



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**MAESTRÍA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS**

**TESIS**

**EFFECTO DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN SOBRE LA  
VELOCIDAD DE HIDRÓLISIS DE PROTEÍNA Y ALMIDÓN  
EN UN PAN A BASE DE TRIGO ELABORADO POR  
ADICIÓN DE MASA MADRE**

**Para obtener el grado de  
Maestra en Ciencia de los Alimentos**

**PRESENTA**

L. N. Paulina Terrazas Avila

**Director**

Dr. Apolonio Vargas Torres

**Comité tutorial**

Dr. Juan Pablo Hernández Uribe  
Dra. Heidi María Palma Rodríguez  
Dr. Ricardo Omar Navarro Cortez

Tulancingo de Bravo, Agosto 2023



**COORDINACION DE INVESTIGACION Y POSGRADO DEL ICAP**

**Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos  
Apertura:**

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: **"Efecto del tiempo de fermentación sobre la velocidad de hidrólisis de proteína y almidón en un pan a base de trigo leudado con masa madre"**, que desarrolla la estudiante L.N. Paulina Terrazas Avila

**Asistentes:**

**Dr. Apolonio Vargas Torres**

**Dra. Heidi María Palma Rodríguez**

**Dr. Ricardo Omar Navarro Cortez**

**Dr. Juan Pablo Hernández Uribe**

**A. Revisión de Trabajo de Tesis**

**Observaciones:**

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la estudiante, L.N. Paulina Terrazas Avila, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

**B. Acuerdos**

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

**ATENTAMENTE**

**"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"**

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 07 de julio de 2023.

**Dr. Apolonio Vargas Torres**

**Dra. Heidi María Palma Rodríguez**

**Dr. Ricardo Omar Navarro Cortez**

**Dr. Juan Pablo Hernández Uribe**



Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Aquetzalpa,  
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600  
Teléfono +52 (771) 71 72000 ext. 2448  
maestria\_alimentos@uaeh.edu.mx



El presente trabajo se llevó a cabo en el Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo en los laboratorios de Microbiología, fisicoquímica y análisis especiales, y la panadería Maillard en Tulancingo, Hidalgo, bajo la dirección del Dr. Apolonio Vargas Torres. Para la realización de los estudios se contó con el apoyo económico de CONACYT (con numero de CVU 1149294).

## **Agradecimientos**

Agradezco en primer lugar a Dios por permitirme vivir cada experiencia y lograr cada objetivo propuesto, por mostrarme una vez más que todo de su mano es posible y por cada día regalarme una nueva oportunidad de aprendizaje, enseñanzas y experiencias.

A mis padres por ser los principales pilares en mi vida y brindarme su apoyo en todo momento, por enseñarme a no rendirme nunca y guiarme siempre con su ejemplo. Gracias a mis hermanos por sus enseñanzas y apoyo.

A mi novio Francisco Javier por escucharme y estar a mi lado durante este proceso, por mostrarme siempre su apoyo y darme ánimos de seguir adelante a pesar de lo complicado que pudo ser para los dos.

Quiero agradecer especialmente a mi director de tesis el Dr. Apolonio Vargas Torres por creer en mí y darme la oportunidad de llevar a cabo este trabajo de investigación, pero sobre todo el apoyo, la motivación y el conocimiento transmitido.

A mis asesores el Dr. Juan Pablo Hernández Uribe, Dr. Ricardo Omar Navarro Cortez y la Dra. Heidi María Palma Rodríguez que siempre estuvieron dispuestos a resolver mis dudas y asesorarme durante este proceso.

Al Dr. Javier Piloni Martini por el espacio y los medios recibidos durante el proceso experimental. Así como, a todos los profesores que participaron en mi formación durante este periodo de maestría.

No puedo dejar de mencionar a mis compañeros de laboratorio Betty, Jaque, Román, Sylvia, Maru y Ciro por el apoyo y consejos que estuvieron dispuestos a compartir, así como, las gratas experiencias a su lado.

## CONTENIDO

ÌNDICE DE TABLAS.....	I
ÌNDICE DE FIGURAS .....	II
Resumen.....	III
I. Introducción.....	1
II. Antecedentes .....	3
2.1. Trigo.....	3
2.1.1. Principales usos del trigo .....	3
2.2. Pan.....	5
2.3. Trastornos relacionados con el gluten .....	6
2.3.1. Enfermedad celíaca (EC).....	6
2.3.2. Alergia al trigo.....	7
2.3.3. Sensibilidad al gluten no celíaca.....	7
2.3.4. Enfermedades inflamatorias intestinales .....	7
2.4. Cultivo de masa madre .....	8
2.4.1. Bacterias ácido-lácticas (BAL) .....	9
2.4.2. Beneficios de la masa madre.....	10
2.4.2.1. <i>Mejora de las propiedades físicas</i> .....	10
2.4.2.3. <i>Propiedades del almidón</i> .....	14
2.5. Investigaciones realizadas con masa madre.....	17
III. Planteamiento del Problema .....	19
IV. Justificación .....	20
V. Objetivos.....	21
6.1. Objetivo general.....	21
6.2. Objetivos específicos .....	21

VI. Materiales y métodos.....	22
6.1. Materiales.....	22
6.2. Fermentación de masa madre .....	22
6.3. Caracterización de la masa.....	23
6.4. Elaboración de los panes.....	23
6.5. Composición química proximal .....	24
6.6. Propiedades físicas y de textura .....	24
6.7. Liofilización de las muestras .....	26
6.8. Digestibilidad de proteína in vitro .....	26
6.9. 6.6.1 Electroforesis .....	26
6.7 Digestibilidad de almidón .....	27
<b>6.7.1 Análisis rápido de viscosidad</b> .....	30
<b>6.7.2 Difracción de rayos X</b> .....	30
6.8 Análisis estadístico.....	31
Resultados y discusión.....	32
7.1 Cuantificación de BAL, levaduras y determinación de pH en el cultivo de masa madre.....	32
7.2 Análisis químico proximal en muestras de pan de masa madre .....	36
7.3 Análisis de perfil de textura .....	38
7.4 Análisis de color .....	44
7.5 Porcentaje de digestibilidad de proteína <i>in vitro</i> (IVPD) .....	49
7.6 Electroforesis .....	51
7.7 Digestibilidad de almidón .....	54
<b>7.7.1 Perfil de viscosidad</b> .....	59
<b>7.7.2 Difracción de rayos X</b> .....	63

7.8 Correlación lineal de Pearson .....	66
Conclusión.....	71
Referencias .....	72

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del trigo EN 100 G .....	4
Tabla 2. Estudios realizados con cultivos de masa madre .....	18
Tabla 3. Formulación de los tratamientos.....	25
Tabla 4. Caracterización de BAL, levaduras y pH en cultivo de masa madre tipo I33	
Tabla 5. Análisis químico proximal en 100 g de muestra de pan de levadura y masa madre a diferentes horas de fermentación .....	37
Tabla 6. Análisis de perfil de textura (TPA) en panes de masa madre a diferentes horas de fermentación y días de almacenamiento $\Delta$ a 25 y 4 °C .....	40
Tabla 7. Luminosidad (L*) y cambio de color ( $\Delta E$ ) en panes de levadura y masa madre a diferentes horas de fermentación y días de almacenamiento .....	46
Tabla 8. <i>Porcentaje de digestibilidad en harina de trigo, pan de levadura y panes de masa madre a diferentes horas de fermentación a 25 °C y 4 °C.....</i>	50
Tabla 9. Digestibilidad de almidón (%) en panes de masa madre con diferentes horas de fermentación y días de almacenamiento .....	56
Tabla 10. Propiedades de pegado de las formulaciones con diferentes horas de fermentación y días de almacenamiento en panes de masa madre .....	60
Tabla 11. Porcentaje de cristalinidad de panes de masa madre con diferentes horas de fermentación y días de almacenamiento .....	65
Tabla 12. Coeficiente de correlación de Pearson entre TPA, horas de fermentación y días de almacenamiento .....	67
Tabla 13. Coeficiente de correlación de Pearson entre digestibilidad de almidón, horas de fermentación y días de almacenamiento .....	69
Tabla 14. Coeficiente de correlación de Pearson entre digestibilidad de proteína y horas de fermentación.....	70



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Beneficios generados por la fermentación con cultivo de masa madre. (Arendt et al 2007).....	11
Figura 2. Crecimiento de BAL, levaduras y cambio de pH en cultivo de masa madre tipo 1, durante los días de fermentación.....	35
Figura 3. Imagen de la estructura interna de los panes de masa madre y pan control. Horas (h); Tiempo 0 de almacenamiento (T0).....	42
Figura 4. Color en harinas de pan control y panes de masa madre a diferentes horas de fermentación y días de almacenamiento. Panes enteros (A); Harinas obtenidas de los panes (B); Horas (h); Tiempo cero de almacenamiento (T0); Tiempo cuatro de almacenamiento (T4).....	48
Figura 5. Patrón electroforético en SDS-PAGE de harina de trigo, pan control y panes fermentados con masa madre a diferentes horas. ....	52
Figura 6. Patrón de difracción para muestras de pan a diferentes horas de fermentación y días de almacenamiento. Horas (h), A (día 0), B (día 2), C (día 4).64	

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del tiempo y temperatura de fermentación utilizando masa madre, sobre la textura, la tasa de digestión in vitro del almidón y la biodisponibilidad proteica en el pan de trigo. Se elaboraron panes fermentados con masa madre que contenía una densidad de  $9.15 \pm 0.06$  log de UFC/g de bacterias ácido lácticas (BAL) y  $5.23 \pm 0.07$  log de UFC/g de levaduras durante diferentes horas y temperaturas (4, 6, 8 h a 25 °C y 16 h a 4 °C), a su vez se elaboró un pan fermentado con levadura comercial por 1:30 h a 25 °C para ser utilizado como control. Los panes se almacenaron por 0, 2 y 4 días. El análisis de perfil de textura (TPA) se vio afectado por el tiempo de fermentación en todos los parámetros presentando valores más altos de dureza ( $0.991 \pm 0.18$ ), cohesión ( $0.641 \pm 0.07$ ), masticabilidad ( $0.515 \pm 0.05$ ), resiliencia ( $0.340 \pm 0.06$ ) y elasticidad ( $0.821 \pm 0.0$ ) para las muestras de 8 h de fermentación con masa madre en comparación con el pan control ( $0.043 \pm 0.00$ ;  $0.587 \pm 0.04$ ;  $0.012 \pm 0.00$ ;  $0.288 \pm 0.44$ ;  $0.459 \pm 0.04$ ) respectivamente; por otro lado, la variable tiempo de almacenamiento repercutió en un incremento en la dureza, masticabilidad y elasticidad al día 4 de almacenamiento. La cohesión y elasticidad son considerados parámetros de calidad que presentaron aumento a las 8 h de fermentación. Los panes de masa madre presentaron una disminución de luminosidad  $L^*$  en comparación con el pan control, mostrando un cambio de color mayor en la muestra fermentada por 8 h ( $16.78 \pm 0.84$ ) desde el día 0 de almacenamiento. El porcentaje de digestibilidad de proteína (IVPD) incrementó 1.33% a las 8 h y 2% a las 16 h comparado con el pan control. Se presentó degradación en las bandas proteicas por electroforesis a las 4, 6, y 16 h. Se obtuvo correlación positiva entre IVPD y horas de fermentación ( $r=.924$ ,  $p<0.05$ ). El AR incremento entre 0.56% a 0.92% en panes de masa madre durante el almacenamiento, mayor al incremento en el pan control (0.36%) Los panes de masa madre presentaron mayor retrogradación y cristalinidad principalmente en la fermentación de 8 h (19.69 %). El tiempo de fermentación con cultivo de masa madre mejoró los parámetros de textura, la disponibilidad de proteína in vitro y almidón, por otro lado, el almacenamiento incremento el AR y la cristalinidad.

## I. INTRODUCCIÓN

El trigo es el segundo cereal más importante en la alimentación de los mexicanos, su consumo per cápita en México es de 57.5 kg y constituye el 40% del total del gasto en los hogares mexicanos ((SAGARPA, 2017). Su composición nutricional ha sido objeto de estudio en los últimos años destacando su aporte en vitaminas del complejo B y minerales (Moreno *et al.*, 2001). Comparado con otros cereales como el arroz y el maíz aporta un mayor contenido de proteína, aproximadamente 12 g por cada 100 g, también está compuesto en gran parte por carbohidratos solubles (almidón), minerales y fibra (FAO, 2021; Ponzio, 2011). Entre sus principales usos se encuentra el de panificación, en la industria nacional el 63% del trigo es utilizado para la elaboración de pan (Alvarado *et al.*, 2011).

El pan es considerado un alimento tradicional y constituyente básico de la alimentación a nivel mundial (Mesas & Alegre, 2002; Calvo-Carrillo *et al.*, 2020). En México se ha reportado un consumo per cápita de 33 kg/año (CANAINPA, 2022), ya que existe una amplia gama tanto de panes dulces como salados. Desde principios del siglo XX dio inicio la producción industrial de pan de trigo después de la introducción de la levadura de panadería como agente de fermentación superando a la masa madre y la levadura de cerveza (Katsi *et al.*, 2021).

Sin embargo, estudios han reportado que panes elaborados con harina de trigo y fermentados con levadura comercial presentan hidratos de carbono (almidón) que suelen ser rápidamente digeridos y absorbidos, lo que puede generar picos de glucosa en personas con diabetes o resistencia a la insulina (Scazzina *et al.* 2009; Jenkins *et al.*, 1988). Investigaciones han mencionado que la elaboración de pan bajo estas condiciones, pueden desencadenar trastornos gastrointestinales relacionados con la ingesta de cereales que contienen las proteínas del gluten como es el trigo, cebada y centeno (Seyedian *et al.*, 2019; Fu *et al.*, 2020; de Jesús Cobos-Quevedo *et al.*, 2017).

Es por ello que en los últimos años tanto consumidores como productores se han dado a la tarea de buscar alternativas para la elaboración de alimentos funcionales, que

contribuyan a una mejor digestión y biodisponibilidad de nutrientes, así también, cuenten con mejores características nutricionales y de textura, para lo cual, se ha propuesto la tecnología de la masa madre.

La masa madre o también conocida como fermentación del ácido láctico es un proceso tradicional, natural y sostenible que resulta ser una herramienta eficaz para garantizar la textura, la vida útil y una mejora en las características nutricionales del pan (Arora *et al.*, 2020). Los principales beneficios que se atribuyen a la masa madre son una mayor biodisponibilidad de nutrientes, aumento de vida útil, mejor calidad textural y mayor digestibilidad de proteínas.

