

Panes a partir de masas fermentadas con bacterias ácido lácticas: actividad proteolítica, evaluación fisicoquímica y digestibilidad proteica

L. Carrillo-Ruiz, A. Totosa-Sánchez, M.A. Martínez-Trujillo, y M.E. Rodríguez-Huezo.
Posgrado en Ciencias en Ingeniería Bioquímica, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Av. Tecnológico s/n, Col. Valle de Anáhuac, Ecatepec de Morelos, Estado de México, C.P. 55210, México.
eva_rodriguez_huezo@hotmail.com

RESUMEN: Se elaboraron panes de masa ácida utilizando las bacterias ácido lácticas (BAL) *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* y *B. lactis*, y se determinó la composición química, volumen específico, propiedades texturales, color y microestructura del pan, y propiedades viscoelásticas de las masas, en comparación con las de un pan control sin incorporación de BAL. No hubo diferencia significativa entre los panes respecto al contenido de humedad, cenizas, grasa y proteína. El pan control tuvo un volumen específico mayor que los panes elaborados con BAL. Todas las masas tuvieron un comportamiento predominantemente elástico con $G' \gg G''$, y todos los panes hechos con BAL exhibieron mayores parámetros viscoelásticos que el control, con *L. acidophilus* exhibiendo mayor G' en todo el rango de frecuencia. El parámetro textural de dureza fue el más afectado, y fue significativamente mayor para los panes con BAL que para el control. La digestibilidad proteica *in vitro* aumentó significativamente de 78.85 ± 0.99 para el control, a 88.73 ± 0.97 para *B. lactis*, a 90.46 ± 0.37 para *L. rhamnosus*, a 92.58 ± 0.14 para *L. acidophilus*.

Palabras clave: Bacterias ácido lácticas, digestibilidad proteica, pan.

ABSTRACT: Sourdough bread was manufactured using the lactic acid bacteria (LAB) *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* and *B. lactis*. The chemical composition, specific volume, textural properties, color and microstructure of sourdough bread and the viscoelastic properties of the sourdough were determined and compared to those of control bread and dough without added BAL. Breads did not show significant differences in moisture, ash, fat and protein contents. The control bread had a significant higher specific volume than the LAB sourdough breads. All the doughs had a predominant elastic behavior with $G' \gg G''$, and the sourdoughs exhibited superior viscoelastic parameters than the control dough, with *L. acidophilus* exhibiting the highest G' over the whole frequency range. The textural parameter of hardness was the most affected, and its value was significantly higher for the sourbreads than for the control. The *in vitro* protein digestibility increased significantly from 78.85 ± 0.99 for the control, to 88.73 ± 0.97 for *B. lactis*, to 90.46 ± 0.37 for *L. rhamnosus*, to 92.58 ± 0.14 for *L. acidophilus*.

Key words: Lactic acid bacteria, protein digestibility, bread.

Área: Cereales, leguminosas y oleaginosas

INTRODUCCIÓN

Por muchos años el pan ha sido uno de los principales constituyentes de la dieta humana, elaborar pan de masas fermentadas con levaduras es uno de los procesos biotecnológicos más antiguos².

Dicho proceso se divide en tres etapas principalmente: mezclado, fermentado y horneado. Durante todas las etapas de producción de pan, ocurren cambios químicos, bioquímicos y transformaciones físicas; las proteínas son los componentes que tecnológicamente son más importantes y que determinan la calidad del producto terminado⁴.

Los panes elaborados mediante fermentación microbiana ácido láctica poseen propiedades reológicas diferentes a los panes no acidificados, ya que además de mejorar la calidad del pan, prolongando su vida útil por inhibición de microorganismos, mejoran las características sensoriales como: color, olor y sabor; además, incrementa la calidad nutricional debido a la hidrólisis de las proteínas que se lleva a

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

cabo durante la fermentación, haciendo panes más digeribles, los cuales son recomendados para personas con problemas digestivos⁵.

