



LESAFFRE

Lievito e soluzioni per la panificazione

IL METABOLISMO DEL LIEVITO MADRE

Le produzioni metaboliche dei batteri e dei lieviti presenti nel lievito madre sono all'origine delle sue funzionalità. I batteri producono acidi organici (acido lattico ed acido acetico, responsabili dell'acidità), mentre i lieviti producono principalmente CO₂ (necessaria per la lievitazione dell'impasto). Entrambi i gruppi di microorganismi partecipano alla sintesi dei composti aromatici tipici nel lievito madre. Tuttavia, questa descrizione estremamente semplificata nasconde una serie di vie metaboliche complesse e articolate. Sono necessarie conoscenze approfondite per comprendere appieno ciò che può influenzare le produzioni metaboliche del lievito madre e ottenere così i risultati desiderati.

Il lievito madre può definirsi un composto di acqua e farina che fermenta sotto l'azione di microorganismi unicellulari, come batteri e lieviti. Dietro a questa definizione standard vi è un'ampia varietà di prodotti, ognuno caratterizzato da gusto e profilo aromatico specifici, da differenti spinte fermentative e proprietà acidificanti. Il lievito madre svolge inoltre un ruolo fondamentale nell'assicurare una conservazione efficace, nel migliorare la struttura del prodotto e nell'incrementarne le proprietà nutrizionali. Le attività metaboliche volte allo sviluppo e alla proliferazione dei batteri e dei lieviti sono inoltre responsabili di queste funzionalità. I preziosi composti prodotti sono il marchio di fabbrica del lievito madre. Questo articolo tratta le principali vie metaboliche utilizzate dai microorganismi nel lievito madre.

IL METABOLISMO DEL LIEVITO MADRE
COME FATTORE DI SELEZIONE
pag. 2

IL METABOLISMO GLUCIDICO
pag. 4

IL METABOLISMO DELL'AZOTO
pag. 6

1. IL METABOLISMO DEL LIEVITO MADRE COME FATTORE DI SELEZIONE

1.1. Selezione delle specie più competitive

Il lievito madre è un ecosistema di microorganismi unicellulari, che appartengono a due categorie principali di organismi viventi: i batteri (procarioti) ed i lieviti (eucarioti appartenenti al regno biologico dei funghi). Tra questi due tipi di microorganismi si viene a creare un graduale equilibrio, che si basa sulle loro complesse interazioni e che poi si stabilizza nei lieviti madre maturi. Lo sviluppo di un lievito madre si basa sulla fermentazione che avviene in un composto di farina e acqua a opera del microbiota naturale della farina e dell'ambiente di cottura. Questo microbiota iniziale contiene una grande quantità di batteri e lieviti (De Vuyst and Neysens, 2005). Tuttavia, solo alcune specie di microorganismi sono ancora presenti dopo i primi rinfreschi, operazioni effettuate dal panificatore tramite aggiunte regolari di acqua e farina atte a fornire sempre nuovi nutrienti ai microorganismi. L'ecosistema continua ad evolversi nel tempo, fino a raggiungere la stabilità. Solo i microorganismi capaci di adattarsi a tale ecosistema sopravvivranno e saranno fautori dei cambiamenti che avranno luogo successivamente (Fig 1).

Un'ampia parte del microbiota iniziale viene quindi inibita dalla sua inadattabilità all'ambiente del lievito madre, che muta in seguito ai continui rinfreschi e agli interventi del panificatore, lasciando gradualmente spazio ai microorganismi più competitivi.

La selezione è dovuta in parte alle capacità metaboliche dei batteri e dei lieviti.

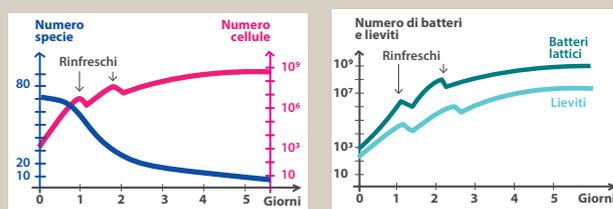
1.2. L'ecosistema del lievito madre, frutto dei fermenti e della perizia del panificatore

In questo contesto, i microorganismi che sopravvivono sono quelli che non sono in competizione (uso di substrati diversi) o quelli che cooperano (produzione di substrati da metabolismo batterico, utilizzabili ad esempio da alcuni lieviti).