Dadas las propiedades benéficas que proporciona la fermentación con masa madre se han realizado diversos estudios entre ellos se han evaluado la capacidad de degradación de las proteínas del gluten con el fin de contribuir a una mejor digestibilidad de estas proteínas en personas con sensibilidad o alergias al trigo. Sin embargo, aún hay pocos estudios al respecto. Por lo que en este estudio se desea conocer el efecto del tiempo y temperatura de fermentación, sobre la velocidad de hidrólisis y digestibilidad de las proteínas y almidón. Así como de sus propiedades físicas, de textura con respecto al tiempo de almacenamiento de un pan fermentado con masa madre.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1. Trigo

El trigo es considerado uno de los cultivos más antiguos que el hombre ha sembrado como fuente de alimentación. Su cultivo tiene origen desde comienzos de la agricultura. La producción mundial de trigo reportada por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2021), fue de 771 millones de toneladas. En México la producción que se reporta es de 3.5 millones de toneladas métricas (PAM, 2021), lo cual lo coloca como el segundo cereal más importante en la alimentación de los mexicanos, con un consumo per cápita en México es de 57.4 kg y constituye un 40% del total del gasto en los hogares mexicanos (SAGARPA, 2017).

En los últimos años este cereal ha sido objeto de estudio por sus componentes nutricionales, es un alimento energético con aporte de vitaminas del complejo B y minerales (Moreno *et al.*, 2001). El trigo en comparación con otros cereales como el arroz y el maíz aporta un mayor contenido de proteína, aproximadamente 12 g por cada 100 g, además está compuesto en gran parte por carbohidratos solubles (almidón), minerales y fibra (Tabla 1) (FAO, 2021; Ponzio, 2011).

Generalmente se lleva a cabo el procesamiento del trigo para convertirlo en harina tras la molienda del grano. La molienda del grano va a influir en las variaciones del contenido de nutrientes dependiendo la tasa de extracción. Las harinas de baja extracción pueden perder una gran parte de sus nutrientes (FAO, 2021).

#### 2.1.1. Principales usos del trigo

La producción del grano de trigo se divide principalmente en dos tipos, el grano cristalino y el harinero. El cristalino es utilizado principalmente en la elaboración de pastas. El harinero es empleado sobre todo en la producción de panes, productos

**TABLA 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL TRIGO EN 100 G**

<b>Proteína (%)</b>	<b>Grasa (%)</b>	<b>Minerales (%)</b>	<b>Fibra bruta (%)</b>	<b>Carbohidratos solubles (%)</b>	<b>Referencia</b>
<b>12.5</b>	1.75	–	2.25	64	Ponzio, 2011
<b>12.5</b>	2.2	1.9	2.8	78.6	Moreno <i>et al.</i> , 2001
<b>12.6</b>	1.8	–	–	–	FAO, 2021

de repostería y harinas (SAGARPA, 2017). En la industria nacional el 65.3% del trigo corresponde al tipo panificable, el 26.3% es destinado a la elaboración de galletas y un 8.4% es utilizado para pastas de acuerdo con el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Alvarado *et al.*, 2011).

## 2.2. Pan

El pan es considerado un alimento tradicional, ya que desde hace 7000 u 8000 años a.C ha sido un constituyente básico en la alimentación a nivel mundial (Mesas & Alegre, 2002; Calvo-Carrillo *et al.*, 2020). Su preparación consta principalmente de harina y agua, en ocasiones se añade levadura y sal entre otros ingredientes. A principios del siglo XX dio inicio la producción industrial de pan de trigo después de la introducción de la levadura de panadería como agente de fermentación superando a la masa madre y la levadura de cerveza (Katsi *et al.*, 2021). En la actualidad se conocen alrededor de 2,000 variedades de pan dulce y 300 de pan salado que son producidas a nivel nacional, posicionando a México como uno de los países a nivel mundial con mayor variedad. (Calvo-Carrillo *et al.*, 2020). Con un consumo per cápita de 33 kg/año, de acuerdo con la Cámara Nacional de la Industria Panificadora (CANAINPA) (Martínez, 2018)

Pese a que existe una amplia variedad en la elaboración de panes a nivel industrial, en los últimos años, tanto consumidores como productores, han buscado regresar al consumo de productos locales, una explicación a esta tendencia es la búsqueda del sabor, textura y propiedades nutricionales que con frecuencia se suele sacrificar en una elaboración de pan industrial (Joudeikiene, 2016; Diowksz, 2021). Por otro lado, existen contraindicaciones en relación al consumo de pan elaborado a base de trigo, ya que el trigo se considera una de las causas más comunes de alergias e intolerancias alimentarias. Desencadenando reacciones inmunitarias entre las que se encuentran con mayor frecuencia, la alergia al trigo, la enfermedad celíaca, la sensibilidad al trigo no celíaca y las enfermedades inflamatorias intestinales relacionadas con el trigo (Fu *et al.*, 2020).

### 2.3. Trastornos relacionados con el gluten

En la actualidad se ha encontrado una asociación en diversas afecciones con la ingesta de gluten, conocidas como “trastornos relacionados con el gluten” a las reacciones desencadenadas tras la ingestión de cereales como trigo, cebada, centeno o avena en individuos susceptibles o con predisposición autoinmunitaria. Tales trastornos pueden ser clasificados en cuatro principales: enfermedad celíaca, alergia mediada por inmunoglobulinas E (IgE), sensibilidad al gluten y enfermedades inflamatorias intestinales (Cabanillas, 2020; Cobos-Quevedo *et al.*, 2017).

#### 2.3.1. Enfermedad celíaca (EC)

La EC es un trastorno gastrointestinal crónico autoinmune, caracterizado por una malabsorción intestinal tras la presencia de inflamación y atrofia de la mucosa del intestino delgado ocasionado por la presencia de dos factores predominantes como son la exposición al gluten en la dieta y una predisposición genética (Christophersen *et al.*, 2019; Cobos-Quevedo *et al.*, 2017). Se señala que es una afección mediada por una secuencia específica de aminoácidos presentes en una fracción de prolaminas, proteínas presentes en los cereales como el trigo, centeno, cebada y en menor medida avena (Fernández, 2016).

Del 0.5% al 2% de la población a nivel mundial se ve afectada por este trastorno. En México se ha reportado una prevalencia de hasta el 0.9% de EC, por lo que se estima que entre 800,000 y 1, 000,000 de personas en México tienen EC (Cobos-Quevedo *et al.*, 2017).

Actualmente el único tratamiento consiste en mantener una dieta libre de gluten (DLG) de por vida. Por lo que los pacientes deben excluir de su dieta los cereales como trigo, cebada y centeno (Christophersen *et al.*, 2019; Miaja *et al.*, 2021). Sin embargo, los productos de panadería libres de gluten que regularmente se encuentran en el mercado presentan una baja calidad en comparación con los productos de trigo. Esto es debido a la ausencia de la red de proteínas del gluten y sus propiedades únicas que confiere a los productos horneados (Arendt *et al.*, 2007).



### 2.3.2. Alergia al trigo

La alergia al trigo es una reacción inmunológica que se desarrolla por una respuesta de hipersensibilidad mediada por IgE, que al igual que la EC es un resultado desfavorable a la presencia de las proteínas del trigo, sin embargo. La alergia al trigo es estimulada específicamente por proteínas del trigo y no necesariamente de otros cereales como centeno o cebada. Es caracterizada por la aparición de síntomas gastrointestinales, manifestaciones dermatológicas y/o sistémicas severas (Cabanillas, 2020; Cobos-Quevedo *et al.*, 2017).

### 2.3.3. Sensibilidad al gluten no celíaca

Se emplea el término sensibilidad al gluten no celíaca para indicar la presencia de síntomas gastrointestinales, extraintestinales o ambos en personas tras la ingesta de gluten y con una mejoría de los síntomas al eliminar el gluten de la dieta lo cual disminuye el riesgo en comparación con un diagnóstico de EC. Sin embargo, la prevalencia parece ser mayor que la de EC (Leonardo *et al.*, 2017).

### 2.3.4. Enfermedades inflamatorias intestinales

Las enfermedades inflamatorias intestinales son padecimientos crónicos del tracto gastrointestinal que se caracterizan por episodios de inflamación intestinal y se clasifican en colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn que comparten similitud en los síntomas. Las enfermedades inflamatorias intestinales se presentan regularmente a edades tempranas entre 15 y 35 años. La aparición de estos padecimientos está relacionada con factores genéticos, ambientales e inmunológicos (Seyedian *et al.*, 2019; Guan, 2019).

Por lo tanto, en el procesamiento de alimentos se busca contribuir a una dieta saludable, a la disminución de síntomas de enfermedades, así como coadyuvar a la seguridad alimentaria y sostenibilidad ambiental. Con lo que se ha dado a la tarea de buscar la elaboración y producción de alimentos funcionales, con bajo contenido de

sal y menos aditivos que combinen, menos calorías, índice glucémico y contenido de grasa y a la vez cuenten con un adecuado aporte de fibra, proteínas biodisponibles y calidad textural (Gobbetti *et al.*, 2020). La fermentación del ácido láctico (masa madre) es un proceso tradicional, natural y sostenible. Resulta ser una herramienta eficaz para garantizar la textura, vida útil y una mejora en características nutricionales (Arora *et al.*, 2020).

#### 2.4. Cultivo de masa madre

Se define masa madre a la mezcla de harina y agua, que es fermentada por microorganismos de bacterias de ácido láctico (BAL) y levaduras, la fermentación puede llevarse a cabo de forma espontánea o establecida al adicionar cultivos iniciadores comerciales (Arora *et al.*, 2020; Gobbetti *et al.*, 2019; Ramos *et al.*, 2021). Su principal cualidad es la capacidad de acidificación por BAL, factor que contribuye en la mejora de sus características organolépticas y estructurales, así como la reducción de envejecimiento, aumentando su conservación y vida útil (Joudeikiene, 2016).

Entre otras de sus características, una masa madre madura deberá contener una densidad de BAL dentro de un intervalo de 9 a 9.47 log UFC/g y levaduras de 5 a 7.69 log UFC/g metabólicamente activas y presentar un pH entre 3.5 a 4.3 (Arendt *et al.* 2007). La fermentación de masa madre se desarrolla en un largo periodo de tiempo, al menos de 12 a 24 h, mientras que una fermentación con levadura comercial puede concluir en tan solo de 1 a 2 horas (Pérez, 2014).

Ya se han documentado tecnologías aplicadas para la obtención de masas agrias que están clasificadas de acuerdo con el proceso utilizado para la fermentación y se dividen en 4 tipos diferentes (Corsetti & Settanni, 2007; Ma, S., Wang *et al.*, 2021):

- Tipo I: La fermentación de masa madre se genera de forma espontánea por la acción de las levaduras y BAL presentes en la harina, se realizan refrigerios diarios continuos para mantener el estado activo de los microorganismos.

- Tipo II: La fermentación se lleva a cabo por la adición de un inóculo específico con una adecuada proporción de agente leudante.
- Tipo III: Son preparaciones como el tipo II deshidratadas con BAL que resisten el secado.
- Tipo IV: Es la mezcla del tipo I y tipo II.

#### 2.4.1. Bacterias ácido-lácticas (BAL)

Pertencen a un grupo diverso de bacterias Gram positivas, no formadoras de esporas, no móviles, anaeróbicas facultativas, en forma de cocos y bacilos, oxidasa y catalasa negativas. Pueden formar colonias en presencia de aire en medios de cultivos sólidos, ya que son anaerobios tolerantes (Huertas, 2010; Ramírez *et al.*, 2011). Existe una gran variedad de géneros de bacterias lácticas en el ambiente (*Aerococcus*, *Alloinococcus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weisella*), pero los géneros más representativos son: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* (Ramírez *et al.*, 2011). Se utilizan frecuentemente como cultivos iniciadores para la conservación y manufactura de los alimentos (Botero *et al.*, 2013).

Las BAL se clasifican de acuerdo con el modo de fermentación de la glucosa en homofermentativas (producen solo ácido láctico) y heterofermentativas (producen ácido láctico y otras sustancias) (Huertas, 2010)

**Homofermentativas:** Estas bacterias utilizan la ruta Embden-Meyerhoff-Parnas que producen por 1 mol de glucosa 2 moles de ácido láctico, los géneros presentes en este grupo son: *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*, la producción de ácido láctico es de aproximadamente el 85%.

**Heterofermentativas:** Este grupo de bacterias producen solo el 50% de ácido láctico y además pueden producir lactato, CO<sub>2</sub> y etanol. Fermentan 1 mol de glucosa para formar 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de CO<sub>2</sub>. 1 mol de ATP es

generado por mol de glucosa. Este grupo está constituido por los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*.

#### 2.4.2. Beneficios de la masa madre

Los alimentos que son fermentados por BAL adquieren grandes beneficios tanto en sus propiedades sensoriales como sabor, aroma, textura y consistencia, así como en su aporte nutricional y una mejor preservación (Ramírez *et al.*, 2011).

La fermentación con BAL participa en la formación de metabolitos inhibidores, como ácidos orgánicos (ácido láctico, acético, fórmico y propiónico), etanol, bacteriocinas, entre otros beneficios, potencializando la calidad nutricional y favoreciendo el enriquecimiento biológico de los sustratos alimentarios como proteínas, vitaminas, aminoácidos y ácidos grasos esenciales (Kuria *et al.*, 2021).

La masa madre es eficaz para reducir a menos de la mitad el contenido de fitato principalmente por la reducción de pH que provee las condiciones favorables para la actividad de fitasa endógena (Arora *et al.*, 2020). Las BAL disponen de un amplio espectro de enzimas, entre las que se encuentran las peptidasas, descarboxilasas, reductasas, esterases, glucosidasas, entre otras, y estas juegan un papel muy importante para el desarrollo de las características ya mencionadas (Torrez *et al.*, 2021).

##### 2.4.2.1. Mejora de las propiedades físicas

Se han descrito las propiedades de textura de un alimento como “aquel conjunto de características físicas que se intuyen por el tacto se relaciona con la deformación, desintegración y flujo del alimento bajo la aplicación de una fuerza y se miden objetivamente por funciones de fuerza, tiempo y distancia” (Bourne, 1982).