Al utilizar Bacterias Ácido Lácticas (BAL) como: *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* y *B. lactis*, la actividad proteolítica incrementa, con ello se liberan compuestos de bajo peso molecular como los aminoácidos y péptidos, produciendo panes más asimilables y de mejores características sensoriales⁵.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente trabajo se utilizaron bacterias ácido-lácticas *L. acidophilus* La-14, *B. lactis* HN019 y *L. rhamnosus* Lr-32, que fueron proporcionadas por Danisco DuPont México. Harina de trigo (Tres estrellas San Antonio), levadura liofilizada (Tradi-pan) y manteca vegetal (Inca) fueron compradas en un mercado local. Los reactivos utilizados fueron adquiridos en Sigma-Aldrich México. Cada formulación fue adicionada con 2×10^{11} ufc/g de harina (tabla I).

Las masas fueron fermentadas a 30°C en tres etapas realizando un laminado entre cada una a los tiempos de 90, 30 y 40 minutos.

Para la reología de las masas fermentadas se utilizó un Modular Compact Rheometer (PHYSICA MCR 300), para determinar los módulos elásticos y viscosos.

Ingrediente	% Base harina			
	Control	<i>L. acidophilus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>L. rhamnosus</i>
Harina de trigo	100	100	100	100
Azúcar morena	58	58	58	58
Manteca vegetal	3	3	3	3
Levadura	2	2	2	2
Sal	2	2	2	2
Agua	58	58	58	58
BAL	----	1.33	2	1

Los análisis fisicoquímicos determinados fueron contenido de humedad (Metodo AOAC 925.10, 2000), cenizas (Metodo AOAC 923.03, 2000), grasas (Metodo AOAC 922.06, 2000), proteína por método Kjeldahl (AOAC 920.87,2000), volumen específico (Metodo 10-05 de la AACC, 2000), Análisis de Perfil de Textura (APT) determinado con un texturómetro (Brookfield LFRA Texture Analyzer) para obtener los parámetros de dureza, cohesividad, elasticidad, resiliencia y masticabilidad; microestructura de los panes, por microscopía electrónica de barrido mediante un microscopio electrónico de barrido de alto vacío JEOL JMS-6360LY (Jeol Ltd., Akishima, Japan), a 20Kv, análisis de color utilizando un colorímetro AccuProbeHH06 obteniendo los parámetros L* indica la luminosidad (variando desde 0% para negro y 100% para blanco), el componente cromático a* indica variación entre rojo (+a) y verde (-a), b* señala variación entre amarillo (+b) y azul (-b).

En la digestibilidad proteica in vitro del pan, las muestras de los panes, previamente horneados a 180°C por 15 min, fueron puestos a temperatura de cuarto durante 24 h. Posteriormente, fueron deshidratadas, molidas y cernidas a través de un tamiz 0.4 mm para consecutivamente ser extraídas durante 1 hora con 20 ml de buffer PBS. La digestibilidad in vitro se determinó con base a lo reportado por Swieca, 2012. El contenido de proteína se determinó con el método de Bradford (Bradford, 1976), utilizando albúmina de suero bovino como proteína estándar. La digestibilidad de la proteína in vitro se evaluó sobre la base del contenido de proteína soluble total y el contenido de proteína determinado después de la digestión in vitro.

$$\%DP = 100\% - \left(\frac{Pr}{Pt}\right) * 100$$

Dónde: DP - digestibilidad de proteínas in vitro; Pt - contenido total de proteínas; Pr - contenido de proteínas después de la digestión in vitro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las masas de las diferentes formulaciones presentaron módulos más elásticos (G') que viscosos (G'') en el rango de deformación utilizado, lo que confirma que las masas adicionadas con BAL presentan un buen comportamiento viscoelástico, ya que de acuerdo con Magaña-Barajas *et al.*, (2009) un alto valor de G' sugiere una fuerza mayor en la masa dada por las proteínas (figura 1).