Le specie che riescono a svilupparsi nel lievito madre sono in primis quelle più capaci di sfruttare i nutrienti già presenti e necessari per produrre l'energia di cui hanno bisogno. La capacità di assorbire e metabolizzare il maltosio, il principale zucchero semplice presente nella farina, conferisce un vantaggio selettivo a determinate specie di batteri e lieviti.

Tale capacità dipende dalle interazioni tra i batteri ed i lieviti nel microbiota del lievito madre. Ad esempio, le due molecole di glucosio che derivano dall'idrolisi del maltosio da parte del *Lactobacillus*

FIGURA 1. SVILUPPO DELL'ECOSISTEMA DI BATTERI/LIEVITI NEL LIEVITO MADRE.



Solo poche specie di batteri e lieviti si stabiliscono con successo nell'ecosistema del lievito madre. Il rapporto tra batteri e lieviti è compreso tra 10 e 100.
Fonte: Adattato da Onno and Ragot, 1998; Gänzle, 2006

DALLE COMPETENZE DEI PANIFICATORI ALL'ESPERIENZA DI LESAFFRE

La produzione di lievito madre tradizionale è il risultato delle competenze e della perizia del panificatore. Infatti, il suo ruolo è essenziale affinché l'ecosistema microbico del lievito madre si sviluppi adeguatamente. La successione dei rinfreschi esercita una pressione di selezione sui microorganismi al fine di incentivare il microbiota di interesse. Inoltre, i rinfreschi consentono all'ecosistema di stabilizzarsi.

L'esperienza di Lesaffre permette di semplificare il lavoro del panificatore fornendogli direttamente il microbiota di suo interesse, grazie a fermenti già selezionati.

sanfranciscensis possono essere usate dal *Candida humilis*, un lievito maltosio-negativo (Lhomme *et al.*, 2016).

Queste interazioni positive sono messe a frutto in alcuni lieviti madre costituiti ad esempio di *Lactobacillus brevis* e *Saccharomyces cerevisiae* var. *chevalieri*. Cooperazioni simili si verificano anche nel metabolismo dell'azoto: gli amminoacidi prodotti dai batteri lattici, come il *Lactobacillus plantarum*, sono impiegati da alcuni lieviti, ad esempio il *Saccharomyces cerevisiae* var. *chevalieri*, per produrre dei composti aromatici (Thiele *et al.*, 2002).

Una caratteristica metabolica può essere vantaggiosa o meno a seconda del substrato in cui si sviluppano i batteri e il lievito. Ad esempio, alcuni batteri lattici sono avvantaggiati nei lieviti madre a base di segale, poiché sono in grado di degradare e metabolizzare i pentosani, polisaccaridi non amidacei particolarmente presenti in questo cereale. Gli acidi organici che derivano quindi dal loro metabolismo acidificano l'ambiente, facilitando così il processo di panificazione. Per questa ragione, queste specie sono particolarmente preziose nella produzione di fermenti/agenti fermentanti per lieviti madre a base di segale.

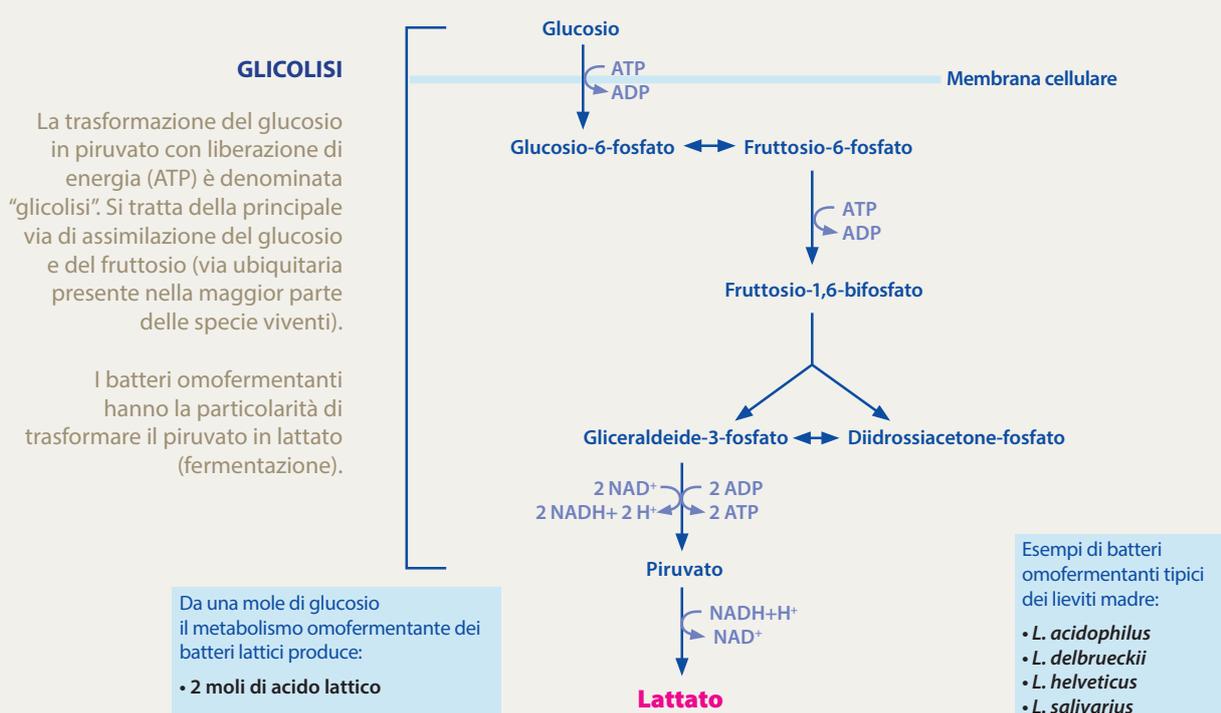
1.2.1. Capacità di inibire i concorrenti

