

IL PARADOSSO: L'ANTICA BIOTECNOLOGIA DEL "LIEVITO NATURALE" PER FRONTEGGIARE L'EMERGENZA DELL'INTOLLERANZA AL GLUTINE

Marco Gobbetti

Firenze, 4 Luglio 2013

Il lievito naturale

"Impasto costituito da farina (in genere di grano e/o segale), acqua ed eventualmente sale, fermentato senza l'intervento di microrganismi volontariamente aggiunti e ottenuto grazie ad una serie successiva di rinfreschi che hanno ottimizzato la capacità di acidificazione e lievitazione."

(Gobbetti e Corsetti, 2010. *Biotechnologia dei prodotti lievitati da forno*)



Uno degli starter microbici più antichi



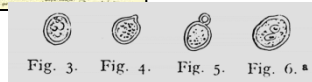
Egitto, 2000 a.C.: scoperta casuale di un impasto lievitato; utilizzo della schiuma della birra come starter per la lievitazione d'impasti



Popolo Romano, 1000: produzione e distribuzione mediante i fornai (Plinio il Vecchio, Naturalis Historia XVIII)



Medioevo, 160): riduzione dell'utilizzo del lievito di birra per la panificazione



1800: Louis Pasteur scoprì gli agenti di fermentazione



1900: il lievito di birra sostituisce sempre di più il lievito naturale

1990: riscoperta del lievito naturale (consumatori/industrie)

2013



ON

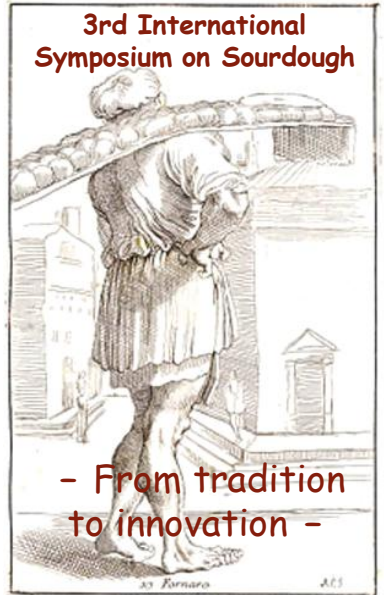
SOURDOUGH

From Fundamentals to Applications

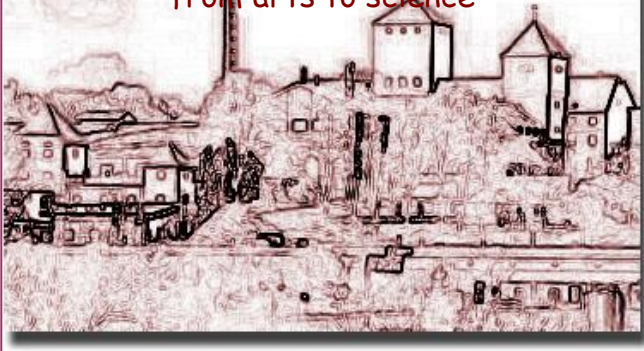


Tour Noire (Brussels, Belgio),
8-11 Ottobre 2003

Bari (Italia),
25-28 Ottobre 2006



IV International Symposium on Sourdough
- from arts to science -



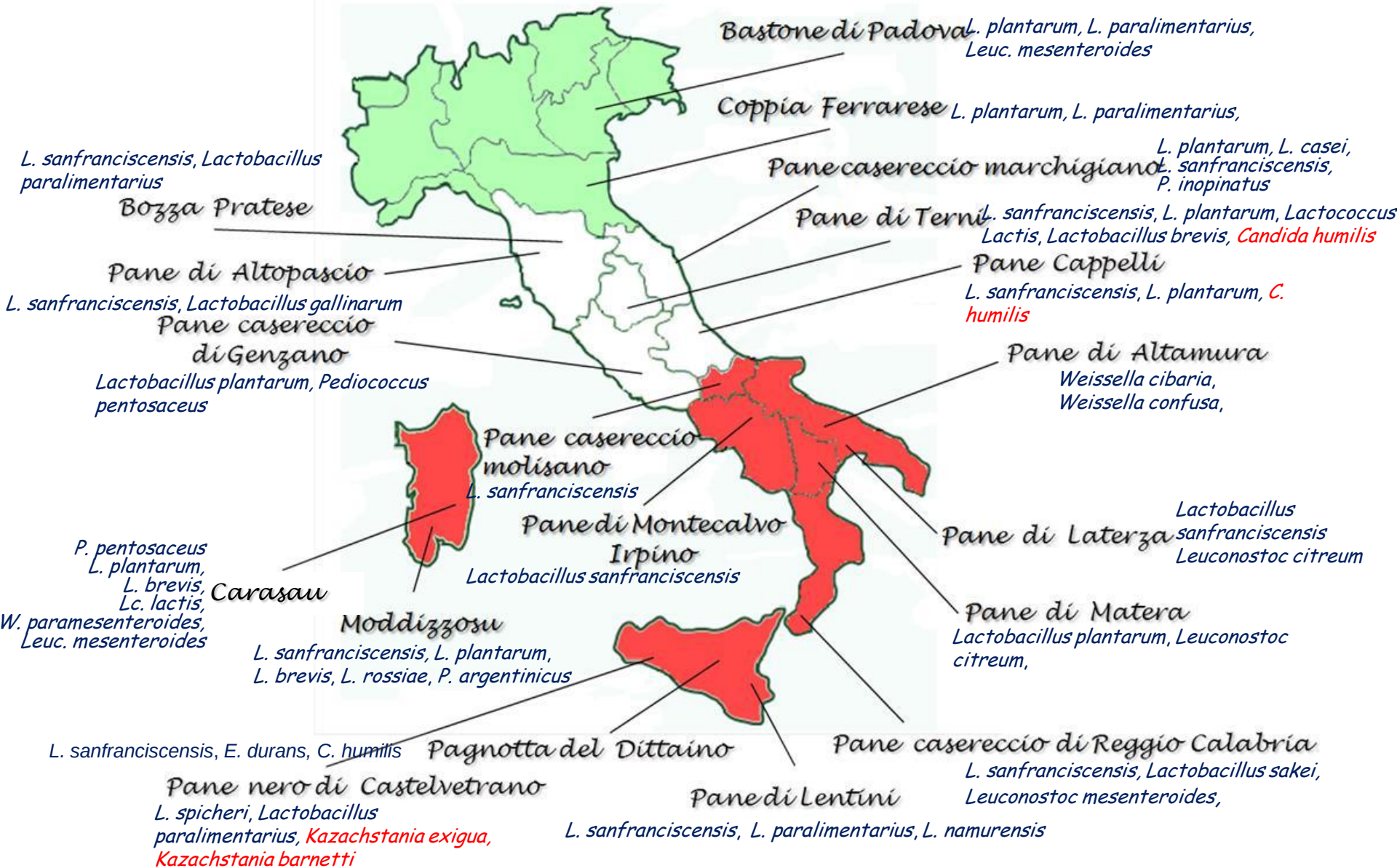
Freising (Germania),
14-17 Ottobre 2009

Helsinki, Finlandia
10-12 Ottobre 2012



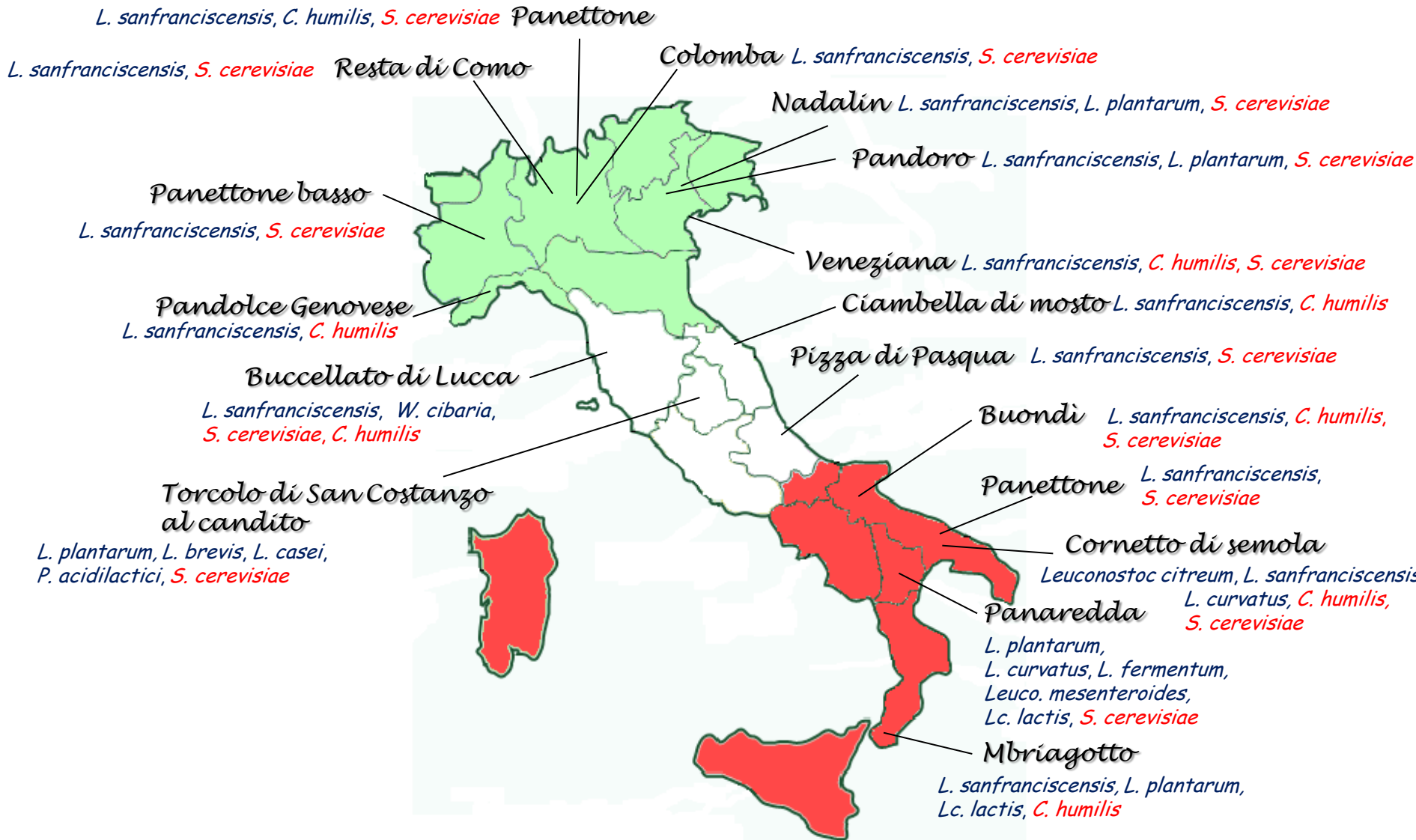
Biodiversità dei lieviti naturali italiani I

Minervini et al., 2012.
Applied Environ Microb, 78:1251-1264



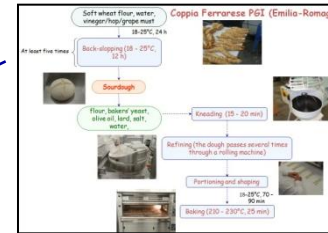
Biodiversità dei lieviti naturali italiani II

Lattanzi *et al.*, 2013. *Int J Food Microb*, 163:71-79



Realizzazione di una *biblioteca* di lieviti naturali (St. Vith, Belgio 15-17.11.2013)

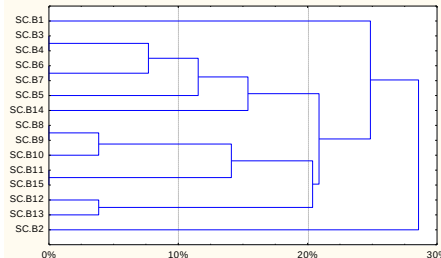
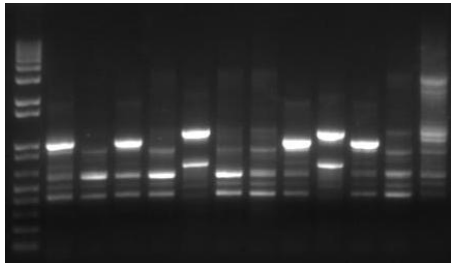
Protocolli di produzione
del pane



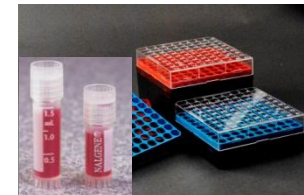
Storia delle principali
caratteristiche del pane