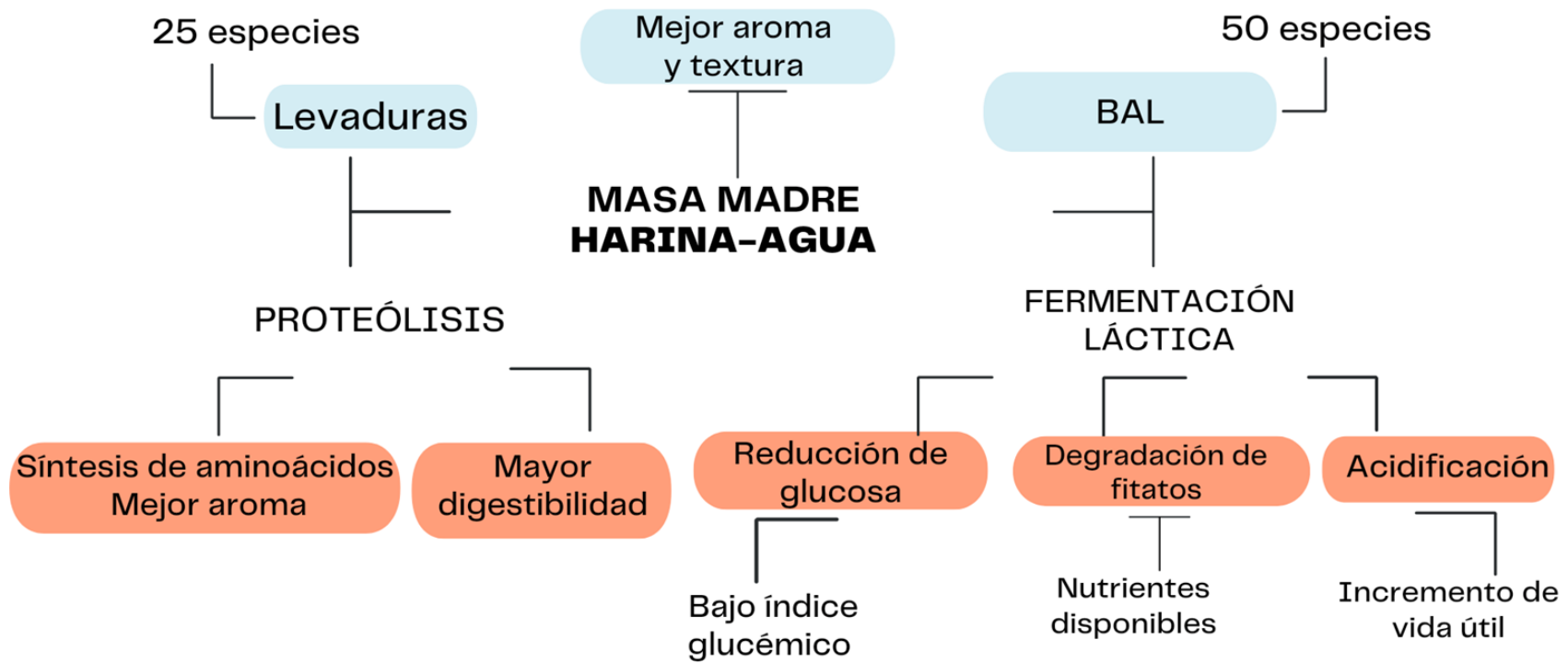


Figura 1. Beneficios generados por la fermentación con cultivo de masa madre. (Arendt et al 2007)

La formación de la masa es parte fundamental en la panificación y obtención de las características texturales, ya que es el momento en que se incorporan todos los ingredientes con el fin de formar una red viscoelástica (Chen *et al.*, 2019). La harina de trigo se distingue entre los cereales por su capacidad de formar una masa resistente, viscoelástica y cohesiva con la capacidad de retener gas y obtener productos horneados de buena calidad debido a su contenido de gluten (Flores, 2014).

Las proteínas del gluten (gliadina y glutenina) interactúan para formar una red continua, que contribuye al desarrollo y retención de gas en la masa, por medio de interacciones hidrofóbicas, enlaces disulfuro, puentes de hidrógeno y entrecruzamientos (Sandoval *et al.*, 2005).

Las gliadinas, un grupo de proteínas relativamente pequeñas y con propiedades similares. Tienen un peso molecular promedio de 40 000, son solubles en alcohol y presentan poca o nula resistencia a la extensión, pueden contribuir a la cohesión de la masa. Por otra parte, las gluteninas son un grupo de proteínas heterogéneas con variados pesos moleculares (de 10 000 a varios millones), se clasifican en subunidades de alto peso molecular y de bajo peso molecular. Las gluteninas parecen mejorar la resistencia a la mezcla, elasticidad y cohesión de la red (Flores, 2014; Chen *et al.*, 2019). Estudios han reportado que el gluten se asocia con el tiempo de amasado, la absorción de agua y el índice de fuerza en la masa (Chen *et al.*, 2019).

De acuerdo con lo antes mencionado, la masa de trigo se considera un material sensible a la deformación que cuenta con un sistema complejo de interacciones entre sus proteínas hidratadas, y la matriz de almidón. Las interacciones moleculares son las que le confieren sus propiedades viscoelásticas. Interacciones almidón-almidón por puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals.

Aunado a esto la masa madre de harina de trigo juega un papel importante en las características físicas del pan al incrementar la retención de dióxido de carbono en

la masa por acción de las BAL, por lo tanto, el producto final se espera cuente con mayor volumen y una mayor suavidad de la miga durante el almacenamiento (Gobbetti *et al.*, 2019).

#### 2.4.2.2. *Proteólisis*

Los componentes responsables de las características propias del trigo son las proteínas presentes en la harina, particularmente las proteínas del gluten. Las proteínas del trigo se dividen en dos grupos; las proteínas sin gluten (albúminas y globulinas) las cuales presentan una participación muy baja o nula en las propiedades de panificación y las proteínas del gluten (gliadina y glutenina) las cuales juegan un papel primordial en la elaboración de pan, las proporciones de estas proteínas en el trigo son del 15-20% y el 80-85% respectivamente (Goesaert *et al.*, 2005). Sin embargo, el gluten también se considera una molécula que puede resultar potencialmente tóxica para algunos individuos (Cobos-Quevedo *et al.*, 2017).

La fermentación con masa madre contribuye a la proteólisis de las proteínas bajo condiciones óptimas, gracias a la actividad de las proteasas del trigo generadas por la formación de ácidos y el tiempo de fermentación. La proteólisis durante la fermentación de la masa genera la hidrólisis de proteínas a péptidos de tamaño intermedio y por acción de las peptidasas se genera una liberación de aminoácidos libres (Lancetti, 2017).

En un estudio realizado por Kawuamura y Yonesawa, (1982) se describieron proteasas que actuaban en un pH óptimo de 4, pertenecientes a harina de trigo (Arendt *et al* 2007). De igual manera Bleukx *et al*, (1997) detectó enzimas proteolíticas con actividades óptimas en pH ácido. Así también, Thiele *et al*, (2002) relaciono la concentración de aminoácidos en una masa acidificada y una masa no acidificada encontrando un mayor número de estos en la masa acidificada durante una fermentación de 50 horas (h).

#### 2.4.2.3. *Propiedades del almidón*

El almidón es un polímero complejo compuesto por dos polisacáridos, amilosa y amilopectina de estructura esencialmente lineal y altamente ramificada respectivamente. Es la mayor fuente de carbohidratos sintetizada por las plantas. Presente en el endospermo de semillas de cereales o leguminosas y tubérculos. A nivel celular se organiza en pequeñas partículas llamadas gránulos, de un tamaño aproximado entre 1-100  $\mu\text{m}$  y presentan una variedad de formas dependiendo de la fuente (Biliaderis, 1991; Rivas-González *et al.*, 2008; Aaliya *et al.*, 2021).

El almidón es el componente mayoritario en el grano de trigo, constituyendo alrededor de un 60-75% del peso seco en las semillas de trigo (Wang *et al.*, 2021; Ponzio, 2011; Moreno *et al.*, 2001). El almidón al ser el elemento principal en el trigo contribuye a las características de humedad, viscosidad, textura, sabor y vida útil en los alimentos a base de este cereal, que a su vez es el ingrediente principal para la elaboración de pan. Existen diversos problemas en la calidad de los alimentos ricos en almidón, que se encuentran estrechamente relacionados con las diferencias en las materias primas, como son, un bajo volumen específico, alta dureza, fácil envejecimiento, sabor insuficiente (Yan *et al.*, 2021; Hong *et al.*, 2022).

La gelatinización y retrogradación en el almidón son procesos claves para garantizar la calidad de los productos. Las interacciones entre las moléculas de almidón, lípidos y proteínas pueden tener un efecto sobre las propiedades de gelatinización, solubilidad, y retrogradación del almidón (Yan *et al.*, 2021; Biliaderis, 1991). Estas interacciones, así como, los procesos de cocción a los que se somete el almidón pueden provocar cambios en su estado físico afectando la disponibilidad in vivo del almidón, dando como resultado un almidón resistente con una menor susceptibilidad a la digestión (Biliaderis, 1991; Wang *et al.*, 1998).

El almidón resistente o retrogradado es un tipo de almidón que sufre cambios estructurales debido a factores como el secado, enfriamiento o almacenamiento, el almidón forma una estructura cristalina durante el almacenamiento después del



horneado (Lancetti, 2017). Esto explica porque tras el almacenamiento se presenta una disminución en la frescura del pan, presentando un aumento en la dureza de la miga que a su vez reduce la aceptabilidad por parte del consumidor a lo que se le conoce como envejecimiento (Arendt *et al.*, 2007).

La fermentación con masa madre podría modificar las partículas del almidón y presentar una mayor viscosidad, suavidad, y menor elasticidad, al haber una mayor producción de gas, ácido y enzimas, así también, una disminución en el envejecimiento y retrogradación del almidón explicado por la acción de las BAL con actividades proteolíticas y amilolíticas que generan cambios fisicoquímicos durante el almacenamiento favoreciendo el retraso en el envejecimiento (Corsetti *et al.*, 1998; Hong *et al.*, 2022).

La degradación del almidón en la masa es primordial para la obtención de carbohidratos fermentables y azúcares reductores. Por tanto, es esencial la presencia de las enzimas  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas que son las enzimas encargadas de la degradación del almidón (Lancetti, 2017).

#### 2.4.2.4. *Análisis rápido de viscosidad*

Las propiedades y características del almidón juegan un papel importante en la calidad y los parámetros funcionales de los productos. El perfil de pegado en los almidones hace referencia específicamente a los cambios en el almidón después del calentamiento posterior a la gelatinización y se puede ver afectado principalmente por el contenido de amilosa, así como, la longitud de cadena ramificada de la amilopectina y la presencia de lípidos en la matriz alimentaria (Punia, 2020).

La evaluación de las propiedades de pegado y viscosidad en el almidón es indispensables para conocer la calidad del almidón, no obstante, tras la preocupación por la salud de los consumidores se ha buscado evaluar la velocidad de digestión del almidón que juega un papel fundamental sobre los niveles de

glucosa posprandial. Investigaciones recientes mencionan que la digestión del almidón no solo se ve afectada por sus características intrínsecas, sino también por las propiedades físicas de los medios que pueden modular la velocidad de expansión de la enzima a los sustratos del almidón. Estos estudios han relacionado una menor hidrólisis de almidón y vaciamiento gástrico con la viscosidad del almidón (Santamaria *et al.*, 2022).

Por lo tanto, cobra una mayor importancia el conocer las propiedades físicas de pegado y viscosidad en el almidón. Las características de pegado se miden con un visco analizador rápido (RVA) que proporciona información sobre la máxima hinchazón del gránulo antes de la desintegración, la *breakdown* de los gránulos, la estabilidad de la pasta cocida y la agregación de las moléculas de amilosa al enfriarse (Punia, 2020).

#### 2.4.2.5. *Cristalinidad del almidón*

El almidón es un polímero de estructura semicristalina, que corresponde a diferentes formas polimórficas. Las partes cristalinas del almidón tienen picos agudos, mientras que las partes amorfas forman picos dispersos. Con relación a esto el almidón se puede clasificar en tipo A, B y C (Punia, 2020; Gonzales Cervantes, 2018). Generalmente, el patrón de difracción de rayos X tipo A es característico de almidones provenientes de cereales y el tipo B es característico en tubérculos. La difracción de rayo X es utilizada para identificar la estructura y presencia de la estructura cristalina en los gránulos del almidón. La cristalinidad del almidón se atribuye a la disposición de las hélices de amilopectina, mientras que, las regiones amorfas se asocian con la amilosa (Punia, 2020; Gonzales Cervantes, 2018).

La gelatinización se conoce como la pérdida de cristalinidad del almidón, debido a la absorción de agua y el calentamiento, durante este proceso los gránulos de almidón se hinchan, y ocurre la *breakdown* de la cristalinidad las moléculas de agua se unen al grupo hidroxilo de la amilosa y la amilopectina mediante enlaces de hidrógeno, lo que da lugar a la solubilidad (Punia, 2020).

Por otro lado, el almidón retrogradado sufre el proceso de recristalización, en el cual, las moléculas de amilosa y amilopectina se reasocian después del proceso de gelatinización, para formar estructuras ordenadas. La retrogradación del almidón se lleva a cabo en dos etapas, la primera es una retrogradación a corto plazo, la cual está dada por la retrogradación de amilosa y va a determinar, la dureza inicial del gel, la pegajosidad y digestibilidad de los alimentos procesados. La segunda etapa es una retrogradación a largo plazo, en esta etapa participan las moléculas de amilopectina, lo cual, afectará la estructura del gel y la cristalinidad de los productos procesados (Yan *et al.*, 2021).

## 2.5. Investigaciones realizadas con masa madre

Dadas las propiedades benéficas que proporciona la fermentación con masa madre se han realizado diversos estudios entre ellos se han evaluado la capacidad de degradación de las proteínas del gluten con el fin de obtener un producto apto para el consumo de las personas con problemas relacionados al gluten. Algunos de los resultados obtenidos en relación a este tema se describen a continuación (Tabla 2).

En su mayoría los autores han optado por utilizar en sus formulaciones levadura comercial u otros aditivos. Un ejemplo es el de Corsetti *et al.*, (2000) quien utilizó una formulación de harina de trigo con agua y el 16% del inóculo de masa madre, a esta formulación se adicionaron aditivos como amilasas, proteasas, pentosanos y pentosanasas. Posteriormente se evaluaron los panes después de días de almacenamiento encontrando una mejoría en el retraso de envejecimiento.

En otro estudio se reportó que un tiempo prolongado de horneado con una baja temperatura 120°C por 20 h resultó en un mayor contenido de almidón resistente (Liljeberg, 1996). Además, Lancetti, (2017) caracterizó diferentes tipos de bacterias ácido-lácticas para conocer sus resultados en las variables de estructura, acidez, metabolismo de carbohidratos, producción de volátiles y capacidad proteolítica. La formulación utilizada para este estudio fue de harina y agua con una relación 1:1, un inóculo de masa madre del 20% y 3% de levadura comercial deshidratada.