Come visto in precedenza, la selezione delle specie all'interno del microbiota del lievito madre si fonda su una competizione, in cui il ruolo dei rinfreschi è particolarmente significativo. Senza i rinfreschi, i nutrienti si esauriscono e le specie presenti si estinguono, permettendo la comparsa di nuove specie, che degradano la loro materia organica. Queste specie sono delle alterazioni della flora che compromettono la qualità del lievito madre, se non addirittura dei microorganismi patogeni.

Inoltre, anche i metaboliti prodotti dai microorganismi a seguito del nutrimento dato dall'impasto prendono parte alla selezione in essere tra le specie presenti. Alcuni metaboliti presentano un certo livello di tossicità per altre specie. Ad esempio, l'acido acetico prodotto da alcuni batteri lattici può inibire la crescita del lievito, mentre l'etanolo prodotto dal lievito può rivelarsi dannoso per i batteri. I microorganismi che riescono a svilupparsi con successo nel lievito madre hanno quindi una maggiore tolleranza nei confronti di tali componenti.

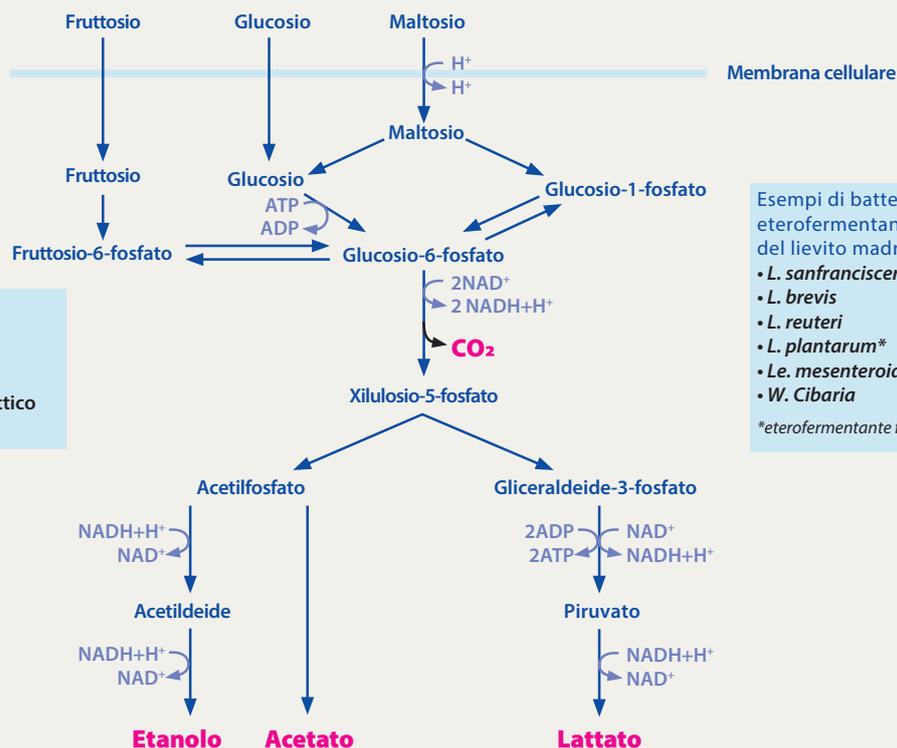
FIGURA 2A. METABOLISMO OMOFERMENTANTE DEI BATTERI LATTICI.