Caratteristiche
biochimiche dei *lieviti
naturali*

Batteri lattici e lieviti
identificati

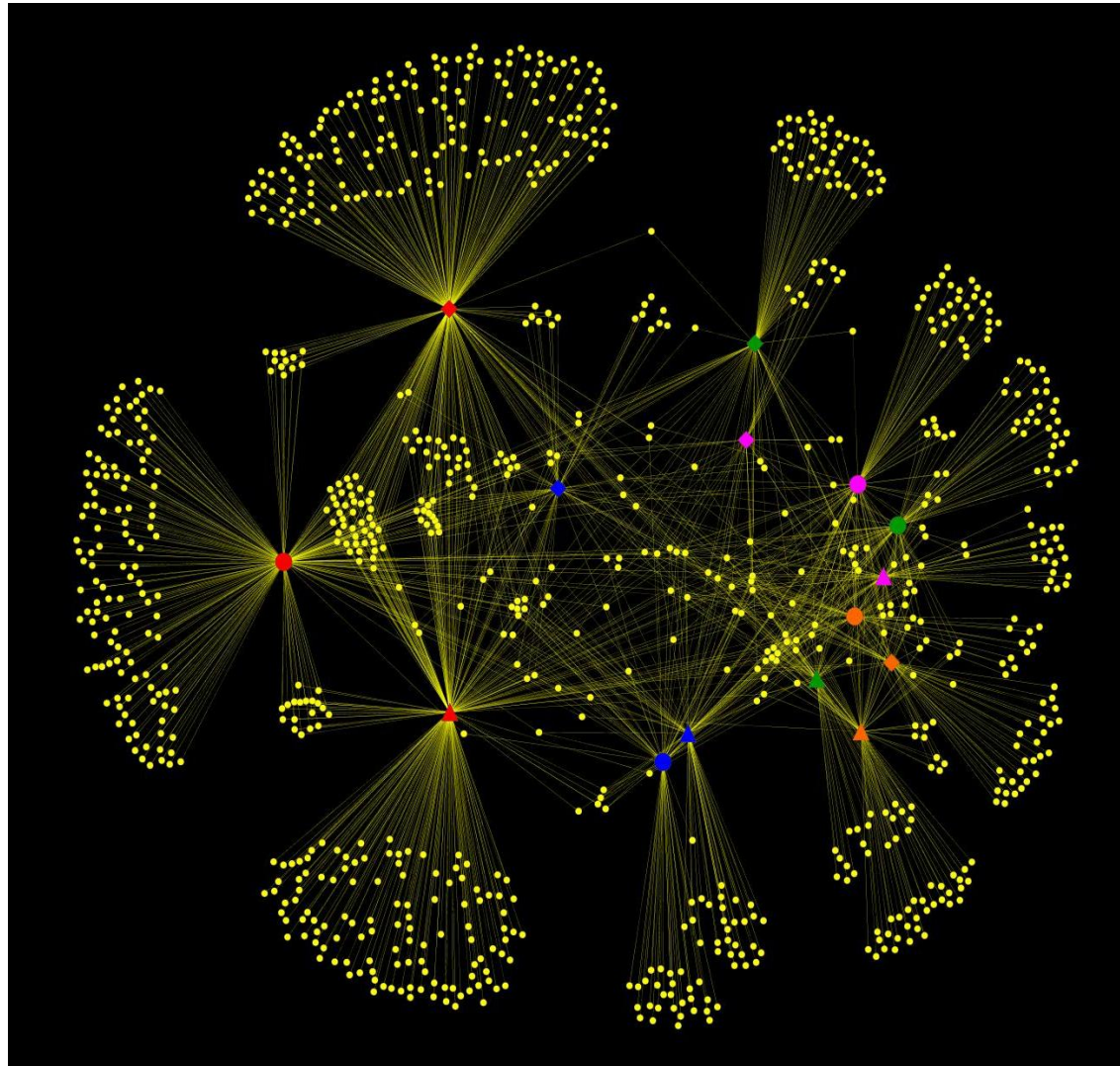


- Collezione delle colture
- Collezione dei *lieviti naturali*



Ecologia microbica dei lieviti naturali

Ercolini *et al.*, 2013. *Appl Environ Microb*, submitted

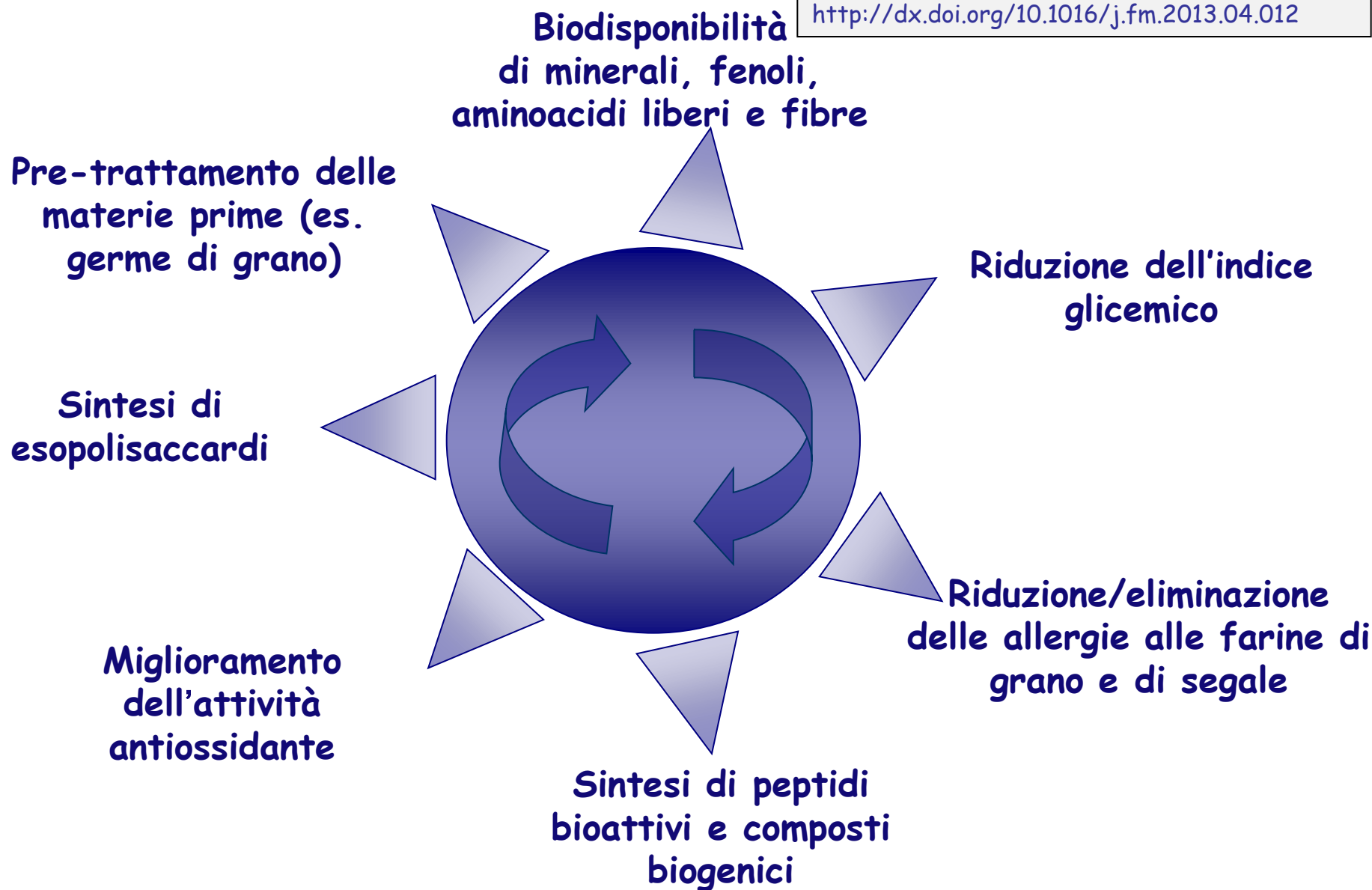


- ◆ R0
- ◆ R1
- ◆ R2
- ◆ R5
- ◆ R10
- D0
- D1
- D2
- D5
- D10
- ▲ T0
- ▲ T1
- ▲ T2
- ▲ T5
- ▲ T10



Lievitazione naturale e proprietà funzionali

Gobbetti *et al.*, 2013. *Food Microb.*
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.012>



Chi ha scoperto gli effetti del lievito naturale sulla salute?



***"Il pane (lievitazione naturale)
rafforza il corpo"***

(Plinio il Vecchio 23/24-79 A.D.)

"Il pane bianco

Giovamento: ingrassa il corpo.

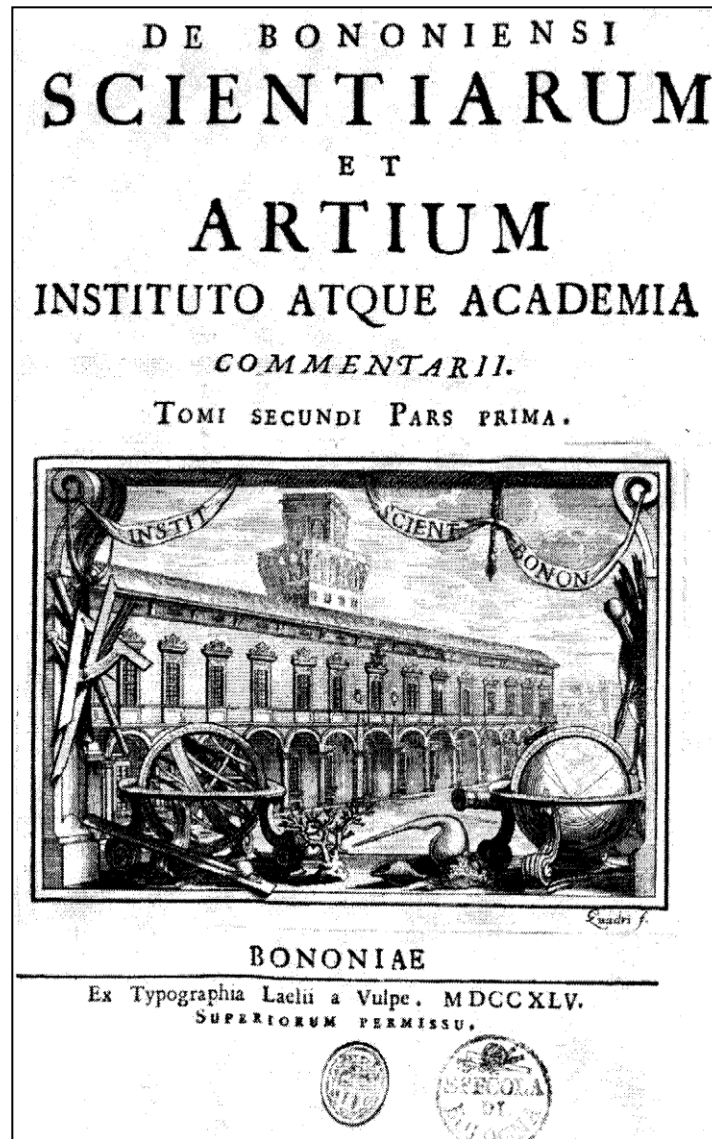
Nocumento: dà oppilazioni ai visceri.

Rimozione del nocumento: con
fermentazione completa"

Tacuini Sanitatis

(XI century, Codex 4182, Biblioteca Casanatense Rome)

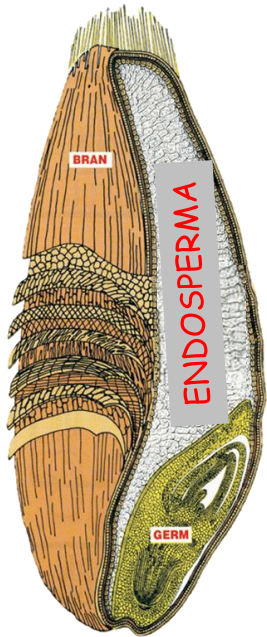
Chi ha scoperto il glutine?