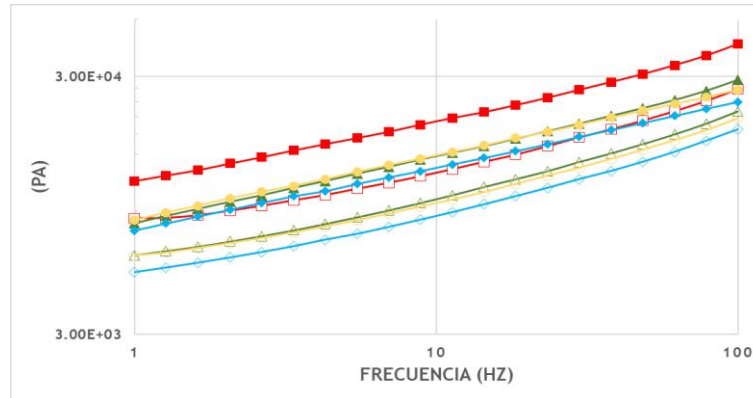


Figura 1. Módulos viscosos y elásticos. Los símbolos abiertos corresponden al módulo viscoso G'' mientras que los cerrados al módulo elástico G' : ■, *L. acidophilus*; ●, *L. rhamnosus*; ▲, *B. lactis*; Control.

Los panes analizados no presentaron diferencia significativa en el análisis fisicoquímico (Tabla II). Esto era de esperar ya que la cantidad y calidad de materias primas no fue modificada.

Tabla II. Contenido de Humedad, cenizas, grasas y proteínas de los panes (%).

Panes	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteína
Control	37.36 ± 0.33 ^a	1.76 ± 0.03 ^a	2.68 ± 0.25 ^a	9.04 ± 0.09 ^a
<i>L. acidophilus</i>	37.07 ± 0.38 ^a	1.75 ± 0.06 ^a	2.92 ± 0.09 ^a	9.03 ± 0.04 ^a
<i>B. lactis</i>	37.56 ± 0.20 ^a	1.74 ± 0.02 ^a	2.67 ± 0.16 ^a	9.06 ± 0.05 ^a
<i>L. rhamnosus</i>	37.43 ± 0.51 ^a	1.75 ± 0.06 ^a	2.67 ± 0.21 ^a	9.03 ± 0.04 ^a

En la figura 2 se observa el volumen específico, el pan Control fue el más alto. Esto puede atribuirse a que la actividad de la levadura pudo haber disminuido por la acidez y metabolitos producidos por las BAL. El volumen específico del pan se considera como uno de los criterios más importantes en la evaluación de la calidad del pan ya que proporciona mediciones cuantitativas del rendimiento de la cocción².