Figura 2a. Metabolismo omofermentante dei batteri lattici.



Fonte: Adattato da Gänzle et Gobbetti, 2013

FIGURA 2B. METABOLISMO ETEROFERMENTANTE DEI BATTERI LATTICI.



Da una mole di glucosio, il metabolismo eterofermentante dei batteri lattici produce:

- 1 mole di acido lattico
- 1 mole di etanolo o di acido lattico
- 1 mole di CO_2

Esempi di batteri eterofermentanti tipici del lievito madre:

- *L. sanfranciscensis*
- *L. brevis*
- *L. reuteri*
- *L. plantarum**
- *Le. mesenteroides*
- *W. Cibaria*

*eterofermentante facoltativo

Fonte: Adattato da Lhomme et al., 2016

1.3. Ad ogni ecosistema i suoi metaboliti

In poche parole, il potenziale metabolico di batteri e lievito, ossia la loro capacità di utilizzare determinati substrati e di sintetizzare certi prodotti, influenza in misura significativa il profilo del microbiota che si stabilisce in un lievito madre.

Viceversa, **la composizione del microbiota presente nel lievito madre dà vita a un profilo di produzione metabolica specifico.** Le molecole risultanti dal metabolismo di batteri e di lieviti contribuiscono principalmente alla crescita della loro stessa biomassa, pur essendo responsabili degli aromi e del gusto tipici dei prodotti a base di lievito madre, e di altre funzionalità come le loro proprietà lievitanti, acidificanti, bio-conservative e persino nutrizionali (Gobetti and Gänzle, 2013).

Conoscere e comprendere appieno le vie metaboliche utilizzate dai microorganismi dei lieviti madre è quindi di fondamentale importanza per modellare un lievito madre in base alle caratteristiche sensoriali e funzionali desiderate.

All'origine dei componenti così prodotti vi sono due vie metaboliche principali usate da batteri e lievito: il metabolismo dei substrati glucidici e quello dei substrati azotati. Per semplificare, entrambe le vie sono presentate separatamente, nonostante esistano numerosi collegamenti tra di loro.

È interessante sottolineare che vi è una terza categoria di attività metaboliche, collegata al metabolismo lipidico. I microorganismi utilizzano i lipidi per fornire i precursori dei composti aromatici principali, tra questi gli alcoli superiori.

2. IL METABOLISMO GLUCIDICO

Le farine di cereali impiegate nella panificazione sono ricche di carboidrati, presenti principalmente sotto forma di amido e, in misura minore, di zuccheri semplici, suddivisi in monosaccaridi (glucosio, fruttosio) e disaccaridi (maltosio). Gli enzimi, come le amilasi e le xilanasi, presenti naturalmente nella farina oppure aggiunti dal panificatore, degradano rispettivamente amido e fibre, con una conseguente produzione costante di zuccheri semplici, e in particolare di maltosio.

Questi zuccheri semplici sono impiegati dai batteri lattici e dal lievito come substrati per soddisfare il loro fabbisogno energetico (Urien, 2015) secondo vie metaboliche ben individuate e specifiche.

2.1 Il metabolismo glucidico dei batteri produce acidi organici

2.1.1. Vie metaboliche diverse

I batteri lattici possono essere **suddivisi in tre gruppi** in base al substrato glucidico che fermentano e alla via metabolica che utilizzano (Gänzle and Gobetti, 2013):

PROPRIETÀ DI CONSERVAZIONE: UN'ALTRA FUNZIONALITÀ DEI BATTERI LATTICI NEL LIEVITO MADRE

Oltre alla produzione di acidi organici, il metabolismo dei batteri lattici dà origine anche a sostanze che contribuiscono a una più efficace conservazione dei prodotti:

- In primo luogo, gli **esopolisaccaridi** contribuiscono ad aumentare l'assorbimento d'acqua nei prodotti, migliorandone la morbidezza e ritardandone il raffermaimento (Galle, 2013).
- In secondo luogo, i batteri lattici secernono **sostanze con effetti fungicidi**, che inibiscono i microrganismi saprofiti come le muffe, assicurando così la bioconservazione e una maggiore durata ai prodotti (Gänzle and Gobetti, 2013).