Giacomo Bartolommeo Beccari, 1728



Classificazione delle proteine di frumento

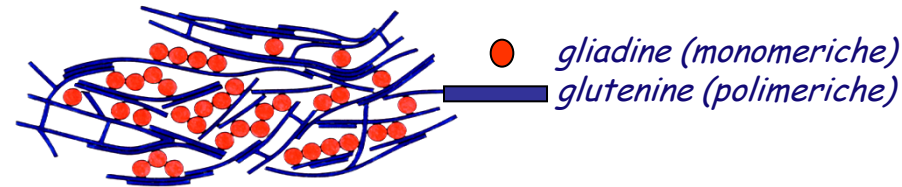


a) Proteine metaboliche e strutturali (ca. 20 %)

- ALBUMINE
- GLOBULINE

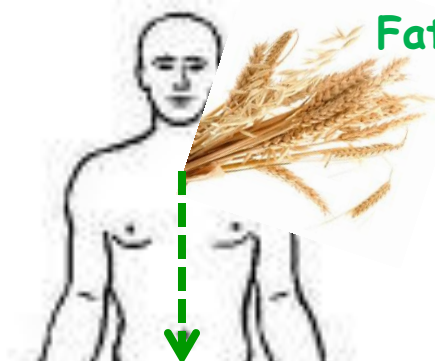
b) Proteine di riserva (ca. 75 %)

- GLIADINE
- GLUTENINE



c) Proteine residue (ca. 5 %)

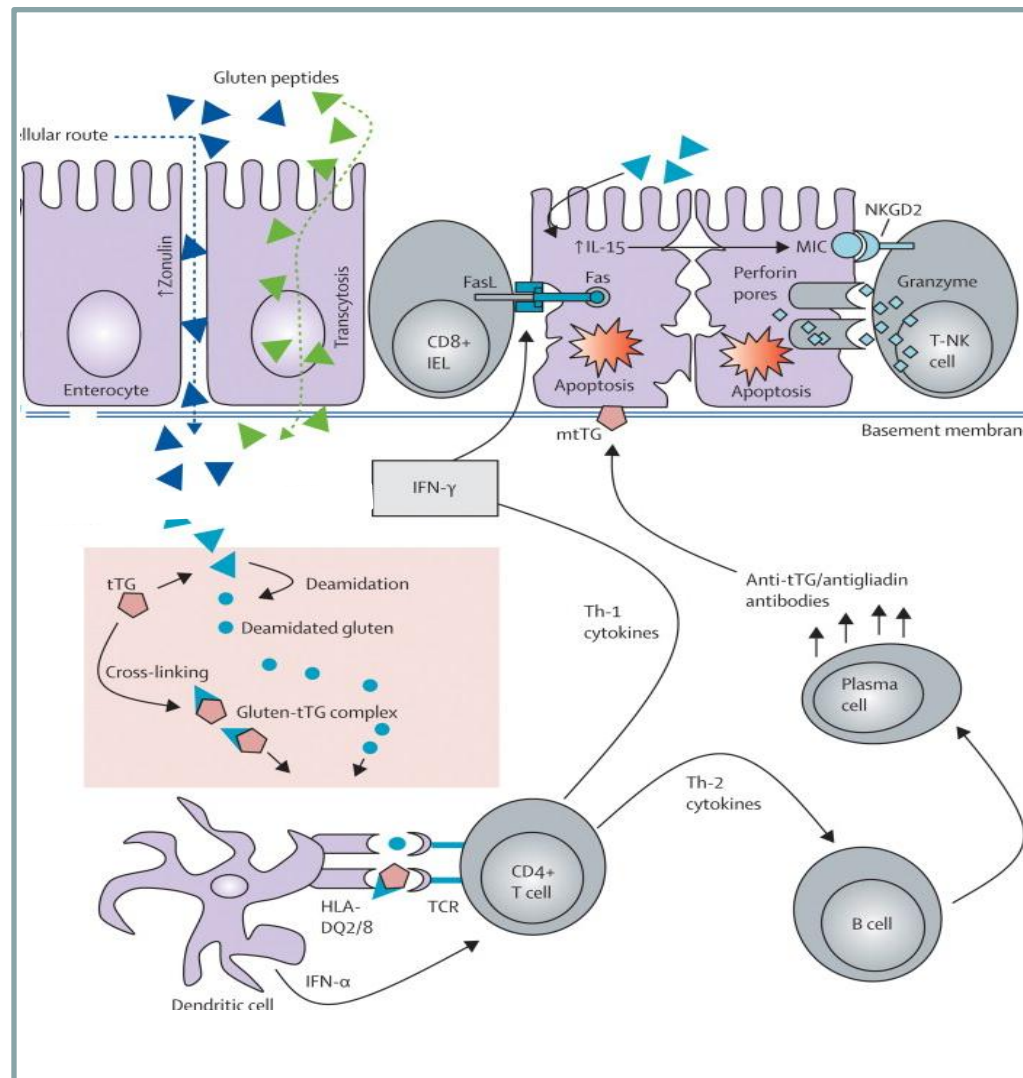
- LIPOPROTEINE



Fattori ambientali

Fattori genetici

- 1) ✓ Composizione aminoacidica inusuale
(Gln + Pro = 47 - 76 %)
✓ Abbondanza di sequenze ripetute
- 2) ✓ Resistenza agli enzimi proteolitici gastro-intestinali
✓ Eccellenti substrati per la transglutaminasi tissutale
- 3) ✓ La forma deamidata dell'epitopo è un potente stimolatore delle cellule-T
✓ Rilascio di Glu essenziale per il legame con geni del sistema HLA (DQ2)



Naiyana Gujral. *et al.*, 2012.
World J Gastroenterol, 18:6036-6059

Oligopeptidi responsabili della risposta immunitaria

Peptide	Sequenza	Referenza
Glia- α (31-43)	LGQQQPFPPQQPY	Silano e De Vincenzi, 1999
Glia- α 2 (62-75)	PQPQLPYPQPQSFR	Auricchio et al., 1996
Glia - α 2 (57-89)	LQLQPFPQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQPQPF	Shan et al., 2002
Glia- α (206-217)	SGQGSGFQPSQQN	
Glia- α 9 (57-68)	QLQPFPQPQLPY	Arentz-Hansen et al., 2000
Glia- α 20 (93-106)	PFRPQQPYQPQPQ	
Glia- γ 1 (138-153)	QPQQPQQSFPQQQRPF	Aleanzi et al., 2001
Glia- γ 30 (222-236)	VQGQGIIQPQQPAQL	Haush et al., 2002
LMW-GIt-156 (40-59)	QPPFSQQQQSPFSQ	Haush et al., 2002
LMW-GIt-17 (46-60)	QQPPFSQQQQQPLPQ	Haush et al., 2002
HMW-GIt (723-735)	QQGYYPSTPQQSG	Haush et al., 2002
Glu-5	QQQXPQQPQQF	Haush et al., 2002
Glu-21	PQQSEQSQQPFPQPQ	Haush et al., 2002



Grano, Segale, Orzo,
Farro, Spelta,
Kamut, Triticale

anche...

birra, salumi, preparati carnei e salumi, sughi pronti, salse, creme, surrogati del caffè, piatti precotti, cioccolato, farmaci e integratori in tavoletta...



Avena



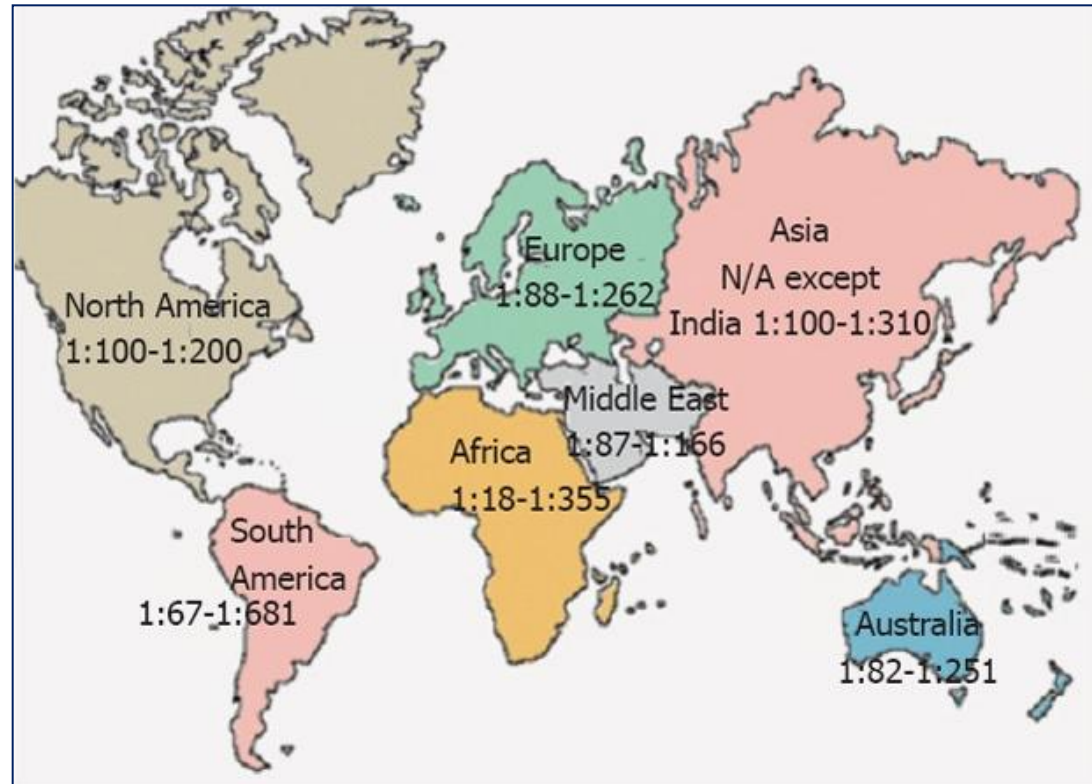
GLUTEN-FREE: 20 o 200 ppm di glutine



Riso, Mais, Grano saraceno,
Manioca, Miglio, Amaranto,
Quinoa, Sorgo, Legumi



Prevalenza globale della celiachia



- **1-2%**

(Collin e Kaukinen, 2013. Dig Dis Sci 58:1165-66)

- **1-2,67%**

(Rastom et al., 2006. Gastroenterology 131:1981-2002;
Green e Celier. 2007. N Engl J Med 357:1731-43)

- **1 - 1,96%**

(Kang et al., 2013. AP&T doi:10.1111/apt.12373)

World Journal of Gastroenterology : WJG

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Celiac disease: Prevalence, diagnosis,
pathogenesis and treatment

Naiyana Gujral, Hugh J Freeman, and Alan BR Thomson

2012.18:6036-59



Strategie alternative alla dieta GF - enzimi

(Caputo *et al.*, 2010. *Enzyme Research* doi10.4061/2010/174354)

- Somministrazione orale di endopeptidasi batteriche (*Flavobacterium meningosepticum*, *Sphingomonas capsulata*, *Myxococcus xanthus*, *Aspergillus niger*)

(Shan *et al.*, 2004. *Biochem. J.*, 383, 311-318; Marti *et al.*, 2005. *J. Pharm. Exp. Therap.* 312, 19-26; Gass *et al.*, 2005. *Biotechnol. Bioeng.* 92, 674-684; Mitea *et al.*, 2008. *Gut* 57, 25-32).

- Transamidazione delle gliadine

(Gianfrani *et al.*, 2007. *Gastroenterology*, 133, 780-789)

- Inibitori delle transglutaminasi

Esposito *et al.*, 2007. *Cur. Med. Chem.* 14, 2572-2580; Wodzinska *et al.*, 2005. *Med. Chem.* 5, 279-292; Dolyuchuk, 1996. *Plast. Reconst. Surgery*, 98, 752; Hoffmann *et al.*, 2009. *J. Agric. Food Chem.* 57, 10150-10155).