**TABLA 2. ESTUDIOS REALIZADOS CON CULTIVOS DE MASA MADRE**

Objetivo	Cereal utilizado	Tipo de fermentación	Resultado	Referencia
Describir el efecto combinado de BAL de masa madre y varios aditivos sobre la calidad de conservación del pan.	Trigo	Tipo 2	+ acidificación - retrogradación del almidón mejor firmeza y retrasando del envejecimiento del pan.	Corsetti, 2000
Uso de harina de trigo ( <i>Triticum aestivum</i> ) que se hizo libre de gluten mediante la fermentación de BAL y proteínas fúngicas.	<i>Triticum aestivum</i>	Tipo 2 Adición de proteasas fúngicas.	+ digestibilidad proteica en la pasta - número de polipéptidos - peso molecular de proteínas.	Curiel <i>et al.</i> , 2014
Caracterizar iniciadores espontáneos de masa madre en harina de teff en condiciones de panadería y laboratorio.	Teff	Tipo 1	Adaptación del BAL al medio de producción.	Harth <i>et al.</i> , 2018
Evaluar la influencia de la fermentación de masa madre en la estimación de índice glucémico, digestibilidad de almidón y propiedades texturales y sensoriales en panes.	Trigo	Tipo 1 Tipo 2	- índice glucémico + Almidón resistente + dureza del pan	Demirkesen-Bicak <i>et al.</i> , 2021
Investigar el efecto de la adición de masa madre (10, 20 y 30%) y tiempo de conservación (1, 2, y 5 días) y panes frescos como control de la digestibilidad in vitro de almidón e índice glucémico.	Teff	Tipo 2 con adición de levadura comercial	- índice glucémico - almidón de rápida digestión + almidón de lenta digestión + almidón resistente - masticabilidad con una mayor proporción de masa madre + sustancias volátiles en cepas heterofermentativas.	Shumoy <i>et al.</i> , 2018
Caracterizar diferentes cultivos iniciadores de bacterias lácticas en la elaboración de masa madre y su comportamiento de la masa panadera y la calidad tecnológica de panes de trigo	Trigo	Tipo 2 3% de levadura deshidratada.	+ actividad proteolítica en <i>L. plantarum</i> 137 y <i>L. fermentum</i> 148.	Lancetti, 2017
Evaluar el efecto de la masa madre de harina de cebada sin cascara sobre la calidad tecnológica de panes con diferentes proporciones de harina de trigo comparadas con el pan control.	Cebada	Tipo 2	+ calidad de los panes de cebada adicionados con harina de trigo.	Cakir & Durak, 2021
Caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorial de un pan con levadura y un pan con masa madre	Trigo	Tipo 1	+ vida de anaquel, ácidos orgánicos, dureza y aroma. - elasticidad	Katsi, <i>et al.</i> , 2021

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El trigo es el segundo cereal más consumido en México y entre sus diversos usos para el consumo humano la panificación es el principal. El pan es un alimento básico en la dieta a nivel mundial, en México su consumo per cápita es de 33 kg por año. El pan elaborado de harina de trigo es una rica fuente de carbohidratos y proteínas especialmente almidón y gluten, mismos que confieren las propiedades reológicas óptimas de un pan de calidad.

Sin embargo, en los últimos años se han presentado una serie de patologías relacionadas con el consumo de gluten presente en el trigo que afectan a individuos susceptibles o con predisposición autoinmunitaria. El único tratamiento conocido hasta la actualidad para tratar estas afecciones es mantener una dieta libre de gluten. Este tratamiento tiene una baja adherencia debido a que existe una amplia variedad de productos que contienen gluten.

Otro problema que presenta el pan es el rápido deterioro por endurecimiento a causa de la retrogradación del almidón al mantenerse en almacenamiento después del horneado.

Por lo que, se busca conocer el efecto de la masa madre y las diferentes condiciones de su elaboración en las propiedades de digestibilidad y textura de un pan a base de trigo con la finalidad de obtener un pan que facilite la digestibilidad de las proteínas presentes en el trigo y pueda ser consumido por individuos con trastornos relacionados al gluten.

#### **IV. JUSTIFICACIÓN**

Debido a que el pan es un alimento básico a nivel mundial y el trigo uno de los cereales más importantes en la alimentación de los mexicanos con un papel primordial en el ámbito de la panificación. Pero al mismo tiempo, el pan de trigo se relaciona con una de las causas más frecuentes de alergias e intolerancias alimentarias. Como son la alergia al trigo, la sensibilidad al gluten no celíaca y enfermedades inflamatorias intestinales. Mismas que cuentan con una alta prevalencia a nivel mundial. Por lo tanto, la elaboración de un pan de tipo artesanal por medio de la fermentación de masa madre puede ser capaz de brindar grandes beneficios tanto en sus propiedades sensoriales, de textura y aporte nutricional, así también, generar una mayor proteólisis lo que ayudaría a disminuir los síntomas de las intolerancias al gluten.

Sin embargo, son escasos los estudios sobre el efecto en la digestibilidad proteica y las propiedades fisicoquímicas del pan con una fermentación de masa madre tipo 1 sin adición de levadura o algún otro aditivo y diferentes condiciones de fermentación, por lo cual se busca proporcionar nuevas alternativas para contribuir a una mejora en la digestión de las proteínas del gluten, así como, mantener las cualidades de textura en el pan.

## **V. OBJETIVOS**

### **6.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto del tiempo y temperatura de fermentación sobre la velocidad de hidrólisis y digestibilidad de las proteínas y almidón.

### **6.2. Objetivos específicos**

- Determinar el contenido de BAL y levaduras en la masa madre al día 0, 3 y 6 de fermentación.
- Evaluación de propiedades fisicoquímicas de un pan fermentado a diferentes horas y temperatura (4, 6 y 8 h / 25 °C y 16h / 4 °C).
- Evaluar la velocidad de digestión de almidón y proteína mediante el uso de kits enzimáticos en cada una de las formulaciones a diferentes días de almacenamiento (0, 2 y 4).
- Determinación del peso molecular de las proteínas en el pan después del horneado por efecto de la adición de la masa madre mediante electroforesis.
- Determinar la correlación lineal por Pearson de las horas de fermentación contra la velocidad de digestibilidad de proteína y almidón.

## **VI. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1. Materiales**

La harina de trigo integral y harina de trigo blanca se compró en un supermercado de Tulancingo Hidalgo de la marca tres estrellas con una composición nutricional de proteína 11.29 g, grasas 2.16 g, carbohidratos 76.39 g, fibra dietética 10.40 g y sodio 2.92 g. De igual manera se adquirió el agua potable de la marca bonafont y levadura comercial. Se adquirió agar MRS (de Man, Rogosa and Sharpe, Merck, Darmstadt, Alemania) y agar SD (Sabouraud dextrosa, Merck, Alemania) para el análisis microbiológico. Para el análisis de digestibilidad de almidón se adquirió el Kit enzimático K-DSTRS 01/22 of Megazyme International Ireland Ltd, y una solución enzimática para evaluar la digestibilidad de proteína que consistió en tripsina (T0303 Trypsin del páncreas porcino Tipo IX-S, polvo liofilizado, 13,000–20,000 unidades éster étílico de N  $\alpha$ -benzoil-arginina (BAEE) / mg de proteína), quimotripsina (C4129  $\alpha$ -Quimotripsina del páncreas bovino C4129 Tipo II, polvo liofilizado, unidades P40 / mg de proteína) y proteasa (P5147 Proteasa de *Streptomyces griseus* Tipo XIV, P3.5 unidades / mg de sólido of Sigma-Aldrich).

### **6.2. Fermentación de masa madre**

Para la fermentación de masa madre tipo 1 se utilizó la metodología de Demirkesen-Bicak *et al.*, (2021) con algunas modificaciones, se agregaron 100 g de harina de trigo entero y 100 mL de agua potable se mezclaron hasta obtener una mezcla homogénea para obtener 200 g de masa (rendimiento de masa 200 (peso de masa/peso de harina X 100). Después del primer día de fermentación se propagaron masas madre (50% p/p) con periodos de alimentación (se agregó 50 g de harina y 50 mL de agua potable) cada 24 h, manteniéndola a una temperatura de 26 °C hasta lograr la maduración bajo las siguientes condiciones, de 9 – 9.47 log UFC/g para BAL; 5 – 7.69 log UFC/g para levaduras y un pH de 3.5 -4.3.



### **6.3. Caracterización de la masa**

Las propiedades microbiológicas de la masa madre se determinaron utilizando el método descrito por Bottani *et al.*, (2018) con ligeras modificaciones. Se analizaron muestras en el día 0, 3 y 6 de la fermentación de la masa madre, añadiendo 0.5 g de masa y 4.5 mL de agua peptonada estéril. Se homogeneizó y utilizó agar MRS (de Man, Rogosa and Sharpe, Merck, Darmstadt, Alemania) y agar SD (Sabouraud dextrosa, Merck, Alemania) para el conteo de BAL y levaduras respectivamente. Se prepararon las diluciones y se incubaron en cajas Petri por 72 h. Se midió el pH de la muestra desde el día 0 de fermentación hasta la obtención de la masa madre madura (día 6), cada 24 h (HANNA instrument HI2211, Darmstadt, Germany).

### **6.4. Elaboración de los panes**

Para la elaboración de los panes se llevó a cabo el procedimiento descrito por Katsi *et al.*, (2021) y Demirkesen-Bicak *et al.*, (2021), con ligeras modificaciones. Se prepararon dos tipos de pan; pan leudado con levadura de panadería (control) y pan fermentado con masa madre. El pan control se preparó con 1000 g de harina (800 g de harina blanca y 200 g de harina integral), 700 mL de agua potable, 20 g de sal y 20 g de levadura de panadería (*Saccharomyces cerevisiae*). Se amasó durante 20 min en una amasadora (Blazer BY JR MIXER B10, México), posteriormente la masa se dividió en boleados (moldeado manualmente) de 50 g. Una vez formados los panes se dejaron fermentar por 90 min a 25 °C. Por último, se procedió a hornear 20 min a una temperatura mínima de 240 °C y máxima de 260 °C. Para la preparación del pan de masa madre se mezclaron 1000 g de harina (800 g de harina blanca y 200 g de harina integral), 700 mL de agua potable y 20 g de sal se utilizó el 30% de masa madre en relación con el peso total de la harina. La masa se mezcló en una amasadora (Blazer BY JR MIXER B10, México), durante 20 min y se dejó fermentar por 3 horas a 25 °C, posteriormente la masa se dividió en boleados (moldeado manualmente) de 50 g. Una vez realizada la división de la masa se procedió a una fermentación final durante diferentes horas para cada una de las formulaciones (4, 6 y 8 h a 25 °C y una fermentación en frío por 16 h a temperatura de 4 °C). Posteriormente se procedió a

hornear 20 min a una temperatura mínima de 240 °C y máxima de 260 °C. Se prepararon 3 panes por formulación para cada determinación. Las formulaciones que se obtuvieron se muestran en la Tabla 3.

### **6.5. Composición química proximal**

El análisis químico proximal de las muestras de pan se realizó en cada una de las formulaciones, el contenido de humedad se realizó siguiendo el método descrito por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC por sus siglas en inglés, método No. 925.10), ceniza (AOAC método No. 923.0), proteína (método AOAC No. 920.87) y contenido de grasa (AOAC método No. 920.85).

### **6.6. Propiedades físicas y de textura**

Para el análisis de textura (dureza, elasticidad, cohesión, resiliencia y masticabilidad) se siguió la metodología de Li *et al.*, (2021) con modificaciones, la medición se realizó al día 0, 2 y 4 de almacenamiento en cada una de las formulaciones utilizando un analizador de textura (stable micro systems, TA.XT plus 41109, Reino Unido) en modo de compresión realizando dos ciclos. Se utilizó una sonda de 36 mm de diámetro. Se dejó que la sonda penetrara a una presión del 40%, con una velocidad de descenso de 5 mm/s y un tiempo de 5 s entre la primera y segunda compresión. Para la evaluación de color en las muestras se utilizó un colorímetro (3NH-NR110, Monterrey Nuevo León), obteniendo los parámetros L\*, a\* y b\* de los panes liofilizados, se tomaron 5 mediciones en cada muestra. La diferencia de color ( $\Delta E$ ) en los panes de masa madre en comparación con el control se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta E = [(L^*T - L^*C)^2 + (a^*T - a^*C)^2 + (b^*T - b^*C)^2]^{1/2} \quad (1)$$

Donde:

T: tratamientos experimentales

C: tratamiento control

**TABLA 3. FORMULACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS**

AGENTE LEUDANTE	TIEMPO DE FERMENTACIÓN (horas)	TEMPERATURA (°C)
Levadura comercial	1.5	
	4	
	6	25
Masa madre (30%)	8	
	16	4

## 6.7. Liofilización de las muestras

Las muestras se llevaron a ultracongelación (-20 °C) (congelador SCIENTEMP) 4091) una vez transcurridos los días de almacenamiento, posteriormente se liofilizaron durante 72 h a  $-55 \pm 1$  °C bajo un vacío de 0.040 mbar para lo cual se utilizó una liofilizadora marca (LABCONCO CORPORATION, Kansas City, Missouri 64132) (Manzur-Valdespino *et al.*, 2020).

## 6.8. Digestibilidad de proteína in vitro

Para el análisis de digestibilidad se utilizó la técnica descrita por Tinus *et al.*, (2012). Se pesó una muestra equivalente a 62.5 mg de proteína que se hidrató con 10 mL de agua destilada a 37 °C durante 1 h. El pH se ajustó a  $8.0 \pm 0.2$  con NaOH 0.1 M /HCL 0.1 N. Se prepararon 10 mL de una solución enzimática que consistió en 16 mg de tripsina (T0303 Trypsin del páncreas porcino Tipo IX-S, polvo liofilizado, 13,000–20,000 unidades BAEE / mg de proteína), 31 mg de quimotripsina (C4129 a-Quimotripsina del páncreas bovino C4129 Tipo II, polvo liofilizado, unidades P40 / mg de proteína) y 13 mg de proteasa (P5147 Proteasa de Streptomyces griseus Tipo XIV, P3.5 unidades / mg de sólido. La solución multienzimática se preparó previo al análisis (Mensa-Wilmot *et al.*, 2001) y se ajustó a pH de  $8.0 \pm 0.2$ . Se adicionó 1mL de la solución multienzimática a 10 mL de la muestra y se mantuvo en agitación a 37 °C.

El pH se registró cada minuto durante 15 minutos. El cambio en el pH a los 10 min de digestión ( $\Delta\text{pH}$  10 min) se utilizó en la Eq. 2 para calcular la digestibilidad de la proteína *in vitro*. Se midió en cada formulación al día 0 de almacenamiento.

$$IVPD = 65.66 + 18.10 \times 10\Delta\text{pH} \quad (2)$$

### 6.9. 6.6.1 Electroforesis

El perfil electroforético se realizó siguiendo la metodología de Laemmli, (1970). Se utilizaron geles de poliacrilamida, el gel concentrador al 5%, y gel separador al 13%.