- i **batteri omofermentanti obbligati** fermentano gli **esosi** (in particolare il maltosio nel lievito madre) attraverso la cosiddetta via di EMP (dal nome dei tre scienziati che descrissero per primi questo tipo di glicolisi, Embden-Meyerhof-Parnas). **Ciò porta alla produzione di acido lattico** (Figura 2a). *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. farciminis*, *L. amylovorus*, e *L. mindensis* sono tutti esempi di batteri omofermentanti obbligati.

- i **batteri eterofermentanti obbligati** fermentano **gli esosi ed i pentosi** attraverso la via dei pentoso-fosfati (6-fosfogluconato-fosfochetolasi). Pertanto, sintetizzano l'acido lattico e l'etanolo oppure l'acido acetico. Gli esosi producono anche una certa quantità di CO₂ (Figura 2b). Questa categoria include *L. sanfranciscensis*, *L. rossiae*, *L. brevis*, *L. pontis* ed anche *L. fermentum*.

- i **batteri eterofermentanti facoltativi** fermentano **gli esosi** attraverso la via EMP ed **i pentosi** attraverso la via dei pentoso-fosfati. Essi sintetizzano perciò l'acido lattico e l'etanolo oppure l'acido acetico.

L. plantarum, *L. paralimentarius* e *L. curvatus* sono tutti esempi di batteri eterofermentanti facoltativi. **È importante sottolineare che l'acido lattico e l'acido acetico sono i principali prodotti del metabolismo glucidico dei batteri lattici.** La produzione di CO₂ ed etanolo da parte dei batteri lattici eterofermentanti è minima rispetto alle quantità prodotte dal lievito.

2.1.2 Funzione acidificante degli acidi lattici e acetico

Gli acidi organici (acido lattico e acido acetico) prodotti dal metabolismo glucidico dei batteri sono responsabili delle proprietà acidificanti del lievito madre. Inoltre, il rapporto molare tra questi due acidi, noto come "quoziente di fermentazione" (FQ), condiziona profondamente l'aroma tipico dei prodotti a base di lievito madre. Pur non avendo un gusto proprio, l'acido lattico è associato a note aromatiche amare e verdi, simili a quelle del siero di latte, derivato dai suoi sottoprodotti. L'acido acetico, invece, si caratterizza per un gusto piccante, che rievoca quello della frutta matura o secca.

La composizione della farina (zucchero, contenuto di enzimi, tasso di cenere, ecc.) e le condizioni di fermentazione (durata, temperatura, resa della pasta, tipo e frequenza dei rinfreschi, ecc.) influenzano considerevolmente il quoziente di fermentazione, selezionando specifici tipi di batteri lattici (omofermentanti, eterofermentanti, obbligati o facoltativi). I batteri lattici eterofermentanti facoltativi e quelli omofermentanti risultano predominanti ad alte temperature e in presenza di tempi di fermentazione brevi tra un rinfresco e l'altro. Di conseguenza, la loro presenza determina un'acidificazione rapida del

lievito madre e una produzione elevata di acido lattico (Lhomme *et al.*, 2016). Al contrario, i batteri lattici eterofermentanti obbligati, quali il *L. sanfranciscensis*, prevalgono nei lieviti madre preparati a temperature moderate con tempi di fermentazione lunghi, con una conseguente produzione di acido lattico ed acetico più equilibrata.

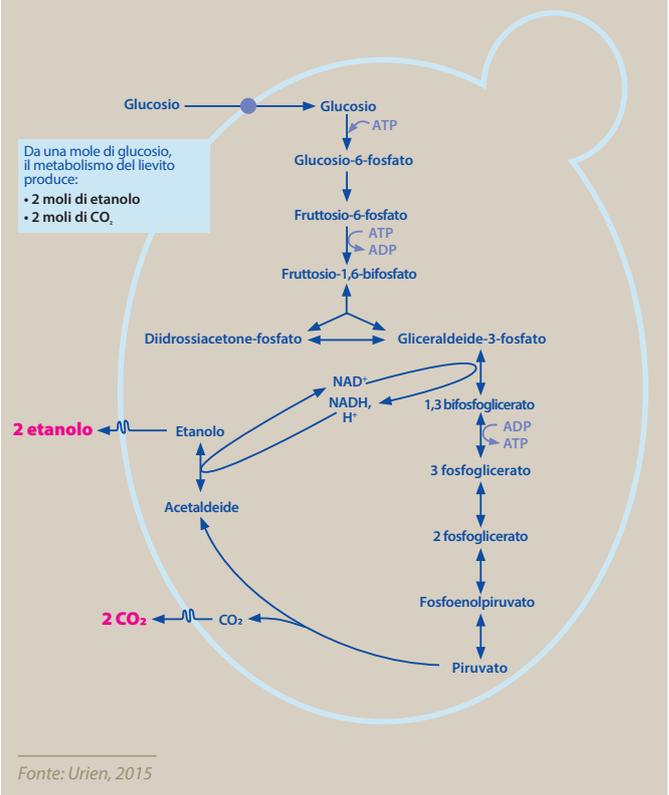
2.2 Il metabolismo glucidico del lievito produce CO₂ ed etanolo