- Pretrattamento del glutine nativo con peptidasi batteriche

(Di Cagno *et al.* 2002, *Appl Environ Microbiol* 68:623; Di Cagno *et al.* 2004, *Appl Environ Microbiol* 70:1088; Di Cagno *et al.* 2005; *J Agr Food Chem* 53:4393; De Angelis *et al.* 2006, *Bioch Biophys Acta* 1762:80; De Angelis *et al.* 2006, *J Cereal Sci* 43:301)



Biotecnologia dei cereali

Lievito naturale

(cocktail of acidifying and proteolytic lactic acid bacteria with yeasts)



- Lunghi tempi di fermentazione (ca. 24 h)
- Fermentazione lattica ed alcolica
- Intensa degradazione dei polimeri dei cereali (es. proteine)

Agenti lievitanti chimici

(es. bicarbonato di sodio ed acido tartarico)



- Assenza di fermentazione
- Processo istantaneo
- Nessuna degradazione dei polimeri dei cereali

Lievito di birra



- Processo molto rapido (0.5 - 1 h)
- Fermentazione alcolica
- Nessuna degradazione dei polimeri dei cereali

Dalla tradizione... 1900 —————> Ai processi odierni 2010



Free D- and L-Amino Acid Evolution During Sourdough Fermentation and Baking

M. GOBBETTI, M. S. SIMONETTI, J. ROSSI, L. COSSIGNANI, A. CORSETTI, and P. DAMIANI

Volume 59, No. 4, 1994—JOURNAL OF FOOD SCIENCE—881

Table 1—Total D- and L-amino acids in sourdoughs produced with individual and associated starters (initial cellular concentration of 10^7 and 10^5 CFU/g for lactic acid bacteria and yeasts, respectively) at 28°C for 24 hr

Starters*	Amino acids mg/kg of dough				Total	SD
	Aliphatic	Dicarboxylic	Hydroxy	Basic-Sulcont-Aromatic-Cyclic		
Wheat flour	90 ^a	355 ^a	41 ^{ad}	245 ^a	731 ^a	46.5
Unstarted	146 ^a	75 ^b	59 ^{ac}	232 ^a	512 ^{bd}	44.3
141	112 ^a	108 ^b	30 ^a	190 ^a	440 ^b	42.9
M14	208 ^b	69 ^b	35 ^{ad}	223 ^a	535 ^{bd}	43.1
DC400	672 ^c	455 ^c	155 ^b	228 ^a	1510 ^c	113.2
CB1	674 ^c	476 ^c	164 ^b	235 ^a	1549 ^c	71.5
141-DC400	276 ^{db}	187 ^d	51 ^{ad}	142 ^b	656 ^{da}	65.4
141-CB1	505 ^f	268 ^e	36 ^{ad}	228 ^a	1037 ^e	90.8
M14-DC400	456 ^f	271 ^e	37 ^{ad}	192 ^a	956 ^e	77.7
M14-CB1	378 ^g	224 ^e	25 ^c	171 ^a	798 ^{ed}	74.5
141-M14-DC400-CB1	501 ^f	248 ^e	58 ^{ac}	199 ^a	1006 ^e	85.4
M14**	941 ^h	315 ^a	92 ^c	552 ^c	1900 ^f	125.8
M14-DC400**	604 ^c	130 ^b	70 ^{cd}	500 ^c	1304 ^g	66.2

* The starters used were named with the Collection number reference.

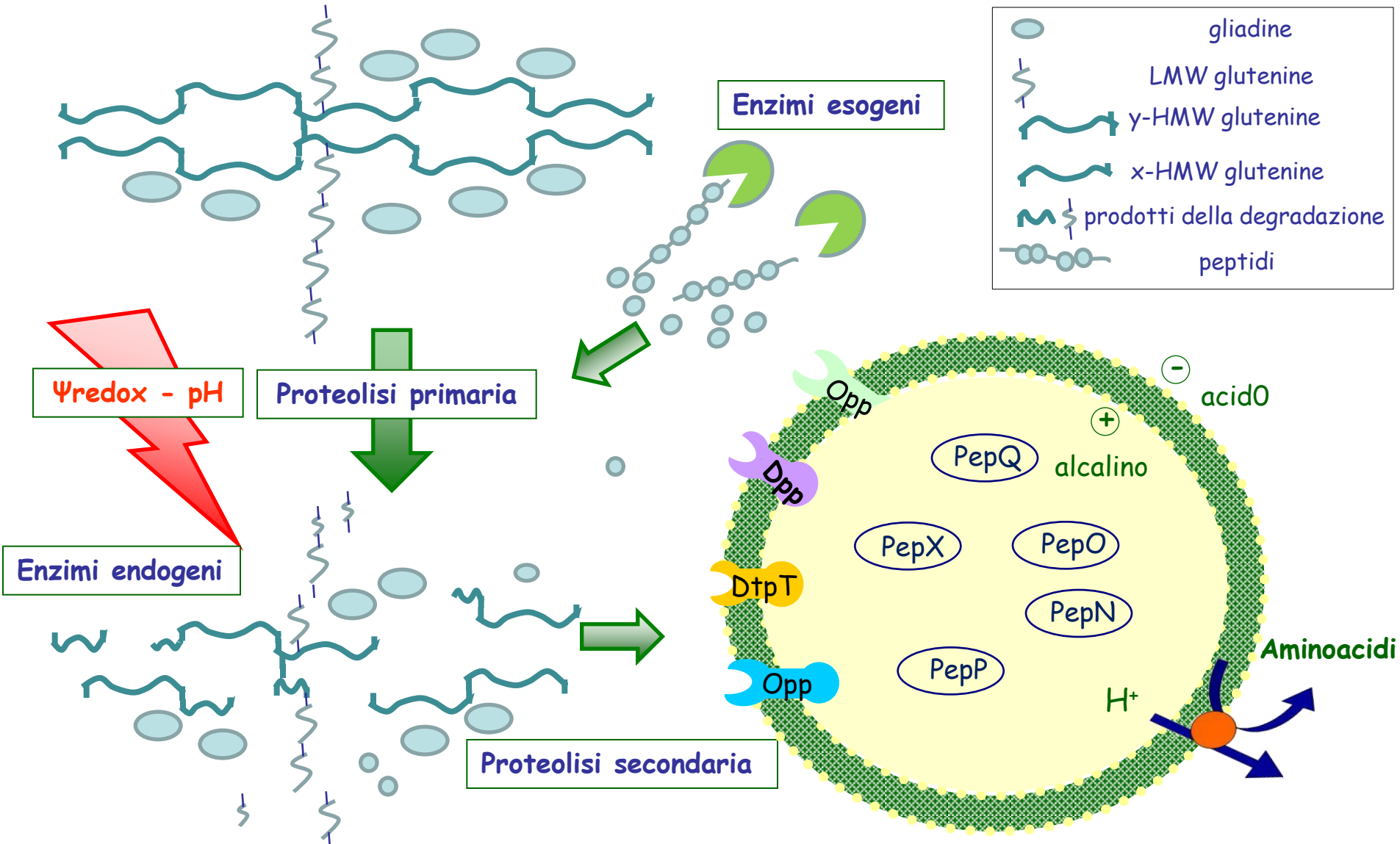
** Initial cellular concentration of 10^7 CFU/g for both M14 and DC400.

^{a-h} Values in the same column with different superscript letters differ ($P < 0.05$). The SD was calculated on the total values.



Proteolisi durante la fermentazione del lievito naturale

(Ganzle *et al.* 2008, Trends Food Sci Technol 19:513)



Proteolysis by Sourdough Lactic Acid Bacteria: Effects on Wheat Flour Protein Fractions and Gliadin Peptides Involved in Human Cereal Intolerance

Raffaella Di Cagno,¹ Maria De Angelis,² Paola Lavermicocca,³ Massimo De Vincenzi,⁴
Claudio Giovannini,⁴ Michele Faccia,⁵ and Marco Gobbetti^{1*}

Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata, Facoltà di Agraria di Bari, 70126 Bari,¹ Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Sezione di Microbiologia Agro-Alimentare, Università degli Studi di Perugia, 06126 Perugia,² Istituto Tossine e



Sourdough Bread Made from Wheat and Nontoxic Flours and Started with Selected Lactobacilli Is Tolerated in Celiac Sprue Patients

Raffaella Di Cagno,^{1†} Maria De Angelis,^{2†} Salvatore Auricchio,³ Luigi Greco,³ Charmaine Clarke,⁴
Massimo De Vincenzi,⁵ Claudio Giovannini,⁵ Massimo D'Archivio,⁵ Francesca Landolfo,³
Giampaolo Parrilli,³ Fabio Minervini,¹ Elke Arendt,⁴ and Marco Gobbetti^{1*}

Department of Plant Protection and Applied Microbiology, University of Bari, 70126 Bari,¹ Institute of Sciences of Food Production, CNR, 70100 Bari,² European Laboratory for Food Induced Disease (ELFID), Department of Pediatrics and Gastroenterology, University of Naples Federico II, 80131 Naples,³ and Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Metabolismo e Biochimica Patologica, I-00161 Rome,⁵ Italy, and Department of Food and Nutritional Sciences, University College Cork, Cork, Ireland⁴

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Italian Ministry of University and Scientific and Technological Research (Murst), Development of Research Networks no. 488/92, cluster C06 + 07, project 6-2.2.

We thank P. F. Fox for critical revision of the paper and Giuditta Alfonsi and Valeria Ancona for technical support. M.G. thanks his father for the practical suggestions which promoted the idea of this work.



**Pasta Made from Durum Wheat Semolina Fermented with
Selected Lactobacilli as a Tool for a Potential Decrease of the
Gluten Intolerance**

RAFFAELLA DI CAGNO,[†] MARIA DE ANGELIS,[†] GIUDITTA ALFONSI,[†]
MASSIMO DE VINCENZI,[‡] MARCO SILANO,[‡] OLIMPIA VINCENTINI,[‡] AND
MARCO GOBBETTI^{*,†}



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Biochimica et Biophysica Acta 1762 (2006) 80–93



<http://www.elsevier.com/locate/bba>

**VSL#3 probiotic preparation has the capacity to hydrolyze gliadin
polypeptides responsible for Celiac Sprue**

Maria De Angelis ^a, Carlo G. Rizzello ^a, Alessio Fasano ^b, Maria G. Clemente ^b,
Claudio De Simone ^c, Marco Silano ^d, Massimo De Vincenzi ^d, Ilario Losito ^e, Marco Gobbetti ^{a,*}



ELSEVIER

Journal of Cereal Science 43 (2006) 301–314

Journal of
**CEREAL
SCIENCE**

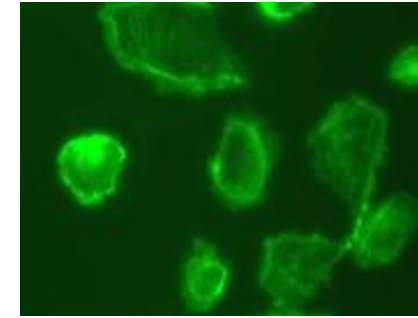
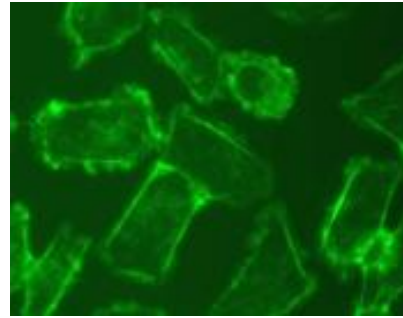
www.elsevier.com/locate/jnlabr/jcers

**Fermentation by selected sourdough lactic acid bacteria
to decrease coeliac intolerance to rye flour**

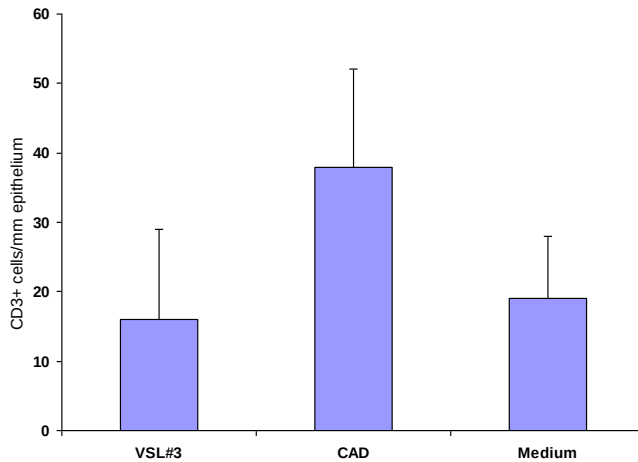
Maria De Angelis ^a, Rossana Coda ^a, Marco Silano ^b, Fabio Minervini ^a, Carlo G. Rizzello ^a,
Raffaella Di Cagno ^a, Olimpia Vicentini ^b, Massimo De Vincenzi ^b, Marco Gobbetti ^{a,*}