Se tomó un gramo de muestra de las formulaciones de pan, se mezcló con buffer de muestra Trizma base (pH 6.8) con Dodecil Sulfato de Sodio (SDS) 0.12 M, glicerol 2 M, azul de bromofenol y  $\beta$ mercaptoetanol 10% (V/V), a una proporción muestra/solución tampón de 1 mg/mL, y se llevó a ebullición durante 5 minutos. Posteriormente se cargaron cada una de las muestras en los carriles del gel concentrador (15  $\mu$ l). Se sometieron los geles concentrador y separador a una corriente constante y sucesiva de 100 V, durante 1 h 40 min. La tinción del gel se realizó con azul brillante Coomassie R 250 0.05% (P/V) en metanol al 50% (V/V) y ácido acético al 10% (V/V) con agitación constante durante 15 minutos. El gel se llevó a lavado con agitación durante 12 h aproximadamente, en una solución de ácido acético / metanol / agua en proporción 1:4:5 (V/V). Se midió en cada formulación al día 0 de almacenamiento.

### 6.7 Digestibilidad de almidón

El contenido de almidón total (AT), Almidón de rápida digestión (ARD), almidón de lenta digestión (ALD) y almidón resistente (AR) se determinó mediante el uso de un kit enzimático K-DSTRS 01/22 (Megazyme International Ireland Ltd) por el método de Englyst *et al.*, (1992) para cada formulación a los días 0, 2 y 4 de almacenamiento calculado con las siguientes fórmulas Eq. (3, 4, 5, 6):

$$TS = \frac{TG - FG \times 0.9 \times 100}{W} \quad 3$$

Donde:

TG = glucosa total, FG = glucosa libre y 0.9 es un factor de conversión de glucosa a almidón, W = peso de la muestra.

$$RDS = \frac{G20 - FG \times 0.9 \times 100}{W} \quad 4$$

$$SDS = \frac{G120 - G20 \times 0.9 \times 100}{W} \quad 5$$

Donde: G20 = Contenido de glucosa después de 20 minutos de digestión, G120 = Contenido de glucosa después de 120 minutos de digestión

$$RS = TS - (RDS + SDS) \quad 6$$

Donde: TS = almidón total, RDS = almidón de rápida digestión, SDS= almidón de lenta digestión

Para la preparación de la muestra se pesó 1 g de muestra y se humectó con 1.0 mL de EtOH al 95% v/v, se agregaron 35 mL de tampón maleato se colocó la muestra en un baño de agua a 37 °C por 5 min con agitación a 170 rpm. Se añadieron 5 mL de solución de PAA/AMG (alfa amilasa pancreática y amiloglucosidasa), y se incubaron a 37 °C durante 5 min con agitación a 170 rpm.

Para la determinación de almidón digerible se retiró 1 mL de la solución de reacción en agitación a los 20 min (para determinar ARD), a los 120 min (para la determinación de ALD = almidón digerible a 120 min – almidón digerible a 20 min) y a 240 min (para determinación de ATD). Se añadió 1 mL de solución de la muestra a los 20 mL de solución de ácido acético 50 mM, se centrifugó a 13,000 rpm durante 5 min. Se añadió 0.1 mL de AMG diluido (100 U/mL), se mezcló e incubó a 50 °C durante 20 min. Posteriormente se leyó la absorbancia de la muestra y de los estándares de glucosa a 510 nm.

Para la determinación de AR se tomaron 4 mL de la suspensión después de 240 min (4 h) y se transfirió a un tubo con 4 mL de etanol al 95% v/v. Se centrifugó a 4,000 rpm durante 10 min y se decantó la solución sobrenadante. Se añadieron 2 mL de NaOH 1.7 M, agitando por 20 min en un baño de hielo sobre un agitador magnético. Se añadieron 8 mL de acetato de sodio 1.0 M (pH 3.8) y 0.1 mL de AMG (3300 U/mL), se

mezcló bien el contenido y colocó en un baño de agua a 50 °C se procedió a incubar durante 30 min.

Se transfirieron alícuotas de 0.1 mL de los sobrenadantes a tubos de ensayo de vidrio, se añadió 0.1 mL de tampón de acetato de sodio 100 mM (pH 4.5) y 3.0 mL de reactivo (glucosa oxidasa/peroxidasa) GOPOD. Se incubó a 50 °C durante 20 min. Posteriormente se leyó la absorbancia de la muestra y de los estándares de glucosa a 510 nm.

### 6.7.1 Análisis rápido de viscosidad

El análisis de las propiedades de pegado se llevó a cabo utilizando un Rapid Visco Analyzer (RVA; RVA-4500, Perten Instruments) y la metodología descrita por Chavarría-Fernández *et al.*, (2021). Se pesaron 3 g de harina y 25 g de agua, la muestra fue pesada directamente en un recipiente de aluminio, una vez pesada la muestra se añadió el agua para obtener un peso total de 28 g. La mezcla se homogeneizó con una paleta de plástico para evitar la formación de grumos. Se programó un ciclo de calentamiento y enfriamiento de 15 min en el que las muestras se sometieron a una temperatura de 50 °C durante 1 min, se calentaron a 90 °C en el min 4:42 y se mantuvo por 7:12 min a 95 °C, se enfrió a 50 °C a los 11 min, hasta terminar la prueba a los 13 min. Los parámetros obtenidos fueron la viscosidad pico (VP), Breakdown (BD), *Setback* (SB) y viscosidad final (VF). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

### 6.7.2 Difracción de rayos X

Los patrones de difracción de rayos X se obtuvieron con un difractómetro D2 Phaser (Bruker AXS, Inc, Karlsruhe, Alemania) operado a 30 mA y 40 kV, utilizando radiación Ni-filtered.CuK $\alpha$ . Los difractogramas recorrieron un intervalo de 2 $\theta$  de 3-40° utilizando una velocidad de barrido de 1 min<sup>-1</sup>. El porcentaje de cristalinidad (%C) se determinó a partir del difractograma calculando el área correspondiente a los picos cristalinos (A<sub>p</sub>; a partir de la diferencia entre el área bajo la curva y el área del fondo amorfo), el área total bajo la curva (A<sub>t</sub>) y el ruido instrumental (N), según la siguiente ecuación [Koteswara-Reddy *et al.*, 2015]:

$$\%C = \frac{A_p}{A_t - N} \times 100 \quad (7)$$

El halo amorfo se determinó a partir del componente amorfo del almidón obtenido mediante un procedimiento de extracción descrito en la ref. [Bogacheva *et al.*, 2001].



## **6.8 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa estadístico Sigma-Stat 2011 utilizando un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía y para evaluar las diferencias entre los tiempos de fermentación y los días de almacenamiento se realizó un análisis de varianza de dos vías. Para encontrar diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos, se utilizó la prueba de comparación de medias múltiple de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Se realizó una correlación de Pearson para evaluar la relación existente entre las horas de fermentación y días de almacenamiento contra la velocidad de digestión en proteína y almidón.

## VII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Cuantificación de BAL, levaduras y determinación de pH en el cultivo de masa madre

En la Tabla 4 se muestran los resultados del análisis microbiológico respecto a la densidad (log UFC/g) de BAL y levaduras presentes en el cultivo de masa madre a los días 0, 3 y 6 de fermentación, así como el valor de pH. Encontrándose un incremento estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) del día 0 al día 6 de fermentación tanto para BAL como para levaduras (de 4.18 a 9.15 log UFC/g y 3.76 a 5.23 log UFC/g respectivamente), por el contrario, se presentó un descenso del pH de 6.13 a 3.83 con diferencia significativa de  $p < 0.05$ .

Tomando en cuenta el parámetro establecido de BAL para considerar un cultivo de masa madre maduro deberá contener de 9 a 9.47 log UFC/g y para levaduras de 5 a 7.69 log UFC/g (Arendt *et al.*, 2007). Se puede afirmar que, la masa madre elaborada en esta investigación se encuentra dentro de los parámetros establecidos, así como también, muestra similitud con lo reportado por Demirkesen-Bicak *et al.*, (2021) el cual presentó  $9.26 \pm 0.09$  log UFC/g de BAL en una fermentación con harina de trigo integral a 25 °C, condiciones similares a las que se realizaron en el presente estudio.

El valor de pH inicial fue de  $6.13 \pm 0.02$  que disminuyó durante los días de fermentación finalizando con un pH de  $3.83 \pm 0.14$  lo que indica la madurez de la masa de acuerdo con Arendt *et al.*, (2007) en el cual se menciona que el pH de una masa madre de trigo que ha alcanzado la madurez fluctúa entre 3.5 a 4.3. Resultados similares se reportaron por Rizzello *et al.*, (2012) en masas madre de trigo con pH entre  $4.23 \pm 0.02$  y  $4.32 \pm 0.02$ .

El desarrollo microbiano en la masa madre puede estar influenciado por diversos factores como son el tipo de cereal, la temperatura, los períodos de alimentación o también conocido como *backslopping*, el tiempo de fermentación e inclusive la hidratación de la masa, por lo tanto, el perfil microbiano al final de la fermentación puede no tener similitud entre una masa madre u otra (Lau *et al.*, 2021).

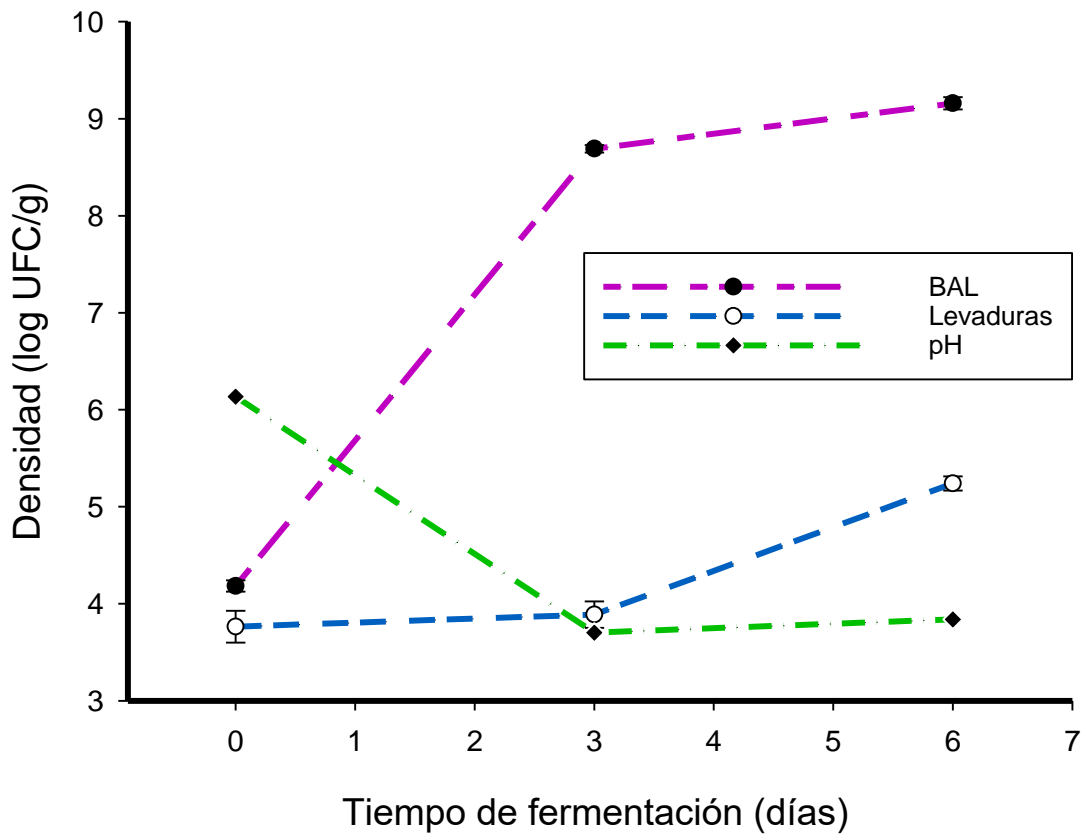
**TABLA 4. CARACTERIZACIÓN DE BAL, LEVADURAS Y PH EN CULTIVO DE MASA MADRE TIPO I**

Fermentación	BAL (log UFC/g)	Levaduras (log UFC/g)	pH
Día 0	4.18 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.76 ± 0.16 <sup>a</sup>	6.13 ± 0.02 <sup>c</sup>
Día 3	8.69 ± 0.03 <sup>b</sup>	3.88 ± 0.13 <sup>a</sup>	3.70 ± 0.15 <sup>a</sup>
Día 6	9.15 ± 0.06 <sup>c</sup>	5.23 ± 0.07 <sup>b</sup>	3.83 ± 0.14 <sup>b</sup>

Letras minúsculas (a-c) diferentes dentro de la misma columna representan las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las medias. Los resultados son el promedio de tres determinaciones  $\pm$  desviación estándar

La Figura 2 muestra el crecimiento de las BAL y levaduras en el cultivo de masa madre a los días 0, 3 y 6 de fermentación en este caso se puede notar un incremento tanto de las BAL como de levaduras siendo mayor en las BAL, esto puede deberse a que las levaduras tienen que soportar un entorno microbiano estresante caracterizado por un pH bajo, baja tensión de oxígeno y posiblemente baja cantidad de carbohidratos (maltosa) (De Vuyst *et al.*, 2016). Sin embargo, las interacciones durante la fermentación que están dadas principalmente por la disponibilidad de azúcares en la harina forman una relación trófica (mutualismo nutricional) entre BAL y levaduras (Oshiro *et al.*, 2021; De Vuyst *et al.*, 2016).

Esta interacción mutualista consiste en que las cepas de BAL heterofermentativas como *L. sanfranciscensis* cuentan con la capacidad de utilizar preferentemente la maltosa como fuente de energía convirtiendo la maltosa en glucosa-1-P y glucosa gracias a la enzima maltosa fosforilasa, por lo que la glucosa queda disponible para las levaduras específicas de la masa madre las cuales se caracterizan por ser negativas a la maltosa (De Vuyst *et al.*, 2016).



**Figura 2. Crecimiento de BAL, levaduras y cambio de pH en cultivo de masa madre tipo 1, durante los días de fermentación**

## 7.2 Análisis químico proximal en muestras de pan de masa madre

La Tabla 5 muestra los valores del análisis químico proximal reportados en 100 g de muestra, en la cual se aprecia que en comparación con el pan control, los panes fermentados con masa madre presentaron menor humedad ( $30.59 \pm 0.52$  -  $20.65 \pm 0.12$ ) y grasa ( $0.20 \pm 0.05$  -  $0.01 \pm 0.00$ ).