2.2.1. Percorsi metabolici

I lieviti sono microrganismi aerobi facoltativi, usano cioè due vie metaboliche differenti per produrre energia: respirano in presenza di ossigeno e fermentano in sua assenza (Lhomme *et al.*, 2016). In entrambi i casi, le vie metaboliche in questione utilizzano zuccheri semplici e producono CO₂. Durante la fermentazione viene prodotto anche alcool. La seconda via metabolica (Figura 3) è quella più coinvolta nella panificazione data la scarsità di ossigeno nell'impasto.

Si noti che il maltosio (un disaccaride composto da due molecole

FIGURA 3. METABOLISMO GLUCIDICO FERMENTANTE DEL LIEVITO.



di glucosio) è il principale substrato di lievito nel lievito madre. Per essere metabolizzato, questo zucchero deve penetrare la membrana cellulare del lievito grazie ad una maltopermeasi; può poi essere idrolizzato da una maltasi in due molecole di glucosio. Alcuni tipi di lievito sono avvantaggiati in ragione della loro componente enzimatica (presenza di maltopermeasi, ecc.). Le risorse enzimatiche di un lievito costituiscono dunque un criterio di selezione quando si introducono microrganismi in un fermento.

2.2.2 La CO₂ è responsabile della lievitazione dell'impasto

La CO₂ prodotta dal metabolismo glucidico del lievito è responsabile della spinta fermentativa dell'impasto, sia nelle varie fasi di riposo durante la preparazione, sia successivamente durante lo sviluppo in forno. Il lievito è alla base del potere lievitante del lievito madre. L'etanolo prodotto durante la fermentazione conferisce le note alcooliche tipiche dei prodotti a base di lievito madre, oltre a fungere da esaltatore di sapidità.

3. IL METABOLISMO DELL'AZOTO

Il metabolismo dell'azoto, a prescindere che sia a opera di batteri lattici o di lieviti, rimane un processo necessario per assicurare una crescita adeguata, ma comporta inoltre la formazione del profilo organolettico (ovvero aromi e gusti) nei prodotti a base di lievito madre.