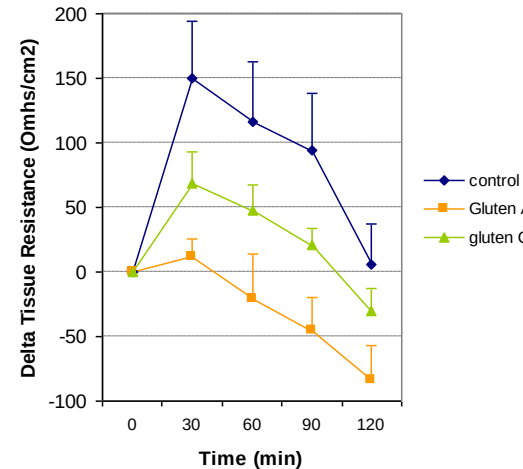
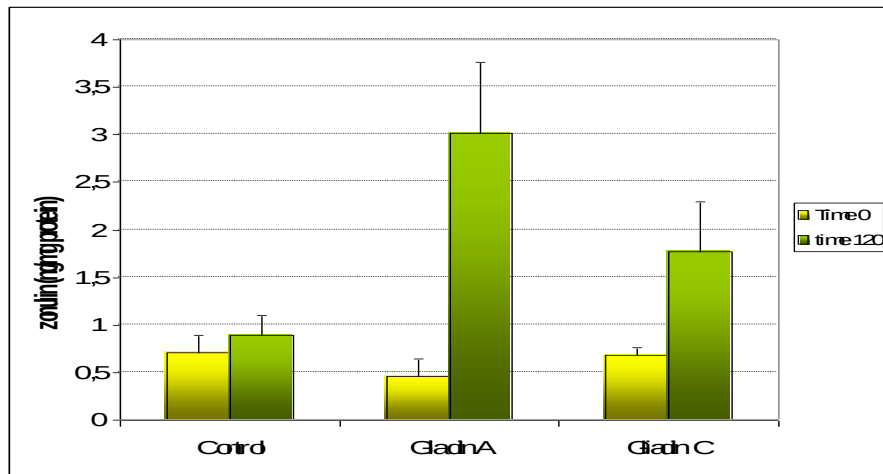
Riorganizzazione citoscheletro (IEC-6)



Infiltrazione di cellule CD3+

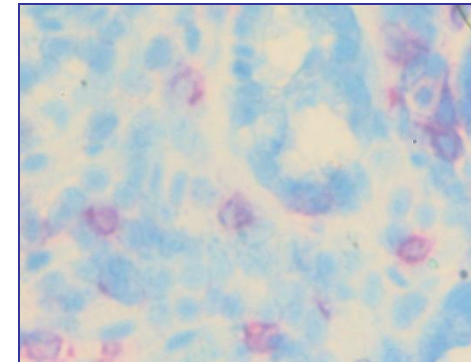
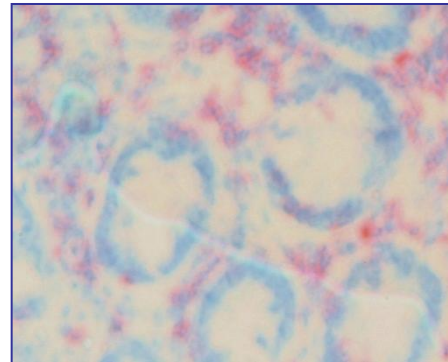


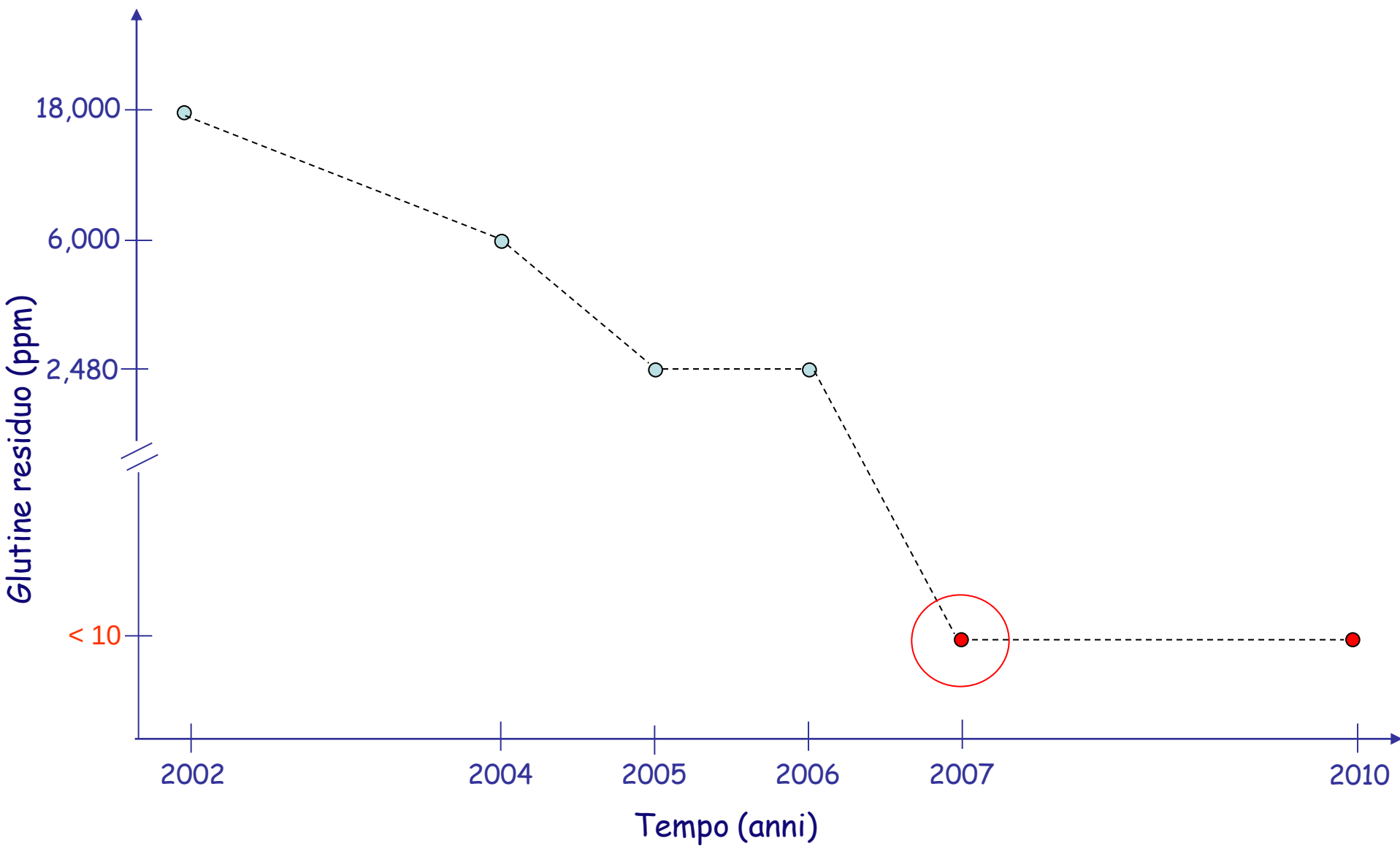
Rilascio zonulina (IEC-6)



Resistenza elettrica tissutale (TEER)

Immunofluorescenza della mucosa intestinale

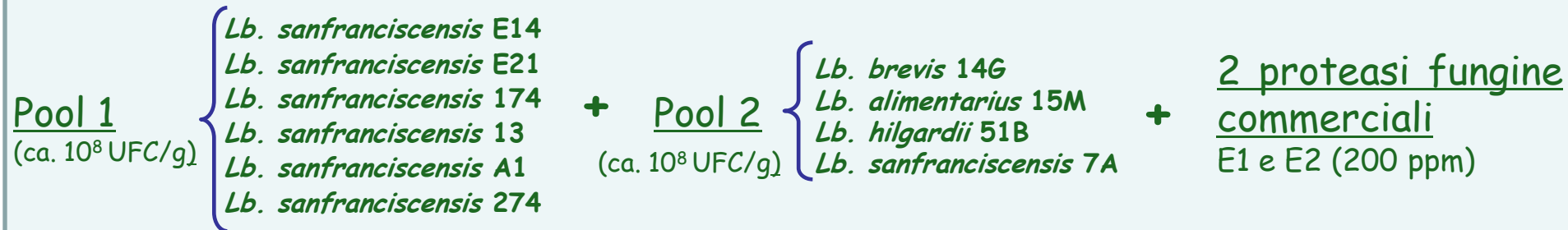




Highly Efficient Gluten Degradation by Lactobacilli and Fungal Proteases during Food Processing: New Perspectives for Celiac Disease[▽]

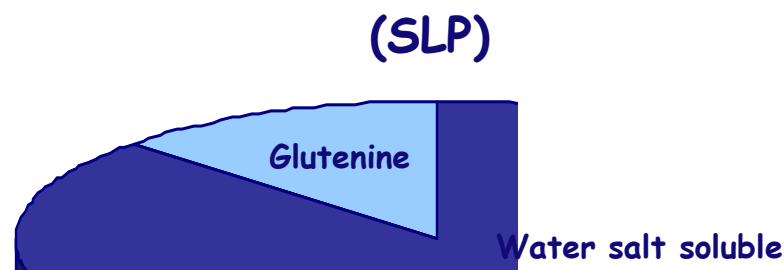
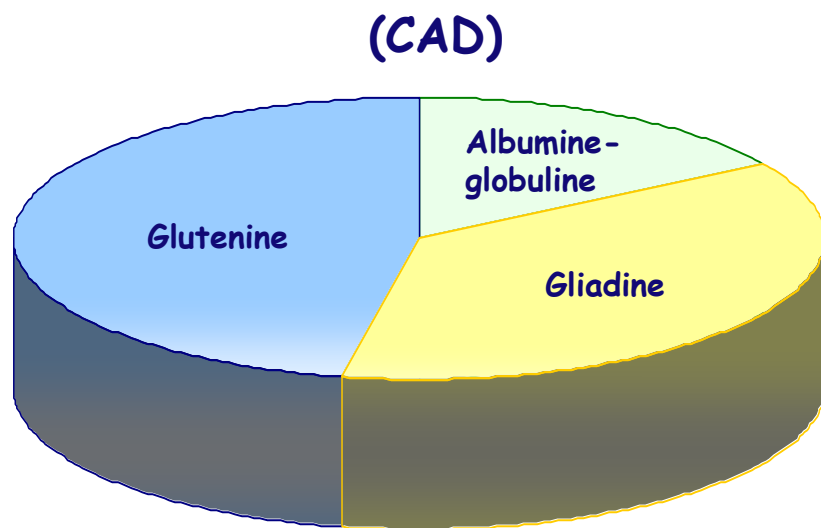
Carlo G. Rizzello,¹ Maria De Angelis,¹ Raffaella Di Cagno,¹ Alessandra Camarca,² Marco Silano,³ Ilario Losito,⁴ Massimo De Vincenzi,³ Maria D. De Bari,⁴ Francesco Palmisano,⁴ Francesco Maurano,² Carmen Gianfrani,² and Marco Gobbetti^{1*}

- ✓ Isolamento di batteri lattici da lievito naturale
- ✓ Selezione per l'attività peptidasi e ri-costituzione di un lievito naturale



Incubazione per 48 h a 37°C (ca. 200 rpm)



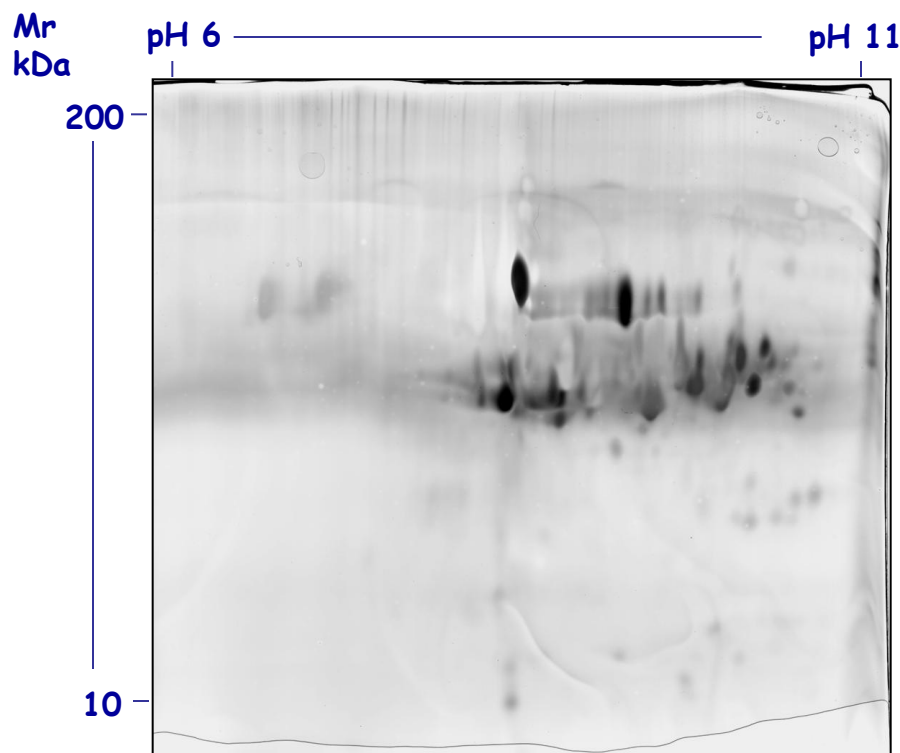


	CAD	SLP
Albumine e Globuline	0.29%	1.65%
Gliadine	0.66%	0.00%
Glutenine	0.83%	0.17%