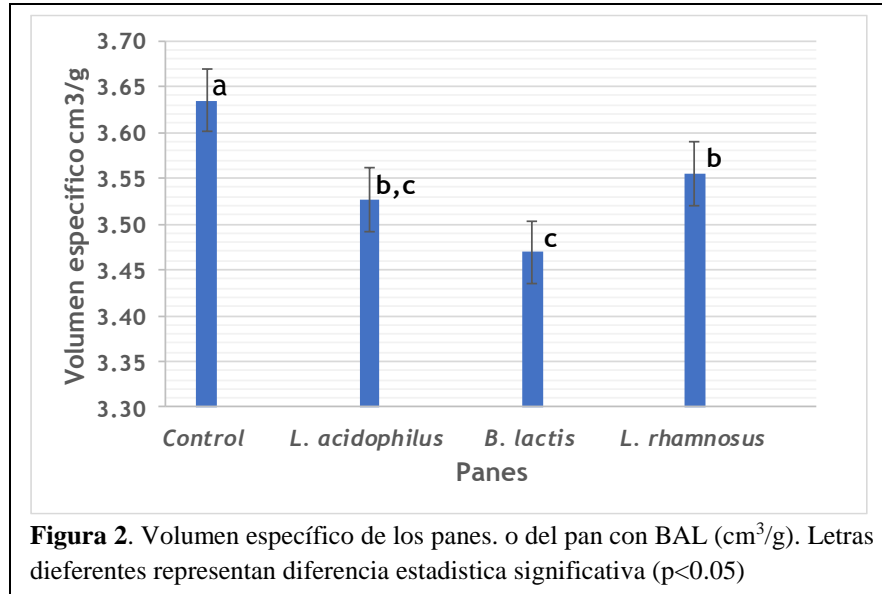


Figura 2. Volumen específico de los panes. o del pan con BAL (cm³/g). Letras diferentes representan diferencia estadística significativa (p<0.05)

En la tabla III se muestran los resultados obtenidos del APT para los cuatro panes elaborados. Existió diferencia significativa en dureza, siendo diferentes el pan control y el adicionado con *L. rhamnosus* respecto a *L. acidophilus* y *B. lactis*, resultando más duros los últimos. No existió diferencia significativa en el resto de los parámetros.

Tabla III. Análisis de perfil de textura de los panes con BAL.

Panes	Dureza (N)	Cohesividad	Elasticidad (mm)	Resiliencia	Masticabilidad (Nmm)
Control	0.87 ± 0.20 ^b	0.83 ± 0.07 ^a	1.50 ± 0.35 ^a	0.50 ± 0.01 ^a	1.64 ± 0.52 ^a
<i>L. acidophilus</i>	1.44 ± 0.43 ^a	0.84 ± 0.09 ^a	1.78 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.01 ^a	1.51 ± 0.29 ^a
<i>B. lactis</i>	1.53 ± 0.17 ^a	0.94 ± 0.16 ^a	1.66 ± 0.06 ^a	0.55 ± 0.06 ^a	1.15 ± 0.17 ^a
<i>L. rhamnosus</i>	1.23 ± 0.26 ^a	0.88 ± 0.09 ^a	1.75 ± 0.05 ^a	0.51 ± 0.01 ^{a b}	1.39 ± 0.25 ^a

En la tabla IV se muestran los valores de L, a* y b* obtenidos para cada uno de los panes elaborados. Existió diferencia significativa entre los tratamientos, la corteza del pan adicionado con *L. acidophilus* fue más luminoso y diferente a los demás. Los panes adicionados con BAL fueron más amarillos que el control y no existió diferencia significativa respecto al a*.

Respecto a la miga, los panes adicionados con *L. rhamnosus* fueron diferentes a los demás y de mayor luminosidad, además la miga de los panes adicionados con *B. lactis* y *L. rhamnosus* fueron igualmente amarillos que el control, no existió diferencia significativa en el parámetro a*.

Tabla IV. Análisis de color en corteza y miga de los panes.

Panes	Corteza			Miga		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Control	48.07 ± 1.39 ^{bc}	6.13 ± 0.53 ^a	30.53 ± 1.00 ^c	75.43 ± 0.41 ^b	2.99 ± 0.38 ^b	21.12 ± 0.35 ^a
<i>L. acidophilus</i>	53.34 ± 0.40 ^a	6.20 ± 0.09 ^a	33.86 ± 0.34 ^a	75.34 ± 0.94 ^b	3.29 ± 0.47 ^b	20.30 ± 0.19 ^b
<i>B. lactis</i>	47.45 ± 0.32 ^c	6.49 ± 0.32 ^a	32.53 ± 0.68 ^b	76.26 ± 1.48 ^b	3.33 ± 0.15 ^b	21.08 ± 0.65 ^a
<i>L. rhamnosus</i>	48.69 ± 0.26 ^b	6.65 ± 0.40 ^a	31.91 ± 0.28 ^b	78.78 ± 0.80 ^a	3.73 ± 0.41 ^{ab}	20.54 ± 0.47 ^{ab}

Al adicionar BAL a las masas, la actividad proteolítica en los panes incremento, con ello se liberaron compuestos de bajo peso molecular como los aminoácidos y péptidos, que facilitan la digestibilidad de las proteínas. Existió diferencia significativa en la actividad de las BAL, siendo *L. acidophilus* la de mayor actividad (Tabla V).

