

Sauerteig: Biologie, Biochemie, Technologie (5th ed.), 161–245.  
Amburgo: Behr's Verlag.

**Stephan H. & Neumann H., 1999b.** Technik der WeizenvorteigundWeizensauerteigführung. In G. Spicher, & H. Stephan (Eds.), Handbuch Sauerteig: Biologie, Biochemie, Technologie (5th ed.), 247-275. Amburgo: Behr's Verlag.

**Stolz P. & Böcker G., 1996.** Technology, properties and applications of sourdough products. *Advances in Food Science*, 18, 234–236.

**Swewing J., 1995.** The measurement of dough and gluten extensibility using the SMS/Kieffer rig and the TA.XT2 texture analyser. Stable Micro Systems, Surrey, UK.

**Valery A.C.P., 1931.** Viaggio in Sardegna, Cagliari.

**Vogel R. F., Müller M., Stolz P. & Ehrmann M., 1996.** Ecology in sourdoughs produced by traditional and modern technologies. *Advances in Food Science*, 18, 152–159.

**Vogel R. F., Knorr R., Müller M. R. A., Steudel U., Gänzle M. G. & Ehrmann M. A., (1999).** Non-dairy lactic fermentations: the cereal world. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 403–411.

**Wagner M. L., 1928.** *La Vita Rustica*, Cagliari, 135-144.

**Zobel H. F., 1988.** Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch/Stärke*, 40, 1–7.

**Zobel H. F. & Kulp K., 1996.** The staling mechanism. In 'Baked Goods Freshness. Technology, Evaluation and Inhibition of Staling'. Marcel Dekker, Inc. New York, 1-64.

## **Ringraziamenti**

Arrivato alla conclusione di questo lavoro voglio esprimere la mia gratitudine verso coloro che mi hanno aiutato, supportato, incitato, stimolato, motivato e anche, perché no, sopportato nella realizzazione e nella stesura di questa tesi. E' difficile in poche righe ricordare tutte le persone che hanno contribuito a rendere "migliori" questi ultimi tre anni vissuti tra la Spagna e la isola più bella del Mediterraneo.

Ringrazio il Prof. Antonio Piga per il continuo supporto morale e professionale, per la sua disponibilità, che non è mai venuta a mancare, e per i preziosi consigli che mi hanno aiutato nella realizzazione di questa tesi e nella mia formazione professionale.

Ringrazio il Coordinatore del Dottorato, Chiar.mo Prof. Giovanni Antonio Farris, per la continua attenzione e per la sensibilità dimostrate nei miei confronti.

Ringrazio la Dott.ssa Alessandra Del Caro per i consigli e per la sua disponibilità a condividere le sue preziose competenze grazie alle quali sono riuscito a portar a termine il mio lavoro.

Ringrazio in modo particolare Anna Maria Sanguinetti per la sua compagnia, disponibilità e simpatia che hanno reso meno duri gli anni di dottorato.

Un ringraziamento doveroso e speciale va alla Dott.ssa Manuela Sanna per tutto ciò che mi ha insegnato sul meraviglioso mondo delle paste acide e per la sua gentilezza ogni qualvolta le ho rotto le "scatole".

Ringrazio Dott. Vacca, Paolo Fenu, Alessandra Nieddu e la Sig.ra Ivana Cicu per avermi supportato durante il mio lavoro di ricerca.

Ringrazio Giangiacomo Milella coinquilino di stanza e amico perché lavorare con il sorriso rende meno duro il lavoro.

Grazie a tutte le persone che in questa pagina, non volendo, ho dimenticato.

**COSTANTINO**

## **Agradecimientos**

Llegado a la conclusión de este trabajo quiero expresar mi gratitud hacia los que me han ayudado, incitado, estimulado y también, porque no, soportado en la realización y en la redacción de esta tesis. Es difícil en pocas rayas recordar a todas las personas que han contribuido a hacer "mejores" estos últimos tres años entre España y la isla más bonita del Mediterráneo. Quiero expresar mi agradecimiento:

A mi Codirectora de Tesis, Dra. Concepción Esteve Collar por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad, fundamentales para la concreción de este trabajo.

A Eva Santos y a Cristina Marco compañeras de trabajo y amigas, por su calidez y compañerismo al compartir éxitos y fracasos durante la realización de los experimentos.

A Alessandro Angioloni, a Juan Mario Sanz y a Juan Antonio Tamayo (Juanan), compañeros de trabajo y amigos, por sus desinteresadas ayudas y simpatía.

A todo el laboratorio de Cereales del Departamento de Ciencia de los Alimentos, a la Prof.ra Cristina Molina, a la Dra Mónica Haros, a la Dra M<sup>a</sup> Antonia Martinez, a Fina, Consuelo, Pepe, Encarna y Elvira por haberme hecho sentir como uno de casa.

A los compañeros del IATA y amigos Alvaro Lafraya, Santiago Alamar(es), Sergio Torres, Mario Lopez y Alberto Puras sin los que no habría podido resistir mucho tiempo lejos de mi isla.

A los compañeros del equipo ganador de fubito Mario, Sergio, Jader, Juan y a los del perdedor Alvaro, Santi, Alberto, Alain, Antonio.

A todos los becarios y compañeros de trabajo del IATA Quique, Miguel Angel, Clara, Alex, Lola, Patricia y a los que olvido por el tiempo pasado juntos.

Gracias a todas las personas que en esta página, no queriendo, he olvidado.

**COSTANTINO**