3.1. I batteri lattici

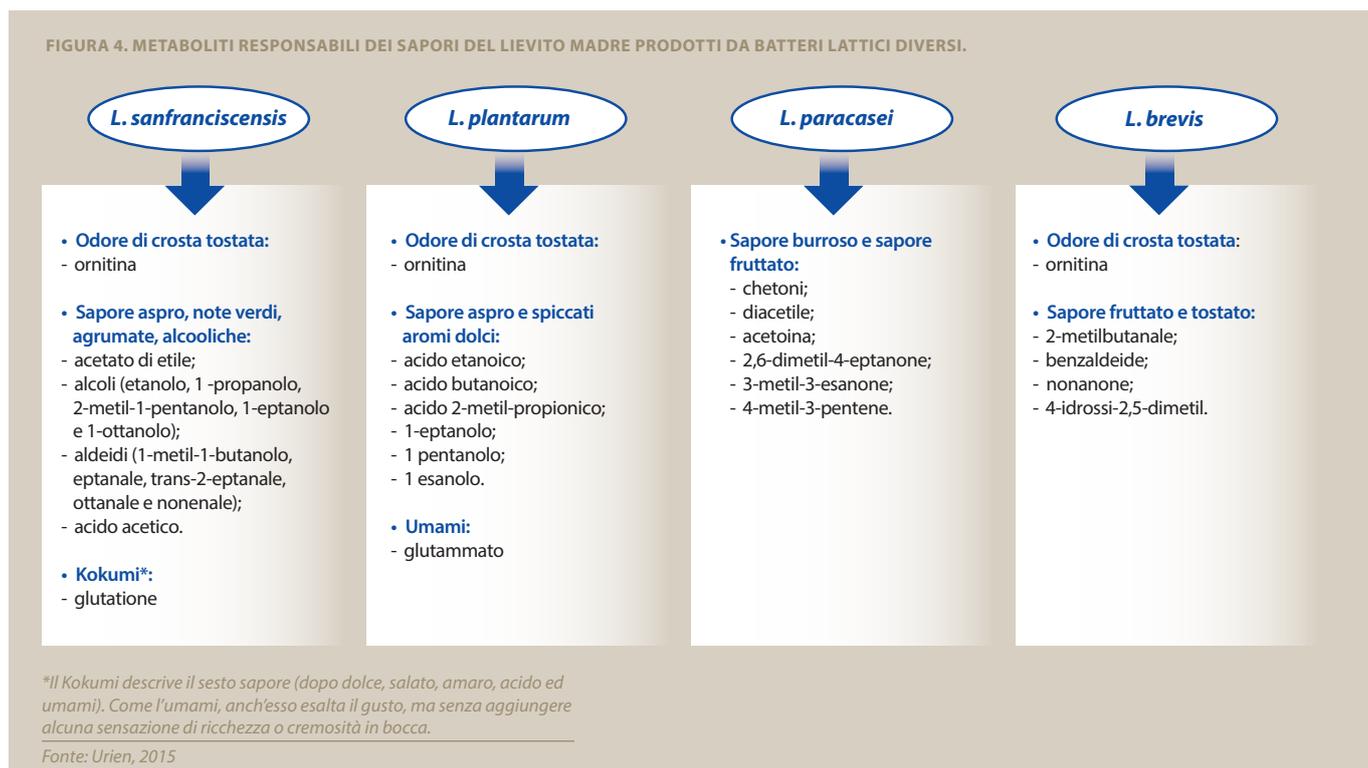
Come molti altri organismi, i batteri lattici non sono in grado di sintetizzare alcuni degli amminoacidi necessari alla loro sintesi proteica cellulare. Essi devono perciò riuscire a degradare le proteine presenti nel loro ambiente al fine di recuperare gli amminoacidi (Chavan and Chavan, 2011). Tuttavia, la prima fase della proteolisi è in gran parte attribuibile alla proteasi endogena nella farina. Questi enzimi raggiungono l'attività ottimale con un pH tra 3,0 e 4,5. L'acidificazione dell'impasto dovuta alla produzione di acido lattico e acetico da parte dei batteri lattici nel lievito madre ne favorisce l'attivazione. Contribuiscono alla formazione di oligopeptidi a partire da determinati amminoacidi, fino alla formazione degli amminoacidi stessi. Le esopeptidasi, ad esempio, scindono le proteine dalle estremità delle loro catene per produrre amminoacidi liberi con un elevato potenziale aromatico, senza danneggiare la maglia glutinica.

I batteri sono poi in grado di prevalerli usando sistemi di trasporto, al fine di internalizzare i peptidi e gli amminoacidi e utilizzare la loro peptidasi intracellulare per formare un pool amminoacidico cellulare (Lhomme *et al.*, 2016).

Alcuni amminoacidi sono utilizzati dai batteri per le loro esigenze metaboliche (proteosintesi); altri, invece, come l'arginina e la glutamina, penetrano vie metaboliche, determinando quindi la sintesi dei composti aromatici come l'ornitina (note grigliate), o di quelli gustativi quali il glutammato (sapore umami). Altri ancora, interagendo con gli zuccheri presenti nell'impasto, prendono parte nelle reazioni di Maillard, responsabili degli aromi e dei sapori nella crosta.

La Figura 4 illustra i composti prodotti dai batteri lattici più presenti nei lieviti madre e i sapori a essi associati.

Si noti che il metabolismo di un amminoacido in particolare, l'asparagina, contribuisce a ridurre la formazione di acrilammide. Questo è un composto che si forma durante la cottura, la cui concentrazione deve rimanere limitata. Nel lievito madre, la metabolizzazione dell'asparagina è rafforzata dal calo del pH dovuto alla produzione di acidi organici da parte dei batteri lattici.



3.2. I lieviti

I lieviti utilizzano l'ammonio inorganico come fonte principale di azoto. Quando questa fonte si esaurisce, l'azoto viene ricercato negli amminoacidi liberi. Alcuni amminoacidi vengono assimilati attraverso i percorsi di Ehrlich (dal nome dello scienziato che li descrisse per primo nel 1904): le successive reazioni di transaminazione, decarbossilazione e ossidazione producono composti di varia natura: alcool, aldeidi, chetoni, esteri, ecc. (Clément *et al.*, 2012). Tra questi, il 2-metil-1-butanolo, il 3-metil-1-butanolo ed il 2-metil-

1-propanolo ("alcool di fusoliera") e i loro derivati sono ritenuti i principali componenti a cui si deve il tipico sapore conferito dal lievito ("gusto fermentato") (Guerzoni *et al.*, 2013). Tuttavia, numerosi altri composti di percorsi metabolici secondari (i primari sono quelli che forniscono energia) contribuiscono alla complessità del sapore dei prodotti a base di lievito madre. Rheman *et al.*, (2006) hanno identificato oltre 20 composti aromatici prodotti da varie specie di lievito (*Saccharomyces cerevisiae*; *Candida krusei*; *Candida norvegensis*; *Saccharomyces exiguus* e *Hansenula anomala*) nei lieviti madre a base di grano (Tabella 1).