Tabla V. Digestibilidad proteica en los panes adicionados con BAL.	
Panes	Digestibilidad (%)
Control	78.85 ± 0.99 ^d
<i>L. acidophilus</i>	92.58 ± 0.14 ^a
<i>B. lactis</i>	88.73 ± 0.97 ^c
<i>L. rhamnosus</i>	90.46 ± 0.37 ^b

En las imágenes de la microestructura del pan se puede observar que el pan control presenta los gránulos de almidón menos embebidos en la matriz proteica y con más espacios vacíos, que pudieran ser los alveolos conteniendo el CO₂ producido por la levadura y las BAL, lo cual pudo haber contribuido a obtener un pan menos duro y con mayor volumen (Figura 3).

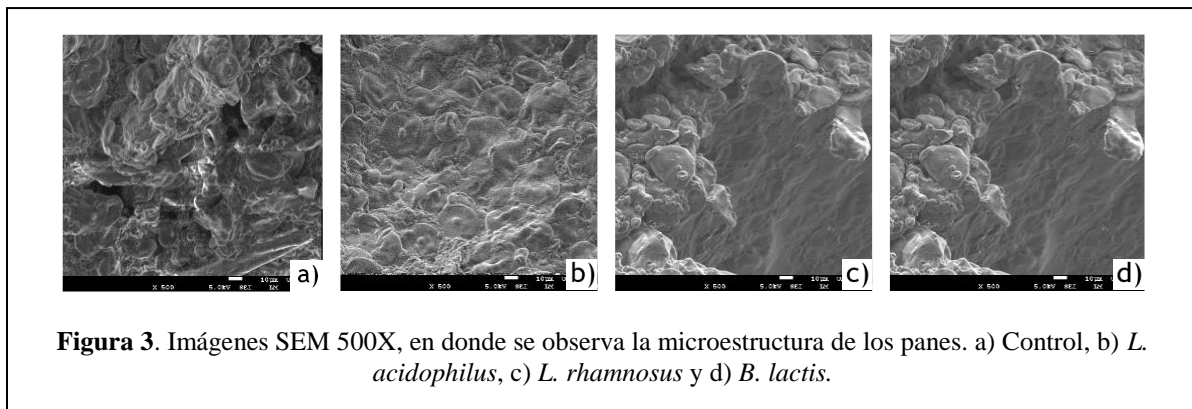


Figura 3. Imágenes SEM 500X, en donde se observa la microestructura de los panes. a) Control, b) *L. acidophilus*, c) *L. rhamnosus* y d) *B. lactis*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bradford, M. 1976. A rapid a sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dry binding. *Analytical Biochemistry*, 7(72), 248-254.
2. Chaquilla, G., Balandrá, R., Mendoza, A. & Mercado, J. 2018. Propiedades y posibles aplicaciones de las proteínas de salvado de trigo. *CienciaUAT*, 12(2), 137-147.
3. Magaña-Barajas, E., Ramírez-Wong, B., Platt-Lucero, L., López-Ahumada, G., Torres, P. & Sánchez-Machado, D. 2009. Caracterización viscoelástica de masas de variedades de trigos suaves. *Tecnología, Ciencia, Educación*, 24(1), 12-22.
4. Quiltran, V., Reyes, M., Alborno, D. & Pinheiro, A. 2015. Salt content and sensory quality of bread. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(3), 291-296.
5. Santos, A. 2017. Evaluación de la viabilidad de las Bacterias Acido Lacticas en dos productos alimenticios (tesis de pregrado). Facultad de Ciencias de la Nutrición de alimentos, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
6. Swieca, M., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Baraniak, B. & Czyn, J. (2013). The influence of the protein-flavonoid interaction of de protein digestibility in vitro and the antioxidant quality of breads enriched with onion skin. *Food Chemistry*, 141, 451-458.