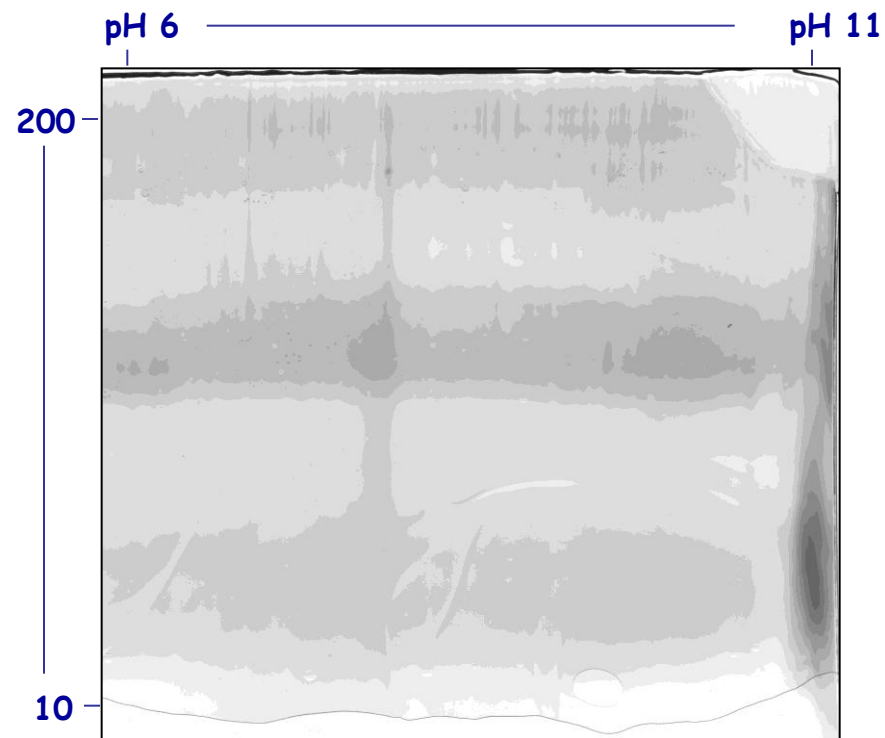
Concentrazione di azoto organico nelle diverse frazioni proteiche di farina *spray-dried* da impasti: controllo acidificato chimicamente (CAD), e fermentato con batteri lattici selezionati e proteasi fungine (SLP).

Analisi elettroforetica bidimensionale della frazione gliadinica di un impasto acidificato chimicamente (A) e un impasto fermentato (con il 20% di farina di frumento) con batteri lattici selezionati e proteasi per 48 h a 37°C (B)

(A)

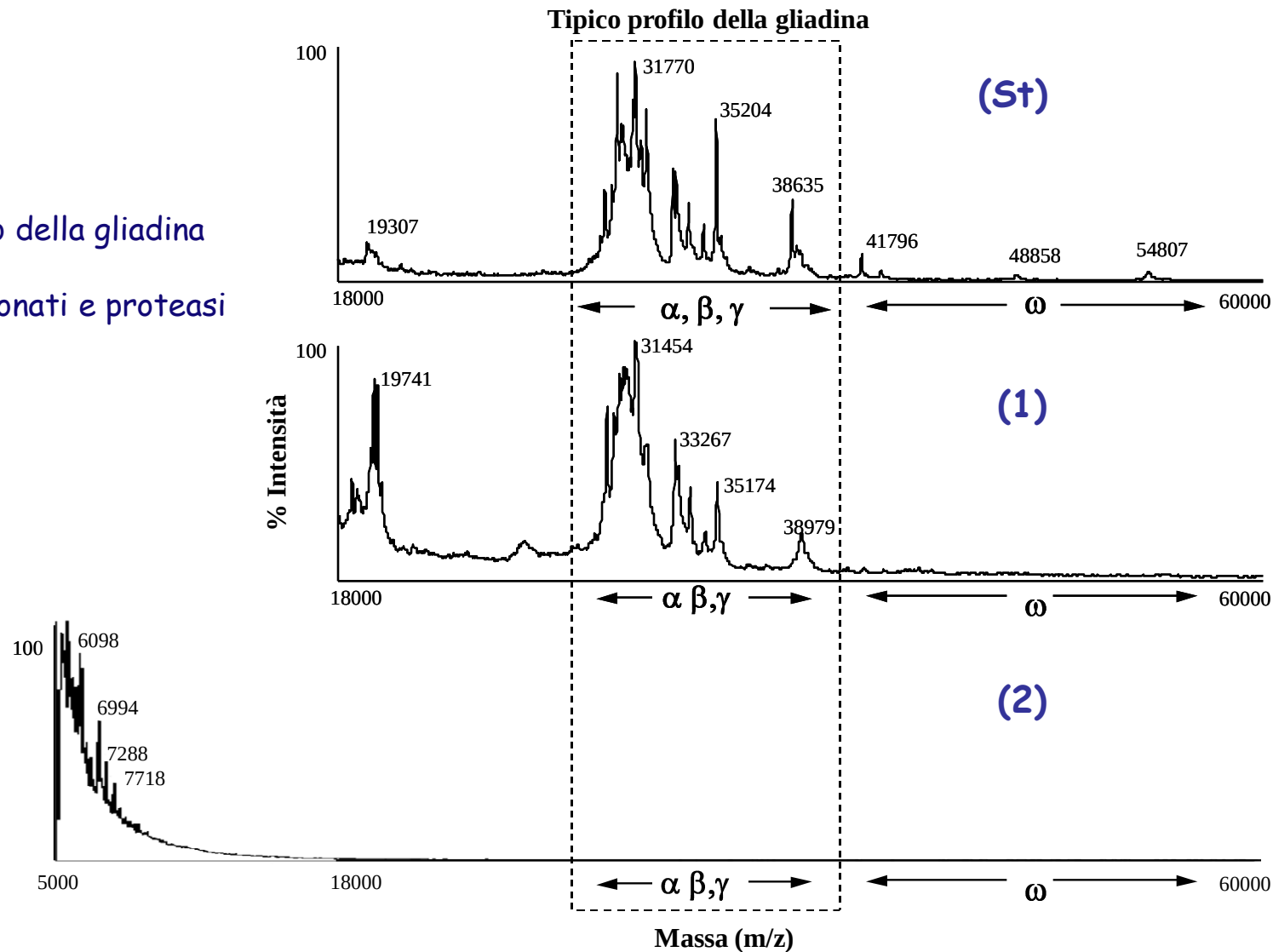


(B)

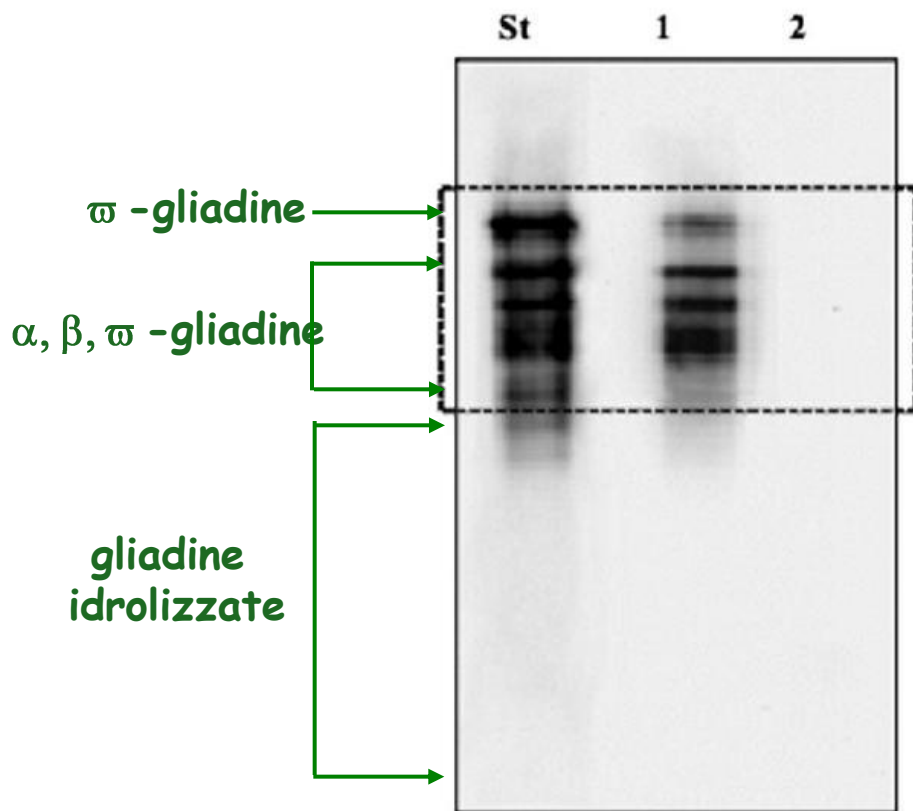


Spettri di massa MALDI-ToF

St, Standard Europeo della gliadina
1, CAD
2, Lattobacilli selezionati e proteasi



R5-Western blot



St, Standard europeo della gliadina ;
1, Lievito acidificato chimicamente;
2, Lievito fermentato (20% di farina di frumetno) con batteri lattici selezionati e protoneasi (SLP) per 48 h at 37°C

R5-ELISA

Campioni	Glutine (ppm)
CAD	18.700
SLP	<10

Altri cereali

Cultivar/specie	Glutine (ppm)
<i>Cultivar di frumento</i>	
<i>duro:</i>	<10
Arcangelo	<10
Ciccio	<10
Colosseo	<10
Gargano	<10
Duilio	<10
Simeto	<10
Svevo	<10
<i>Altre specie:</i>	
Segale	<10
Orzo	<10
Avena	<10



ALIMENTAZIONE

Dai laboratori di ricerca arriva il pane tollerato dai celiaci

Ricercatori dell'Università di Bari, Napoli e dell'Istituto superiore di sanità sono riusciti a produrre in laboratorio un pane ben tollerato dai pazienti celiaci. I risultati sono stati pubblicati ieri su «Applied and environmental microbiology». Nella ricetta: farina di frumento, avena, miglio e granturco impastata con acqua, batteri lattici selezionati e 2 grammi di glutine. Il tutto lasciato fermentare per 24 ore e pronto per essere cotto al forno. Questo pane avrebbe caratteristiche organolettiche e nutrizionali superiori a quelle dei pani speciali per celiaci attualmente in commercio. I risultati debbono essere però considerati ancora preliminari: la tolleranza del prodotto va confermata in



soggetti celiaci alimentati per più settimane. Esperimenti in tal senso sono già in corso. I test già condotti su 17 pazienti celiaci non hanno evidenziato modificazioni della permeabilità intestinale dopo assunzione di questo pane. Il segreto sarebbero i batteri lattici selezionati, capaci di modificare la frazione proteica di glutine tossica per i celiaci.

IL MATTINO
ECONOMIA



TESTATO SU DICIASSETTE PAZIENTI

È biotech il pane per i celiaci

Ricerca dell'università di Napoli. Fermentato con batteri lattici capaci di modificare il glutine



Pane tollerato per i celiaci, le persone intolleranti al glutine, proteina contenuta nel frumento, nella segale e nell'avena. Lo hanno messo a punto in laboratorio ricercatori della università di Bari e Napoli insieme ai colleghi dell'Istituto superiore di sanità. I risultati dei test sono stati pubblicati su «Applied and Environmental Microbiology».

Questa la ricetta: farina di frumento, avena, miglio e granturco impastata con acqua, batteri lattici selezionati e 2 grammi di glutine. Il tutto lasciato fermentare per 24 ore e pronto per essere cotto al forno. In questo modo i ricercatori del Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata dell'Università di Bari, in colla-

brazione con quelli dell'Istituto e del Dipartimento di Pediatria e Gastroenterologia dell'Università di Napoli, hanno messo a punto un pane tollerato dalle persone affette da celiachia. «Una biotecnologia tradizionale che prevede l'uso di lieviti naturali selezionati e lunghi tempi di fermentazione potrebbe rappresentare una strategia utile per la riduzione dell'intolleranza al glutine», afferma Marco Gobetti, dell'Università di Bari, Massimo De Vincenzi, dell'Università di Napoli e Salvatore Auricchio, dell'Università di Napoli.