Estudios realizados en masas madre de trigo han demostrado que la absorción de agua aumenta con la producción de ácidos orgánicos (Arendt *et al.*, 2007) por lo que la acidez en la masa puede contribuir a una mayor humedad en el pan, sin embargo, contrario a esto en el presente estudio se encontró una ligera pérdida de humedad en los panes de masa madre, conforme aumentaron las horas de fermentación a temperatura ambiente, siendo menos significativa en el pan fermentado a 4 °C.

Lo que hace suponer que durante la fermentación ocurrió una migración de agua relacionada con la temperatura a la que estuvieron expuestos los panes. Un fenómeno similar se presentó en un estudio en el cual se fermentaron con BAL salchichas de cordero y fueron almacenadas a diferentes temperaturas, se observó que hubo mayor movilidad de agua en las salchichas almacenadas a altas temperaturas (20-22 °C) y mayor humedad en las que fueron almacenadas a 2-4 °C (Wu *et al.*, 1991). En cuanto a la disminución de grasa puede deberse a la actividad de las BAL y levaduras hidrolizando las moléculas de grasa en ácidos grasos libres y así reduciendo el contenido de grasa (Wulandari *et al.*, 2020).

El contenido de proteína en los panes de masa madre disminuyó en comparación al pan control, pero se vio aumentado durante las horas de fermentación a temperatura ambiente ( $8.48 \pm 0.06$  -  $8.76 \pm 0.27$ ), con un descenso a las 16 h de fermentación a 4 °C ( $5.05 \pm 0.06$ ). Resultados similares se observaron en un estudio realizado por Eze *et al.*, (2021) en el cual se evaluó yogur fermentado durante 5 horas a 43 °C, el cual presentó una mayor concentración de proteína durante el periodo de fermentación. En otro estudio en el que se evaluó el efecto de la fermentación de fufu sobre sus características nutricionales se observó una

**TABLA 5. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL EN 100 G DE MUESTRA DE PAN DE LEVADURA Y MASA MADRE A DIFERENTES HORAS DE FERMENTACIÓN**

	Harina de trigo	Control	4 h	6 h	8h	16 h
<b>Humedad</b> %	12.60 ± 0.03 <sup>a</sup>	37.16 ± 0.06 <sup>f</sup>	29.48 ± 0.44 <sup>d</sup>	30.59 ± 0.52 <sup>e</sup>	20.65 ± 0.12 <sup>b</sup>	27.52 ± 0.15 <sup>c</sup>
<b>Cenizas %</b>	1.07 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.64 ± 0.43 <sup>ab</sup>	1.81 ± 0.18 <sup>b</sup>	1.85 ± 0.14 <sup>b</sup>	2.18 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.74 ± 0.12 <sup>b</sup>
<b>Proteína %</b>	10.24 ± 0.03 <sup>d</sup>	10.74 ± 0.04 <sup>e</sup>	8.48 ± 0.06 <sup>c</sup>	7.17 ± 0.32 <sup>b</sup>	8.76 ± 0.27 <sup>c</sup>	5.05 ± 0.06 <sup>a</sup>
<b>Grasa %</b>	0.80 ± 0.13 <sup>d</sup>	0.25 ± 0.11 <sup>c</sup>	0.20 ± 0.05 <sup>bc</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.15 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.01 ± 0.00 <sup>a</sup>

Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$ . Los resultados son el promedio de tres determinaciones ± desviación estándar.

disminución de la proteína durante las primeras horas de fermentación y un aumento en las últimas horas (Oyewole & Odunfa, 1989).

El proceso de fermentación contribuye a la degradación de proteínas a péptidos de cadena corta por la acción de las enzimas proteolíticas secretadas por las BAL (Syrokou *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2021), así también, la temperatura de fermentación puede acelerar el proceso de degradación proteica desencadenando una autocatálisis de las BAL y convirtiendo la proteína en proteína microbiana (Sun *et al.*, 2020; Oyewole & Odunfa, 1989). Lo que puede explicar un incremento de proteína durante las primeras horas de fermentación a temperatura ambiente y el descenso en la muestra fermentada por 16 h a una temperatura de refrigeración (4 °C).

El contenido de cenizas en los panes elaborados con masa madre no presentó diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) en relación al pan control. Similar comportamiento y valores en el contenido de cenizas fueron reportados por Demirkesen-Bicak *et al.*, (2021).

### **7.3 Análisis de perfil de textura**

Los parámetros de textura (dureza, cohesividad, masticabilidad, resiliencia, elasticidad) son mostrados en la Tabla 6. El análisis estadístico de dos vías en este parámetro de textura se realizó con el fin de observar si la variable tiempo de fermentación o tiempo de almacenamiento juegan un papel importante sobre la textura de los panes de masa madre. La dureza es el parámetro más importante que muestra la fuerza máxima necesaria para comprimir el pan y es mostrado como el primer pico en la gráfica del TPA. La dureza en el pan control (C1:30) fermentado con levadura, mostro los valores más bajos de dureza en los diferentes tiempos de almacenamiento (0, 2 y 4 días). Sin embargo, en los panes de masa madre se observó un comportamiento de incremento de dureza conforme se incrementó el tiempo de fermentación y los días de almacenamiento. Gomez-Guillen *et al.*, (2002), reportaron que la dureza del pan está relacionada con un bajo contenido de humedad, que favorece la interacción entre el gluten.



Como se observa en la Tabla 5, el mayor contenido de humedad se presentó en el pan control y el menor contenido de humedad lo presentó el pan fermentado con masa madre por 8 h, esta muestra, por el contrario, presentó la mayor dureza. Otro estudio reportó que los valores de dureza incrementan cuando se adiciona masa madre e incrementa la temperatura de fermentación (Siepmann, *et al.*, 2019). El incremento de la dureza observado tanto en el pan control como en los panes de masa madre respecto a los días de almacenamiento, puede ser debido a la pérdida de humedad durante el almacenamiento, lo que podría estar favoreciendo la interacción entre las proteínas del gluten, fortaleciendo la estructura interna del pan. El análisis estadístico mostró que en general ambos factores, tiempo de fermentación y tiempo de almacenamiento influyen en el parámetro de dureza del pan ( $p < 0.05$ ).

La cohesión es un indicador entre la unión de los enlaces internos que componen la miga del pan que a su vez está relacionada con la energía necesaria para masticar los alimentos (Li *et al.*, 2021; Iglesias-Puig, & Haros, 2013). Los valores de cohesión se muestran en la Tabla 6, exhibiendo en el pan control valores de  $0.587 \pm 0.04$ ,  $0.519 \pm 0.03$  y  $0.422 \pm 0.01$  respecto a los días de almacenamiento de 0, 2 y 4, respectivamente. De acuerdo con el análisis estadístico la variable tiempo de almacenamiento no influye sobre la cohesión en los panes, ya que, no se observó diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, por el efecto del tiempo de fermentación valores mayores de cohesión fueron observados a las 8 h, seguido por el de 16 h, y valores más bajos de cohesión fueron observados en los tiempos de 4h y 6h de fermentación, no mostrando diferencias estadísticas entre ellos ( $p < 0.05$ ). Algunos reportes mencionan que las propiedades de textura como firmeza, masticabilidad pueden estar influenciadas por el incremento del peso molecular de las proteínas resultado de la acción de entrecruzamiento enzimático durante la hidrólisis de la masa (Marco *et al.*, 2008).

**TABLA 6. ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA (TPA) EN PANES DE MASA MADRE A DIFERENTES HORAS DE FERMENTACIÓN Y DÍAS DE ALMACENAMIENTO A 25 Y 4 °C**

	Fermentación (h)	Tiempo (días)		
		0	2	4
<b>Dureza (N)</b>	C 1:30	0.043 ± 0.00 <sup>a1</sup>	69.448 ± 8.30 <sup>b1</sup>	120.214 ± 0.24 <sup>c1</sup>
	4	0.260 ± 0.04 <sup>a2</sup>	64.076 ± 4.70 <sup>b1</sup>	238.636 ± 8.93 <sup>c2</sup>
	6	0.372 ± 0.03 <sup>a3</sup>	93.470 ± 2.63 <sup>b2</sup>	257.703 ± 10.44 <sup>c3</sup>
	8	0.991 ± 0.18 <sup>a5</sup>	116.705 ± 8.08 <sup>b3</sup>	304.265 ± 19.14 <sup>c4</sup>
	16*	0.537 ± 0.07 <sup>a4</sup>	124.942 ± 9.99 <sup>b3</sup>	347.915 ± 4.57 <sup>c5</sup>
<b>Cohesión</b>	C 1:30	0.587 ± 0.04 <sup>b2</sup>	0.519 ± 0.03 <sup>b2</sup>	0.422 ± 0.01 <sup>a1</sup>
	4	0.448 ± 0.08 <sup>a1</sup>	0.446 ± 0.00 <sup>a1</sup>	0.469 ± 0.01 <sup>a1</sup>
	6	0.486 ± 0.05 <sup>a1</sup>	0.428 ± 0.08 <sup>a1</sup>	0.451 ± 0.02 <sup>a1</sup>
	8	0.641 ± 0.07 <sup>a3</sup>	0.653 ± 0.00 <sup>a3</sup>	0.628 ± 0.04 <sup>a3</sup>
	16*	0.529 ± 0.07 <sup>a2</sup>	0.491 ± 0.13 <sup>a1</sup>	0.589 ± 0.03 <sup>a2</sup>
<b>Masticabilidad (N)</b>	C 1:30	0.012 ± 0.00 <sup>a1</sup>	30.280 ± 3.53 <sup>b1</sup>	43.849 ± 3.93 <sup>b1</sup>
	4	0.078 ± 0.03 <sup>a1</sup>	25.823 ± 1.94 <sup>b1</sup>	95.118 ± 14.30 <sup>c2</sup>
	6	0.115 ± 0.02 <sup>a2</sup>	34.983 ± 5.98 <sup>b1</sup>	100.917 ± 5.43 <sup>c3</sup>
	8	0.515 ± 0.05 <sup>a3</sup>	63.648 ± 4.10 <sup>b2</sup>	160.942 ± 2.70 <sup>c4</sup>
	16*	0.198 ± 0.06 <sup>a2</sup>	56.728 ± 19.98 <sup>b2</sup>	187.764 ± 15.81 <sup>c4</sup>
<b>Resiliencia</b>	C 1:30	0.288 ± 0.44 <sup>a1</sup>	0.320 ± 0.02 <sup>b2</sup>	0.269 ± 0.02 <sup>a1</sup>
	4	0.237 ± 0.04 <sup>a1</sup>	0.270 ± 0.01 <sup>b1</sup>	0.277 ± 0.01 <sup>b1</sup>
	6	0.223 ± 0.03 <sup>a1</sup>	0.275 ± 0.00 <sup>b1</sup>	0.249 ± 0.02 <sup>a1</sup>
	8	0.340 ± 0.06 <sup>b2</sup>	0.302 ± 0.01 <sup>b1</sup>	0.241 ± 0.03 <sup>a1</sup>
	16*	0.263 ± 0.04 <sup>a1</sup>	0.364 ± 0.06 <sup>b2</sup>	0.306 ± 0.00 <sup>ab2</sup>
<b>Elasticidad</b>	C 1:30	0.459 ± 0.04 <sup>a1</sup>	0.845 ± 0.10 <sup>b1</sup>	0.862 ± 0.04 <sup>b1</sup>
	4	0.649 ± 0.14 <sup>a2</sup>	0.903 ± 0.02 <sup>b2</sup>	0.848 ± 0.10 <sup>b1</sup>
	6	0.641 ± 0.13 <sup>a2</sup>	0.877 ± 0.02 <sup>b1</sup>	0.868 ± 0.03 <sup>b1</sup>
	8	0.821 ± 0.01 <sup>a3</sup>	0.835 ± 0.00 <sup>b1</sup>	0.843 ± 0.00 <sup>b1</sup>
	16*	0.697 ± 0.14 <sup>a2</sup>	0.906 ± 0.02 <sup>b2</sup>	0.914 ± 0.01 <sup>b2</sup>

ΔLetras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$ , por efecto de días de almacenamiento.

Números diferentes dentro de la misma columna indican una diferencia estadística significativa de  $p < 0.05$ , por efecto del tiempo de fermentación. Control (C); Horas (h); \* pan fermentado a 4 °C por 16 h. Los resultados son el promedio de tres determinaciones  $\pm$  desviación estándar.

Esto podría explicar los valores ligeramente mayores observados en el pan de masa madre obtenido a las 8 h de fermentación en los parámetros de dureza, cohesión, masticabilidad y resiliencia. Ya que como se observa en la Tabla 5 y figura 3, esta muestra presentó un incremento en el contenido de proteínas. Una alta cohesividad durante el tiempo de almacenamiento es deseable en el pan porque puede formar un bolo, en lugar de desintegrarse, durante la masticación (Calvin *et al.*, 2010). El análisis estadístico mostro que la variable tiempo de fermentación influye en el parámetro de cohesión.



**Figura 3. Imagen de la estructura interna de los panes de masa madre y pan control. Horas (h); Tiempo 0 de almacenamiento (T0)**

La masticabilidad se define como la fuerza necesaria para triturar y masticar un alimento hasta antes de tragarlo. Menores valores de masticabilidad fueron observados en el pan control (Ver Tabla 6), mostrando un incremento de ~13N, del día 2 al día 4 de almacenamiento, en comparación con los panes de masa madre. El tiempo de fermentación (4, 6, y 8h) y el almacenamiento (0, 2, y 4 días) mostraron tener efecto sobre la fuerza de masticabilidad, ya que se observa un incremento en los valores de masticabilidad para ambas variables de estudio, mostrando diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), comportamiento similar fue observado en la dureza por Demirkesen-Bicak *et al.*, (2021), reportaron que el tipo de masa madre, (Tipo 1; espontanea, Tipo 2; adición de lactobacillus), así como la temperatura de fermentación influyen en las propiedades de textura del pan obtenido. El pan de masa madre obtenido a las 16 h de fermentación a 4 °C, y recién elaborado (día 0) mostró una disminución en la masticabilidad (0.198 N), en comparación con el pan fermentado por 8 h a 30 °C, similar comportamiento fue también observado en la dureza, resiliencia y elasticidad. Este fenómeno podría ser explicado, ya que, durante la fermentación en

refrigeración la pérdida de agua pudo ser mínima, y esta podría estar actuando como plastificante, influyendo en los parámetros de dureza (Davidou *et al.*, 1996).

La resiliencia es una medida de la capacidad de un producto para volver a su posición original. Como se muestra en la Tabla 6, el pan obtenido de masa madre a las 8 h de fermentación a 25 °C, mostró los valores más altos de resiliencia (recién horneados), en comparación que los obtenidos a 4 h, 6 h, y pan control. Por otro lado, la temperatura de fermentación de la masa madre influye sobre las propiedades de textura, ya que el pan obtenido por fermentación de la masa por 16 h en frío (4°C) mostró valores menores que a las 8 h, comportamiento que fue observado en todas las propiedades de textura. Respecto al tiempo de almacenamiento podemos observar un ligero incremento al día 2 de almacenamiento, lo que podría concordar con la ligera disminución de la cohesividad. Una cohesividad menor indica una menor adhesión interna del pan (Calvin *et al.*, 2010), lo que podría indicar la facilidad del pan de regresar a su posición original, incrementando la resiliencia.