TABELLA 1. COMPOSTI PRODOTTI DA VARIE SPECIE DI LIEVITO E SAPORI ASSOCIATI.

Metaboliti	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida norvegensis</i>	<i>Saccharomyces exiguus</i>	<i>Hansenula anomala</i>	Sapori associati
1-Propanolo	+	+	-	+	+	Alcol, fermentato, ammuffito, alcol amilico
2-metil-1-propanolo	+	-	-	+	+	Colla, alcol, etere, vinoso
Acetato di etile	+	+	+	+	+	Etere, fruttato, dolce, erbaceo, verde
3-metil-1-butanolo	+	-	-	+	+	Whisky, malto, alcol
2-metil-1-butanolo	+	-	+	+	+	Malto, alcol, balsamico
1-pentanolo	-	-	-	-	-	Olio, dolce, balsamina, mentone
1-esanolo	+	-	+	+	+	Etere, olio, alcool, verde, fruttato, dolce, legnoso, floreale
3-esan-1-olo	-	-	-	-	-	Verde, foliage
1-eptanolo	-	-	-	-	-	Ammuffito, foliage, legnoso, peonia, violetta
1-ottanolo	-	-	-	-	-	Ceroso, verde, arancia, aldeide, rosa, funghi, agrumi
Acetaldeide	+	+	+	+	+	Acre, etere, aldeide, fruttato
3-metil-1-butanale	+	+	+	+	+	Malto, fermentato, cacao
2-metil-1-butanale	+	-	+	+	+	Malto
Esanale	+	+	+	+	+	Erbaceo, verde
3-metilesanale	-	-	-	-	-	Dolce, verde
Eptanale	-	-	-	-	-	Grasso, rancido, acre
Trans-2-eptanale	-	-	-	-	-	Aspro, verde, verdure, fresco, oleoso
Ottanale	+	+	+	+	+	Limone, agrumi
Nonenale	+	+	+	+	+	Fruttato, sapone, agrumi
Benzaldeide	-	-	-	-	-	Mandorla
Diacetile (2,3-butanedione)	+	-	-	-	-	Forte, burroso, dolce, cremoso, aspro, caramello
Esano	+	+	+	+	+	Benzina
Eptano	-	+	+	-	-	Odore minimo
Ottano	-	+	+	-	-	Benzina

⊕ = Prodotti dalla specie in questione

⊖ = Non prodotti dalla specie in questione

Fonte: Urien, 2015

CONCLUSIONI

Le vie metaboliche utilizzate dai batteri lattici e dai lieviti presenti nei lieviti madre, al fine di assicurare il loro sviluppo, interagiscono costantemente. Operando in sinergia, questi microrganismi partecipano alla formazione dei composti alla base delle funzionalità del lievito madre: in particolare, gli acidi organici prodotti dai batteri, la CO₂ responsabile della lievitazione prodotta principalmente dal lievito, i composti che caratterizzano il sapore dei prodotti a base di lievito madre, ma anche i polisaccaridi e le sostanze antifungine che migliorano naturalmente la proprietà di conservazione dei prodotti. Gli effetti prebiotici di certi composti, come gli esopolisaccaridi, sono oggetto di crescente interesse da parte della comunità scientifica e contribuiscono all'esaltazione delle virtù nutrizionali del pane a base di lievito madre. Tutti questi aspetti motivano il crescente successo di questi prodotti in tutto il mondo. Pertanto, conoscere e comprendere i percorsi metabolici all'interno del lievito madre è fondamentale per facilitare la produzione dei composti desiderati. Lesaffre mette a disposizione la sua esperienza nel settore per assistere i professionisti della panificazione nelle loro scelte e nella preparazione di lieviti madre adattati alle loro esigenze e con le funzionalità ricercate.

Per ulteriori informazioni e note bibliografiche scrivere a segreteria.lit@lesaffre.com