Il pane così prodotto, non solo viene tollerato dai pazienti celiaci, ma presenta ulteriori caratteristiche organolettiche nutrizionali indubbiamente superiori a

quello dei pani speciali per celiaci attualmente in commercio. Tuttavia, sottolinea gli esperti, i risultati ottenuti debbono essere considerati ancora preliminari, in quanto la tolleranza del prodotto va confermata in soggetti celiaci alimentati per più settimane con questo tipo particolare di pane. Esperimenti in tal senso sono attualmente in corso ad opera degli

Per le persone intolleranti al glutine, il pane biotech

stessi ricercatori. I test già condotti su 17 pazienti celiaci non hanno evidenziato modificazioni della permeabilità intestinale dopo assunzione di questo pane. Il segreto di questo effetto biotecnologico sta nei batteri lattici selezionati capaci di modificare il glutine. In pratica, che il pane biotech per i celiaci, il pane tollerato, è una delle tante prove di successo della ricerca biotecnologica. I ricercatori hanno messo a punto un pane tollerato dai celiaci, che non solo è ben tollerato, ma è anche gustoso e nutriente. Il pane biotech è stato testato su 17 pazienti celiaci, e i risultati sono stati pubblicati su «Applied and Environmental Microbiology».

La ricerca biotecnologica per il pane tollerato dai celiaci, che non solo è ben tollerato, ma è anche gustoso e nutriente. Il pane biotech è stato testato su 17 pazienti celiaci, e i risultati sono stati pubblicati su «Applied and Environmental Microbiology».



Il prof. Marco Gobetti della facoltà di Agricoltura di Bari. (Foto: G. S. / A. S. / A. S.)

BIOTECNOLOGIE / Ricerca alla facoltà di Agricoltura

Ecco il pane di grano buono anche per celiaci

La ricerca biotecnologica per il pane tollerato dai celiaci, che non solo è ben tollerato, ma è anche gustoso e nutriente. Il pane biotech è stato testato su 17 pazienti celiaci, e i risultati sono stati pubblicati su «Applied and Environmental Microbiology».

La ricerca biotecnologica per il pane tollerato dai celiaci, che non solo è ben tollerato, ma è anche gustoso e nutriente. Il pane biotech è stato testato su 17 pazienti celiaci, e i risultati sono stati pubblicati su «Applied and Environmental Microbiology».

La ricerca biotecnologica per il pane tollerato dai celiaci, che non solo è ben tollerato, ma è anche gustoso e nutriente. Il pane biotech è stato testato su 17 pazienti celiaci, e i risultati sono stati pubblicati su «Applied and Environmental Microbiology».

LA STAMPA



Arriva il pane modificato tollerato dai celiaci

I ricercatori dell'Università di Bari, dell'Istituto superiore di sanità e dell'Università di Napoli sono riusciti a produrre in laboratorio un pane ben tollerato dai pazienti celiaci. I risultati sono stati pubblicati ieri su «Applied and environmental microbiology». Nella ricetta: farina di frumento, avena, miglio e granturco impastata con acqua, batteri lattici selezionati e 2 grammi di glutine. Il tutto lasciato fermentare per 24 ore e pronto per essere cotto al forno. In questo modo i ricercatori del Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata dell'Università di Bari, in colla-

brazione con quelli dell'Istituto e del Dipartimento di Pediatria e Gastroenterologia dell'Università di Napoli, hanno messo a punto un pane tollerato dalle persone affette da celiachia. «Una biotecnologia tradizionale che prevede l'uso di lieviti naturali selezionati e lunghi tempi di fermentazione potrebbe rappresentare una strategia utile per la riduzione dell'intolleranza al glutine», afferma Marco Gobetti, dell'Università di Bari, Massimo De Vincenzi, dell'Università di Napoli e Salvatore Auricchio, dell'Università di Napoli.

La ricerca biotecnologica per il pane tollerato dai celiaci, che non solo è ben tollerato, ma è anche gustoso e nutriente. Il pane biotech è stato testato su 17 pazienti celiaci, e i risultati sono stati pubblicati su «Applied and Environmental Microbiology».



Brevetto

G. Giuliani, A. Benedusi, R. Di Cagno, M. De Angelis, C. G. Rizzello, A. Cassone, M. Gobbetti. Procedimento di biotecnologia microbica per la completa degradazione di glutine nelle farine.
(n. ITRM2008A000690, 23/12 2008)

Estensione Internazionale

G. Giuliani, A. Benedusi, R. Di Cagno, M. De Angelis, C. G. Rizzello, A. Cassone, M. Gobbetti. Process of microbic biotechnology for degrading gluten in flours.
(Giuliani October 2011:EP2373173 A2)

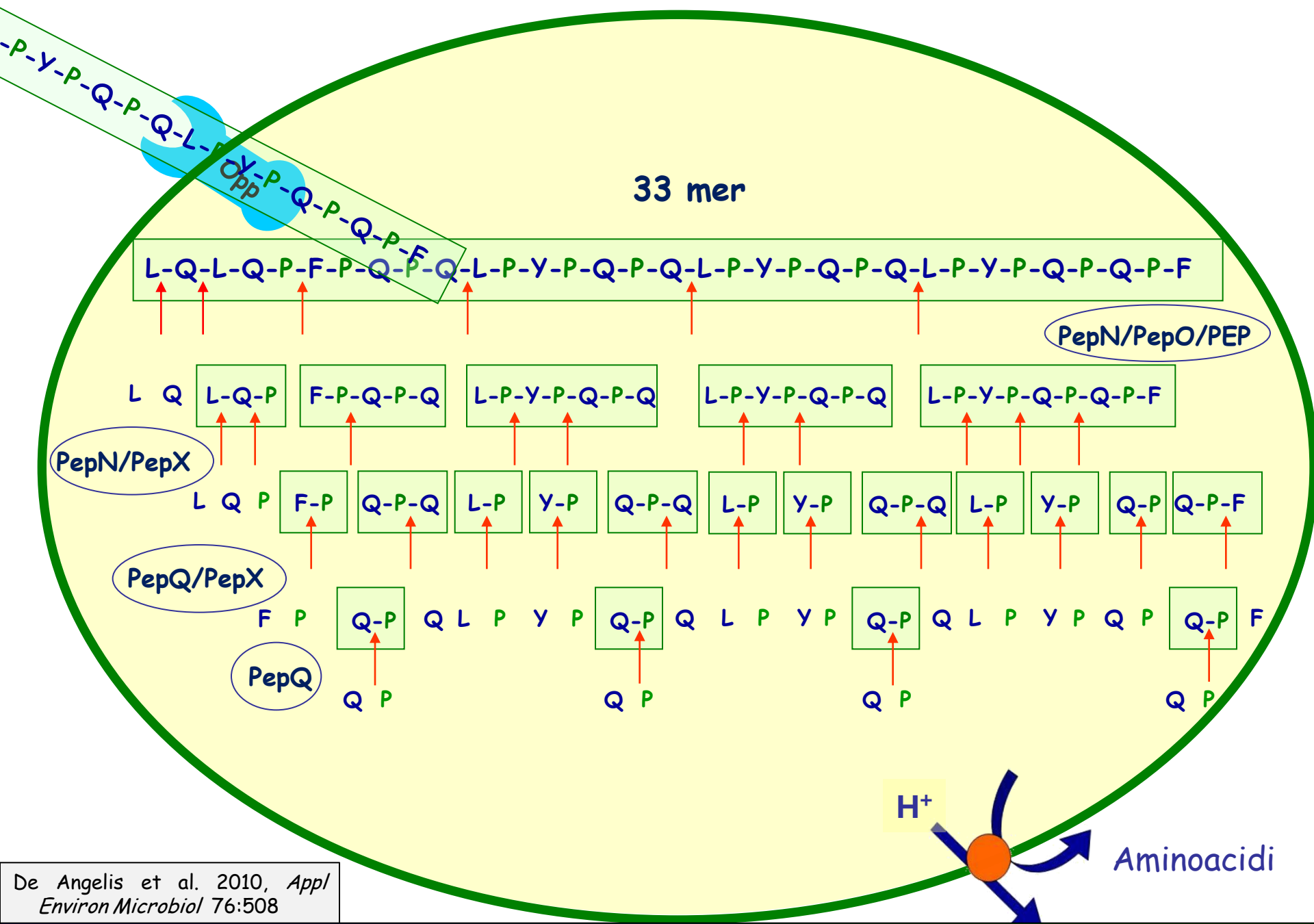
APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Jan. 2010, p. 508–518
0099-2240/10/\$12.00 doi:10.1128/AEM.01630-09
Copyright © 2010, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 76, No. 2

Mechanism of Degradation of Immunogenic Gluten Epitopes from *Triticum turgidum* L. var. *durum* by Sourdough Lactobacilli and Fungal Proteases[▽]

Maria De Angelis,¹ Angela Cassone,¹ Carlo G. Rizzello,¹ Francesca Gagliardi,² Fabio Minervini,¹
Maria Calasso,¹ Raffaella Di Cagno,¹ Ruggero Francavilla,² and Marco Gobbetti^{1*}





De Angelis et al. 2010, *Appl Environ Microbiol* 76:508

Challenge Clinico 1: Dipartimento di Pediatria, Sapienza - Università di Roma



S2BG

Farina detossificata mediante fermentazione
(pool S2 e proteasi fungine)



ANALISI IMMUNOLOGICHE E CHIMICHE SULLE FARINE

Produzione dei lievitati (muffin)

zucchero, uova, burro, crema di latte, vaniglia,
bicarbonato di Na

Impastamento (5 min) e cottura (160°C, 40 min)

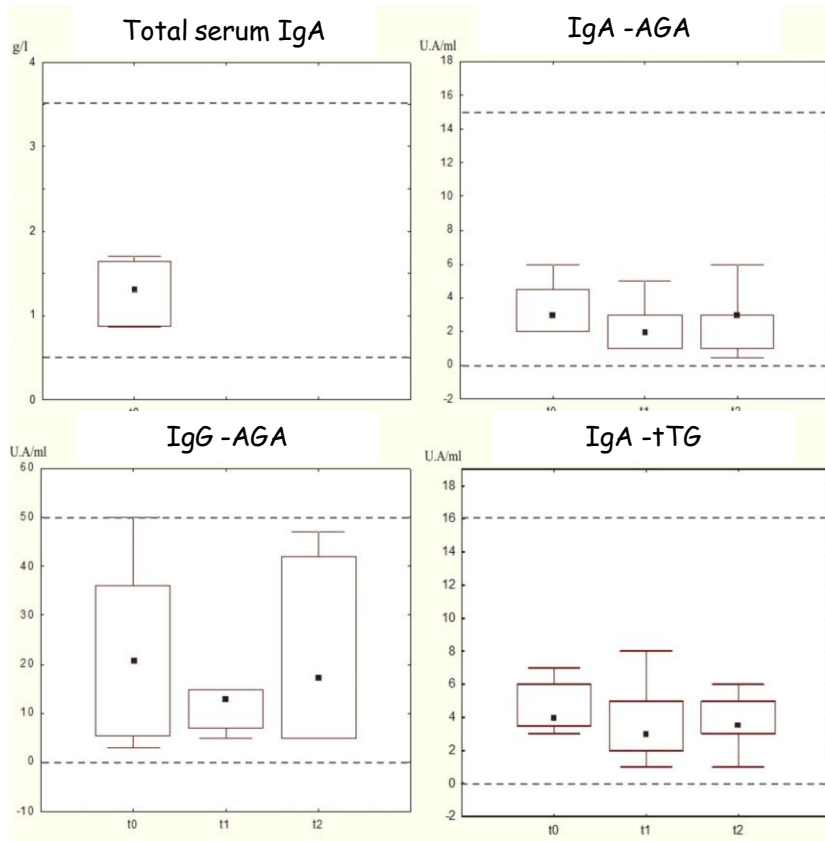
CHALLENGE CLINICO
8 pazienti (8-17 anni)

- Analisi ematologiche
- Analisi sierologiche
- Permeabilità intestinale

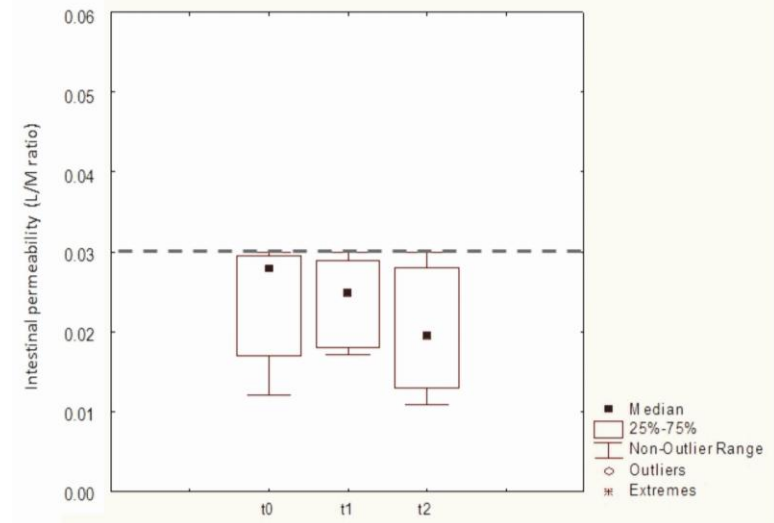
Tempi: t_0 - t_{30} - t_{60} gg



Analisi sierologiche a 0 (t0), 30 (t1), e 60 (t2) giorni di sperimentazione clinica.