Sin embargo, al día 4 de almacenamiento, se observó una ligera disminución en la resiliencia del pan, lo que indica una mayor dureza del pan, incrementando, hasta 2 veces los valores observados en el día 2 de almacenamiento, este fenómeno podría estar asociado al reordenamiento de las cadenas de amilosa, el cual es favorecido en alimentos con altos contenidos de almidón, y por el tiempo de almacenamiento (Wanjuu *et al.*, 2018). Entonces esto provocaría una disminución de la capacidad del pan de regresar a su posición original después de aplicar una fuerza de compresión. Similar comportamiento fue presentado por Calvin *et al.*, (2010), en panes elaborados de almidones de cassava y sorgo pregelatinizado. Estos mismos autores mencionan que cambios en la elasticidad y la resiliencia reflejan cambios en la elasticidad de la miga. El análisis estadístico de dos vías mostró que los cambios en la resiliencia se deben más al efecto del tiempo de almacenamiento, que a las horas de fermentación (4, 6, y 8 h) entre los panes obtenidos de masa madre.

La elasticidad es un atributo muy importante de la calidad de los panes, ya que revela la capacidad de la muestra para recuperar su altura durante el tiempo que transcurre entre el final de la primera compresión y el inicio de la segunda. La elasticidad se asocia a un producto fresco y aireado (Sanz *et al.*, 2009) Por tanto, la calidad de

productos de panadería podría ser asociados a valores altos de elasticidad. Los resultados obtenidos de elasticidad en los panes de masa madre se muestra en la Tabla 6. Observando que los panes recién elaborados de masa madre mostraron un intervalo de elasticidad de 0.64 % a 0.821%, mayor al obtenido en el pan control con valores de 0.459%. Esto indica una mayor frescura y uniformidad en los alveolos (Ver Figura 3), el cual es más notorio en el pan de masa madre a las 8 h. Baixauli, (2008), reporto que la disminución de la elasticidad está asociada a una disminución del número de burbujas de aire (alveolos) y a la existencia de una matriz más densa. Este comportamiento también fue observado en este estudio (Ver Figura 3), en donde el pan control mostro menor elasticidad, presentando una matriz densa. Con respecto a los días de almacenamiento se puede observar que en general los valores de elasticidad incrementaron en el día 2, no mostrando diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), con el día 4 de almacenamiento. Los cambios en la elasticidad reflejan cambios en la elasticidad de la miga, este parámetro disminuye gradualmente, lo que implica que se puede mantener una recuperación retardada incluso en el pan almacenado (Moore *et al.*, 2004). Esto podría explicar el incremento de la elasticidad en el día 2 de almacenamiento. Otros autores han reportado que la elasticidad, al igual que la dureza, depende en gran medida del contenido de humedad, la redistribución de la humedad y la retrogradación del almidón (Osella *et al.*, 2005; Lazaridou & Biliaderis, 2009) durante el almacenamiento. El análisis estadístico mostró que la variable tiempo de almacenamiento hasta los 4 días influye más sobre los valores de elasticidad que la variable tiempo de fermentación.

#### **7.4 Análisis de color**

Los valores de luminosidad ( $L^*$ ) y cambio de color ( $\Delta E$ ) en las muestras de harinas obtenidas de los panes liofilizados de pan control (fermentado con levadura) y de masa madre fermentados a diferentes horas y temperaturas, así como, durante los días 0, 2 y 4 de almacenamiento se presentan en la Tabla 7. La luminosidad presento una disminución en los panes de masa madre conforme aumentaron las horas de fermentación a 25 °C en el día 0 de almacenamiento, la muestra fermentada por 16 h a 4 °C presentó una mayor  $L^*$  en comparación con las muestras de 4, 6 y 8 h. En

general todas las muestras de masa madre mostraron disminución estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en los valores de  $L^*$  al día 0 de almacenamiento, por otro lado, respecto a los días de almacenamiento no se encontraron diferencias significativas en el pan control, como se puede apreciar en las fotografías tomadas del pan entero y de las harinas obtenidas en los panes recién horneados (Tiempo 0), a los 2 y 4 días de almacenamiento (Figura 4). El efecto tiempo de fermentación en el pan de masa madre mostró tener mayor efecto sobre la  $L^*$ , que el tiempo de almacenamiento.

Un comportamiento similar se observó en panes de harina de trigo adicionada con harina de cacahuate germinado, disminuyendo el valor de  $L^*$  conforme incrementó el porcentaje de sustitución (Chinma *et al.*, 2023). Así también, otro estudio en el que se evaluaron las propiedades de panes fermentados con masa madre y adicionados con extracto de lúpulo mostró una disminución de  $L^*$  y aumento de  $\Delta E$  en comparación con la muestra control (Irakli *et al.*, 2019). La disminución de  $L^*$  con el incremento en el tiempo de fermentación puede atribuirse a la hidrólisis parcial de las proteínas del gluten contenidas en el pan, dando lugar probablemente al fenómeno de oscurecimiento no enzimático, también conocido como reacciones de Maillard, favorecido por la formación de azúcares reductores y aminoácidos libres producto de la fermentación de la masa madre que son transformados durante el proceso de horneado dando lugar al color en la corteza del pan (Durmaz *et al.*, 2023; Torrieri *et al.*, 2014)

**TABLA 7. LUMINOSIDAD (L\*) Y CAMBIO DE COLOR ( $\Delta E$ ) EN PANES DE LEVADURA Y MASA MADRE A DIFERENTES HORAS DE FERMENTACIÓN Y DÍAS DE ALMACENAMIENTO**

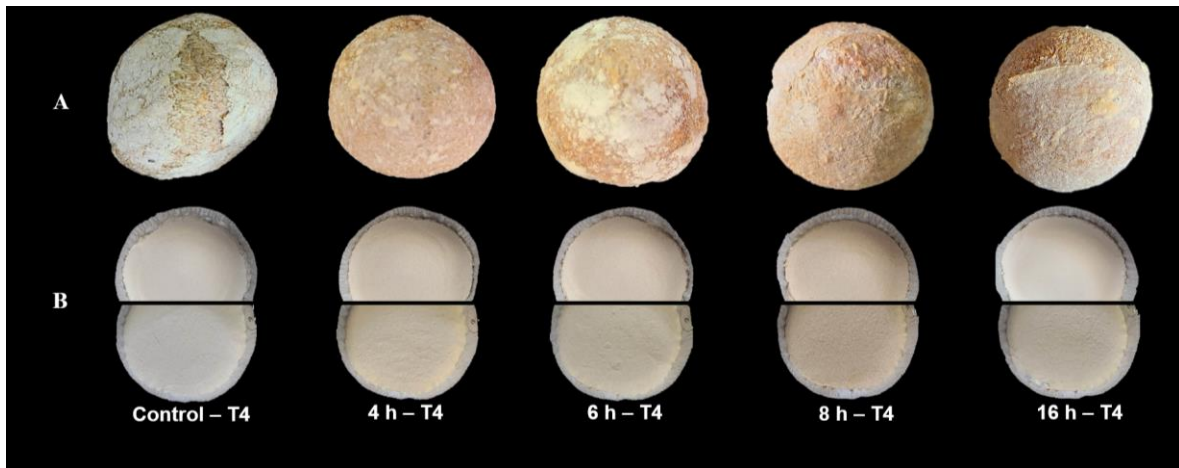
Muestra		Días de almacenamiento					
		0	2	4	0	2	4
(T)	(h)	L*			$\Delta E$		
	C	87.00 ±	87.67 ±	87.68 ±	-	-	-
	1:30	1.01 <sup>a5</sup>	0.54 <sup>a4</sup>	0.15 <sup>a3</sup>			
<b>25 °C</b>	4	83.43 ±	82.67 ±	82.79 ±	5.21 ± 1.01 <sup>a3</sup>	6.58 ± 0.95 <sup>b1</sup>	6.60 ± 0.11 <sup>b2</sup>
		0.82 <sup>a3</sup>	0.54 <sup>a2</sup>	0.41 <sup>a2</sup>			
	6	80.72 ±	81.77 ±	83.98 ±	7.20 ± 0.79 <sup>b3</sup>	7.07 ±	5.06 ± 0.91 <sup>a1</sup>
		0.55 <sup>a2</sup>	0.85 <sup>b2</sup>	0.77 <sup>c2</sup>		1.58 <sup>b12</sup>	
	8	72.19 ±	74.55 ±	73.77 ±	16.78 ±	15.91 ±	17.26 ±
		0.85 <sup>a1</sup>	0.41 <sup>b1</sup>	0.39 <sup>b1</sup>	0.84 <sup>ab4</sup>	0.87 <sup>a3</sup>	0.62 <sup>b3</sup>
<b>4 °C</b>	16*	85.13 ±	84.12 ±	83.38 ±	2.84 ± 1.00 <sup>a1</sup>	5.40 ± 0.54 <sup>b1</sup>	7.09 ± 0.29 <sup>c2</sup>
		0.60 <sup>c4</sup>	0.39 <sup>b3</sup>	0.41 <sup>a2</sup>			

Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$ , por efecto de días de almacenamiento. Números diferentes dentro de la misma columna indican una diferencia estadística significativa de  $p < 0.05$ , por efecto de las horas de fermentación. Horas (h); \* pan fermentado a 4 °C por 16 h; Pan control (C). Los resultados son el promedio de 10 determinaciones  $\pm$  desviación estándar.



En la Figura 4, se observa que la harina obtenida del pan de masa madre a las 16 h (4 °C), es ligeramente más clara que las harinas de panes de masa madre fermentados a 25 °C, tanto en los panes recién elaborados (T0), como en los almacenados por 4 días (T4). El aumento de L\* en el pan fermentado por 16 h a 4 °C en comparación con los panes fermentados a 25 °C se puede atribuir a la temperatura de fermentación, ya que, la actividad de las BAL y levaduras a bajas temperaturas disminuye, por lo tanto, se puede ver reducida la cantidad de azúcares reductores y aminoácidos libres (Zeng *et al.*, 2023).

El color se considera un parámetro de calidad en los panes y dependen fundamentalmente de las condiciones de fabricación, entre las que se puede destacar el pH, contenido de agua, azúcares reductores y aminoácidos libres, así como, el tiempo y temperatura de horneado, Cacak-Pietrzak *et al.*, (2021) menciona que, de acuerdo con la Comisión Internacional de Iluminación (CII), la diferencia de color se clasifica de la siguiente manera:  $\Delta E$  en un intervalo de 0-2 indica diferencia irreconocible; intervalo entre 2-3.5 indica una diferencia de color reconocible por un observador inexperto; y valores de más de 3.5 representan una clara diferencia de color. Basado en los parámetros de la CII, un aumento en los valores de  $\Delta E$ , indican una notable diferencia en el color como se observa en este estudio en la muestra fermentada por 8 h con  $16.78 \pm 0.84$ ,  $15.91 \pm 0.87$  y  $17.26 \pm 0.62$ , con relación a los días de almacenamiento 0, 2 y 4, respectivamente, seguidos por la fermentación de 6 y 4 h. Este comportamiento puede ser debido a una mayor hidrólisis de proteínas por acción de las BAL durante un mayor tiempo de fermentación y mayor temperatura, lo que contribuye a que se lleven a cabo las reacciones de Maillard y caramelización durante el horneado, lo que impacta en el color final del producto. Esta diferencia en color puede ser observada en la Figura 4 en donde  $8 \text{ h} > 6 \text{ h} > 4 \text{ h}$ .



**Figura 4. Color en harinas de pan control y panes de masa madre a diferentes horas de fermentación y días de almacenamiento. Panes enteros (A); Harinas obtenidas de los panes (B); Horas (h); Tiempo cero de almacenamiento (T0); Tiempo cuatro de almacenamiento (T4).**

### 7.5 Porcentaje de digestibilidad de proteína *in vitro* (IVPD)

La Tabla 8 se muestra el porcentaje de digestibilidad de proteína *in vitro*. Para esta determinación se utilizó un protocolo que imita la digestión gastrointestinal "in vitro", que estima la digestión proteica de los diferentes panes de estudio, así como la muestra de harina de trigo, materia prima para la elaboración de los panes. En la muestra fermentada a las 8 h a 25 °C se obtuvo un porcentaje de digestibilidad del  $79.59 \pm 0.83\%$ , estadísticamente mayor a la fermentación de 4 h a 25 °C con un porcentaje de digestibilidad del  $77.60 \pm 0.31\%$ . El pan fermentado por 16 h a 4 °C obtuvo un valor de  $80.26 \pm 0.27\%$ , significativamente ( $p < 0.05$ ) mayor en comparación con la muestra control que obtuvo un porcentaje de  $78.26 \pm 0.58\%$ .

Las muestras de masa madre fermentadas durante 4, 6 y 8 h a 25 °C no presentaron diferencias significativas respecto al pan control, sin embargo, la muestra de 16 h a 4 °C si lo presenta, a pesar de que una temperatura mayor de fermentación, reduce el pH, incrementa la actividad de las BAL y levaduras favoreciendo la acidificación y proteólisis en la masa (Zeng *et al.*, 2023), es probable que el tiempo de fermentación haya sido demasiado corto sobre todo en la muestra de 4 h de fermentación, limitando la actividad de las BAL, así también, pueden influir otros factores como complejos con almidón o la presencia de factores anti nutricios (Costantini *et al.*, 2022). Diversos autores han destacado que la fermentación prolongada de la masa madre puede afectar de manera positiva la digestión de proteína *in vitro* por la acción de las BAL y posiblemente una reducción de algunos factores anti nutricios como el inhibidor de tripsina (Thiele *et al.*, 2002; Curiel, 2014; Rizzello *et al.*, 2012). Por lo tanto, en este caso el aumento de digestibilidad de proteína se atribuye principalmente al tiempo prolongado de fermentación.

Un comportamiento similar se observó en un estudio donde se evaluaron panes de diferentes cereales que fueron fermentados con masa madre y levadura comercial durante 6 y 24 h, obteniendo un mayor porcentaje de digestibilidad en los panes fermentados con masa madre por 24 h en comparación con los panes fermentados con levadura comercial (Costantini *et al.*, 2022).