Permeabilità intestinale a 0 (t0), 30 (t1), e 60 (t2) giorni di sperimentazione clinica.



Aggregate data are shown in box plots. The center line of the box represents the median (■), the top and bottom of the box represent the 75th and 25th percentile of the data, respectively. The top and bottom of the bars represent the 5th and 95th percentile of the data, respectively. Dotted line represents the reference cut-off value for healthy subjects.

ORIGINAL ARTICLE: HEPATOLOGY AND NUTRITION

Gluten-free Sourdough Wheat Baked Goods Appear Safe for Young Celiac Patients: A Pilot Study

*Raffaella Di Cagno, ¹Maria Barbato, ¹Chiara Di Camillo, *Carlo Giuseppe Rizzello, *Maria De Angelis, ⁴Giammaria Giuliani, ⁸Massimo De Vincenzi, *Marco Gobetti, and ¹Salvatore Cucchiara

Challenge Clinico 2: Dipartimento di Pediatria - Università di Napoli "Federico II"



S1BG



100 g farina idrolizzata
pool S1

S2BG



100 g farina idrolizzata
pool S2 e proteasi fungine

NFBG



100 g farina
controllo

ANALISI IMMUNOLOGICHE E CHIMICHE SULLE FARINE

Produzione dei lievitati

50 g burro, 50 g zucchero (saccarosio), 50 g acqua

Impastamento (5 min) e cottura (250°C, 15 min)

CHALLENGE CLINICO
17 pazienti 12-23 anni

- Analisi sierologiche,
- Analisi morfometriche
- Analisi immunochimiche



Tempi: t_0 - t_{30} - t_{60} gg



Stato clinico dei soggetti celiaci prima e dopo la sperimentazione clinica

tTG, anti-tissue transglutaminase antibodies; T0, normal duodenal mucosa; CD3, T1, architecturally normal duodenal mucosa with increased intraepithelial lymphocytes infiltration; and CD3, $\gamma\delta$ CD25 are markers for intraepithelial lymphocytes in duodenal mucosa,

	TIME	tTG	MARSH GRADE	CD3	$\gamma\delta$	CD25
F.I.	t ₀	1.6	T0	39	5.6	6
	t ₆₀	1.0	T0	38	8.6	5
I.C.	t ₀	1.9	T0	3.7	0.9	11
	t ₆₀	1.1	T0	11	3.8	9
R.R.	t ₀	0.3	T1	53	11.5	3
	t ₆₀	0.3	T1	56	17.8	4
I.I.	t ₀	0.5	T0	31	8.4	21
	t ₆₀	0.3	T0	36	12.8	21
C.C.	t ₀	0.4	T0	32	21	3
	t ₆₀	0.7	T0	47	18	7

Clinical Gastroenterology Hepatology

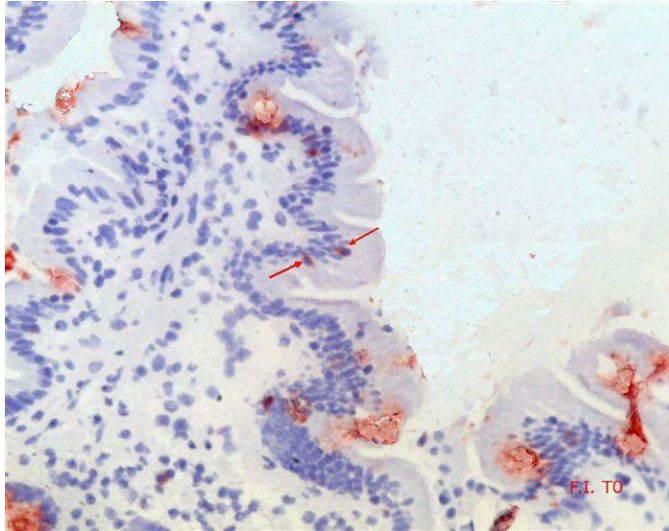
Safety for celiac patients of baked goods made of wheat flour hydrolyzed during food processing.

Greco L, Gobetti M, Auricchio R, Di Mase R, Landolfi F, Paparo F, Di Cagno R, De Angelis M, Rizzello CG, Cassone A, Terrone G, Timpone L, Aniello MD, Maglio M, Troncone R, Auricchio S.

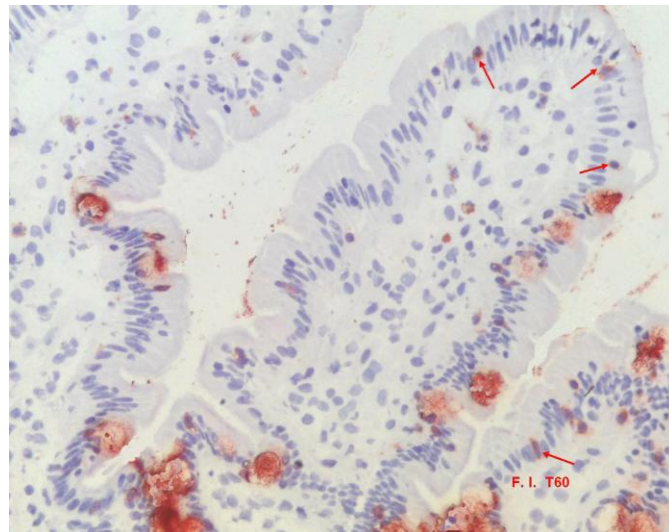
doi:10.1016/j.cgh.2010.09.025



Densità dei linfociti intraepiteliali $\sigma\delta^+$ in
biopsie di mucosa intestinale del
paziente 4 F.I. all'inizio (A) e dopo 60
giorni di sperimentazione clinica (B)



(A)



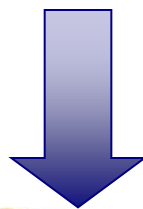
(B)

Deposito di IgA anti-transglutaminasi (Tg2)
nella mucosa intestinale

	TG2 deposits at time 0	TG2 deposits at time 60	χ^2
Natural gluten	1/5	5/5	$P=0.009$
Fully hydrolysis	2/5	1/5	$P=0.49$

Clinical Challenge 3: Pediatrics and European Laboratory for the Study of Food Induced Diseases University of Naples, Federico II, Italy

Farina detossificata mediante fermentazione
(pool S2 e proteasi fungine)



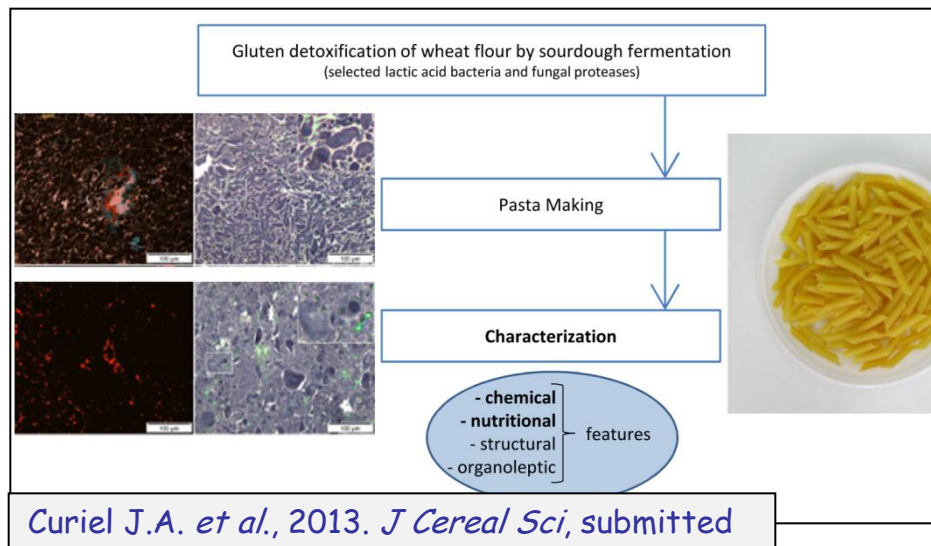
CHALLENGE CLINICO IN CORSO
20 pazienti (12-23 anni)

- Analisi sierologiche,
- Analisi morfometriche
- Analisi immunochimiche



Tempi: $t_0 - t_1 - t_2 - t_3 - t_4 - t_5 - t_6$ **MESI**

Pasta prodotta con farina di frumento detossificata

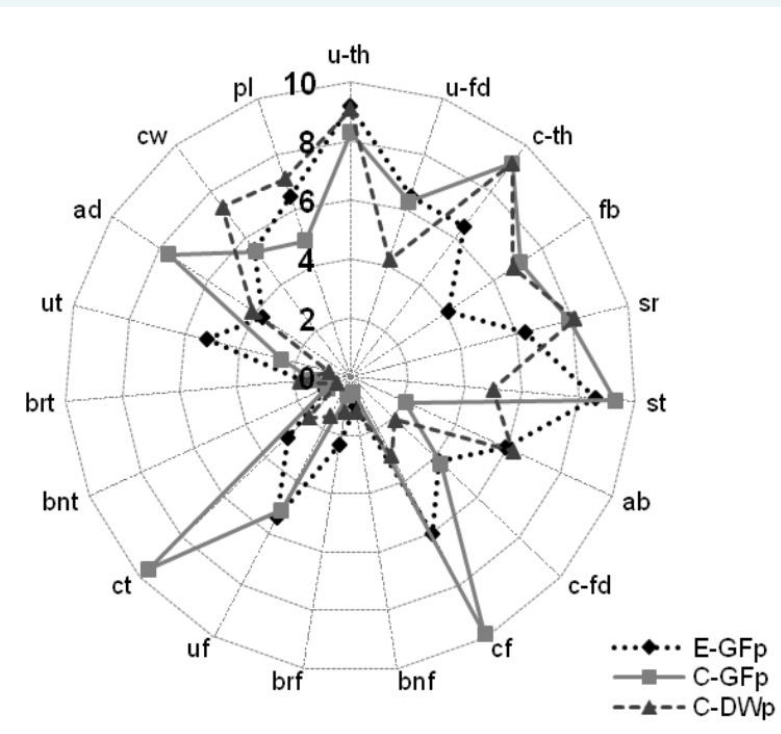


Textural Profile Analysis (Pasta cotta)

	E-GFp ¹	C-DWp	C-GFp
<i>Structural characteristics</i>			
Hardness (N)	4.90 ± 0.11 ^b	5.10 ± 0.12 ^c	3.50 ± 0.08 ^a
Cohesiveness	0.76 ± 0.03 ^a	0.81 ± 0.02 ^b	0.76 ± 0.01 ^a
Resilience	0.34 ± 0.04 ^a	0.55 ± 0.01 ^b	0.36 ± 0.02 ^a
Springiness	0.48 ± 0.02 ^a	0.62 ± 0.02 ^b	0.50 ± 0.01 ^a
Gumminess (N)	3.72 ± 0.03 ^b	4.13 ± 0.03 ^c	2.66 ± 0.02 ^a
Chewiness (N)	1.79 ± 0.02 ^b	2.56 ± 0.02 ^c	1.33 ± 0.03 ^a

**Caratteristiche intermedie ai controlli
o simili alla pasta C-GF**

Analisi sensoriale



**Caratteristiche strutturali e
organolettiche gradevoli, sapidità,
gusto acido intensi.**

¹E-GFp: pasta gluten free sperimentale;

C-GFp: pasta gluten free commerciale;

C-DWp: pasta di semola di grano duro, controllo.



Pretrattamento del glutine nativo: prodotti gluten-free

Pretrattamento del glutine nativo



Naturalmente senza glutine



Versus

- Migliore profilo organolettico e palatabilità
- Migliore volume e caratteristiche reologiche
- Elevata digeribilità delle proteine e ridotto apporto calorico
- Elevata biodisponibilità di aminoacidi essenziali
- Maggiore biodisponibilità di minerali, vitamine e fibre



"Illusion" Escher, 1974



2013



"Development" Escher, 1939