**TABLA 8. PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD EN HARINA DE TRIGO, PAN DE LEVADURA Y PANES DE MASA MADRE A DIFERENTES HORAS DE FERMENTACIÓN A 25 °C Y 4 °C.**

Muestras		% de digestibilidad
(T)	(h)	
	<b>Harina</b>	78.51 ± 0.25 <sup>ab</sup>
<b>25 ° C</b>	C 1:30	78.26 ± 0.58 <sup>ab</sup>
	4	77.60 ± 0.31 <sup>a</sup>
	6	78.57 ± 0.27 <sup>ab</sup>
	8	79.59 ± 0.83 <sup>bc</sup>
<b>4 ° C</b>	16*	80.26 ± 0.27 <sup>c</sup>

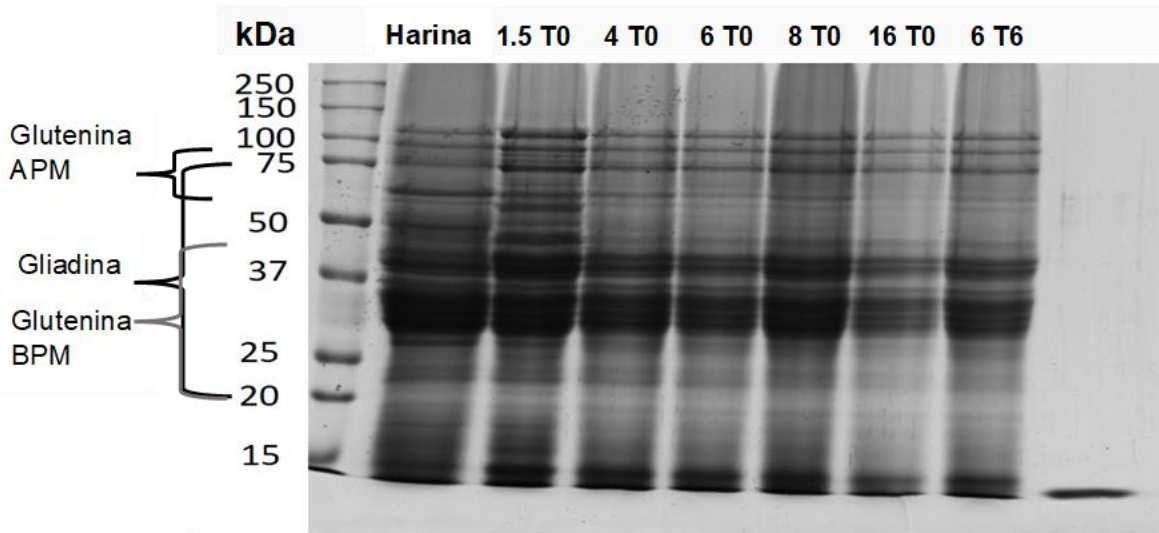
Letras minúsculas diferentes (a-c) indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$ , por efecto de las horas de fermentación. Pan control (C); Temperatura (T); Horas (h); \* pan fermentado a 4 °C por 16 h. Los resultados son el promedio de tres determinaciones ± desviación estándar.

## 7.6 Electroforesis

En la Figura 5 se puede apreciar el perfil electroforético obtenido para las proteínas extraídas de las diferentes muestras de harina de trigo y de panes fermentados con levadura y masa madre a diferentes horas. De acuerdo con Cho *et al.*, (2021), las principales proteínas presentes en el trigo son las proteínas del gluten (gliadinas y gluteninas) las gliadinas se dividen en  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\omega$  dependiendo su peso molecular que está entre 20 a 75 kDa, por otro lado, se encuentran las gluteninas formadas por dos grupos de subunidades las primeras de bajo peso molecular (BPM) de 20 a 45 kDa y las segundas de alto peso molecular (APM) entre 70 a 90 kDa, en base a estos datos podemos relacionar los hallazgos observados en la Figura 5.

En este caso el marcador de peso molecular (15 – 250 kDa) se presenta en la primera línea de izquierda a derecha, continuando con la muestra de harina de trigo seguida del pan control (fermentado con levadura) y los panes fermentados con masa madre a 4, 6, 8 y 16 h, así como, una muestra del pan fermentado a 6 h el día 6 de almacenamiento, con el fin de conocer si el tiempo de almacenamiento tendría algún efecto en la hidrólisis de las proteínas, no encontrando una diferencia en la intensidad de las bandas de pesos moleculares, lo que indica que el tiempo de almacenamiento no influye en la degradación de las proteínas. La línea final contiene 1 $\mu$ g de lisozima pura como referente de carga.

Se puede notar que el pan control presenta las bandas más intensas y de mayor espesor en las fracciones proteicas entre 20 a 100 kDa, lo que indica la presencia de fracciones pertenecientes a gliadinas y gluteninas, por el contrario, las muestras de pan fermentadas con masa madre muestran una ligera degradación durante las horas de fermentación en las bandas 25, 40, 65, 75 y 100 kDa pertenecientes a las fracciones de gliadinas y gluteninas de APM y BPM. Se observó una disminución de las fracciones proteicas en la muestra de 4 h, degradándose ligeramente más en la muestra de 6 h, con un incremento a las 8 h de fermentación a 25 °C, este fenómeno está relacionado directamente con el contenido de proteína (Tabla 5).



**Figura 5. Patrón electroforético en SDS-PAGE de harina de trigo, pan control y panes fermentados con masa madre a diferentes horas.**

La muestra de 16 h de fermentación a 4 °C fue la que presentó las bandas proteicas más tenues, a pesar que la fermentación a bajas temperaturas ralentiza la actividad proteolítica (Sun *et al.*, 2020). Es probable que el incremento en horas de fermentación (de 8 a 16 h) haya favorecido la proteólisis en la muestra fermentada a 4 °C. Comportamiento similar fue reportado en masas madre de harina de trigo observándose bandas muy débiles alrededor de 15, 25 y 40 kDa después de 24 horas de fermentación (Fu *et al.*, 2020). Yin *et al.*, (2015) analizaron masas madre de trigo fermentadas con *Lactobacillus Plantarum* en mezcla con levadura y masas solo con levadura comercial, presentando mayor proteólisis (disminución de espesor e intensidad de las bandas) en las masas madre con el microorganismo en comparación con las que solo fueron fermentadas con levadura comercial, a la vez que aumentó el tiempo de fermentación.

Estos resultados pueden relacionarse con los reportados en la Tabla 8, donde se muestra un mayor porcentaje de digestibilidad en el pan fermentado a las 16 h, lo cual puede deberse a la actividad de las peptidasas microbianas durante las horas de fermentación, que se reflejó en la degradación de secuencias ricas en prolina pertenecientes a las fracciones de gliadina presentes en el trigo, ya que estas proteínas en abundancia provocan una digestión incompleta desencadenando síntomas gastrointestinales (Scherf *et al.*, 2016; Costantini *et al.*, 2022).

## 7.7 Digestibilidad de almidón

Muchos factores intrínsecos y extrínsecos pueden afectar a la digestibilidad del almidón en el pan de trigo. Los ingredientes básicos del pan de trigo son la harina de trigo, el agua y levadura, que se mezclan, amasan, fermentan y, finalmente, se hornean para elaborar productos de panadería. La composición de estos ingredientes puede afectar en gran medida a la digestibilidad del almidón presente en el pan de trigo (Qi *et al.*, 2022).

Los resultados de las fracciones de almidón de rápida (ARD), lenta digestión (ALD) y almidón resistente (AR) para cada una de las formulaciones y el efecto de los días de almacenamiento se muestran en la Tabla 5. En general, se observa que los primeros dos días de almacenamiento no afectaron la proporción de ARD, ya que entre el día 0 y el día 2 de almacenamiento no se observa diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, se puede observar que en el día 4 de almacenamiento aproximadamente hay una reducción promedio del 10%, en la taza del ARD en todas las muestras. Este comportamiento puede ser atribuido a que, en los primeros días de almacenamiento, no hay un reordenamiento molecular de las cadenas de amilosa que impacte en la taza del ARD, pero a los 4 días de almacenamiento este reordenamiento de las cadenas de amilosa y amilopectina podría ya estar influenciando la velocidad de hidrolisis (Corrado *et al.*, 2023) en el pan. Similar comportamiento fue reportado por Shumoy *et al.*, (2018), en panes fortificados con harina de teff, fermentados con masa madre, a los 5 días de almacenamiento.

En relación a las horas de fermentación la muestra control y el pan fermentado con masa madre por 4 h presentaron mayor % de ALD, en panes recién elaborados y también respecto a los días de almacenamiento, en comparación al % de ALD en los panes de masa madre fermentados a 6, 8 y 16 h. Estos altos valores pueden ser debido a factores como tiempo de hidrolisis del almidón, ya que el tiempo de fermentación (hidrolisis) en el pan control (1:30 h) y de 4 h para BAL (masa madre), es muy corto por lo que podrían quedar algunos gránulos de almidón intactos, contribuyendo a la cristalinidad, impactando en la velocidad de hidrolisis del pan.

La disminución del ARD, e incremento del ALD y AR es debido a que, durante el almacenamiento, el almidón gelatinizado en los panes inicia un reordenamiento



molecular de cadenas de amilosa (retrogradación), impactando en la tasa de hidrolisis del ALD y el contenido de AR. Con respecto a los valores obtenidos de ALD en los panes de masa madre no se observó un comportamiento claro respecto a que si el tiempo de fermentación o el tiempo de almacenamiento influyen en este parámetro. Mas estudios podrían ser enfocados en este sentido para dilucidar a que se debe este comportamiento, Shumoy *et al.*, (2018), también observo en resultados obtenidos en panes hechos de harina de trigo y tef, fermentados con masa madre, en donde estudio el efecto de las diferentes concentraciones de la masa madre y tiempo de almacenamiento sobre la tasa de digestión del almidón, reportando que no hay una influencia clara de las proporciones de masa madre y el tiempo de almacenamiento sobre el contenido de ARD y ALD, en los panes.

El contenido de proteína presentes en la harina de trigo también podría interferir en diversos mecanismos que reducen la digestibilidad del almidón, debido a que, se puede llegar a formar una red que atrapa el almidón mediante enlaces disulfuro, competir con la absorción del agua lo cual impide una adecuada gelatinización de almidón durante la cocción y formar complejos binarios (gluten-almidón) mediante puentes de hidrógeno e interacciones no polares inhibiendo la actividad de las enzimas digestivas (Qi *et al.*, 2022).

El contenido de AR en el día 0 de almacenamiento fue significativamente menor ( $p < 0.05$ ) en las muestras fermentadas con masa madre por 6, 8 y 16 h. Sin embargo, con el incremento del tiempo de almacenamiento se observa un incremento en el contenido de AR, el cual es más notorio en el día 4 de almacenamiento, observando una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), en comparación con los días 0 y 2 de almacenamiento.

**TABLA 9. DIGESTIBILIDAD DE ALMIDÓN (%) EN PANES DE MASA MADRE CON DIFERENTES HORAS DE FERMENTACIÓN Y DÍAS DE ALMACENAMIENTO**

Muestra		Digestibilidad de almidón		
		Días de almacenamiento		
(T)	(h)	0	2	4
<b>Almidón de rápida digestión</b>				
25 °C	C 1:30	71.16 ± 0.45 <sup>b1</sup>	70.10 ± 3.78 <sup>b1</sup>	53.30 ± 0.70 <sup>a1</sup>
	4	67.15 ± 1.73 <sup>b1</sup>	68.85 ± 2.85 <sup>b1</sup>	58.58 ± 0.91 <sup>a1</sup>
	6	81.12 ± 0.20 <sup>b2</sup>	79.01 ± 1.09 <sup>b2</sup>	64.74 ± 0.81 <sup>a2</sup>
	8	76.00 ± 2.92 <sup>b2</sup>	76.35 ± 0.82 <sup>b2</sup>	65.51 ± 1.48 <sup>a2</sup>
4 °C	16*	77.42 ± 0.27 <sup>b2</sup>	77.04 ± 0.55 <sup>b2</sup>	66.85 ± 0.83 <sup>a2</sup>
<b>Almidón de lenta digestión</b>				
25 °C	C 1:30	14.43 ± 0.36 <sup>a2</sup>	15.92 ± 0.93 <sup>b3</sup>	25.94 ± 0.09 <sup>c4</sup>
	4	14.98 ± 0.46 <sup>a2</sup>	14.80 ± 0.92 <sup>a3</sup>	18.56 ± 3.18 <sup>b3</sup>
	6	7.94 ± 0.05 <sup>a1</sup>	9.48 ± 0.91 <sup>b2</sup>	7.08 ± 0.27 <sup>a1</sup>
	8	7.37 ± 1.54 <sup>a1</sup>	6.22 ± 0.27 <sup>a1</sup>	6.18 ± 0.25 <sup>a1</sup>
4 °C	16*	7.22 ± 0.25 <sup>a1</sup>	8.32 ± 0.18 <sup>ab2</sup>	10.28 ± 2.29 <sup>b2</sup>
<b>Almidón resistente</b>				
25 °C	C 1:30	0.99 ± 0.01 <sup>a2</sup>	1.06 ± 0.01 <sup>a2</sup>	1.35 ± 0.07 <sup>b1</sup>
	4	0.86 ± 0.00 <sup>a2</sup>	0.91 ± 0.01 <sup>a2</sup>	1.78 ± 0.09 <sup>b2</sup>
	6	0.74 ± 0.10 <sup>a1</sup>	0.84 ± 0.08 <sup>a1</sup>	1.3 ± 0.01 <sup>b1</sup>
	8	0.69 ± 0.05 <sup>a1</sup>	0.80 ± 0.02 <sup>a1</sup>	1.45 ± 0.03 <sup>b1</sup>

---

<b>4 °C</b>	16*	0.73 ± 0.05 <sup>a1</sup>	1.03 ± 0.01 <sup>b2</sup>	1.32 ± 0.04 <sup>c1</sup>
-------------	-----	---------------------------	---------------------------	---------------------------

---

Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$ , por efecto de días de almacenamiento. Números diferentes dentro de la misma columna indican una diferencia estadística significativa de  $p < 0.05$ , por efecto de las horas de fermentación. Pan control (C); Horas (h); \* pan fermentado a 4 °C por 16 h. Los resultados son el promedio de tres determinaciones  $\pm$  desviación estándar.

Patrón inverso al observado con el contenido de ARD. El contenido de AR formado durante el almacenamiento fue mayor en los panes fermentado con masa madre que en el pan fermentado con levadura, este % fue obtenido de la resta entre el Tiempo 4 y el Tiempo 0 (T4-T0), con valores para el pan control de 0.36% y para los de masa madre de 0.92%, 0.56%, 0.76%, y 0.59%, para 4 h, 6 h, 8 h y 16 h de fermentación, respectivamente. Este mayor incremento de AR en lo panes de masa madre puede deberse a varios factores, como la integridad cristalina del almidón de trigo al inicio de la hidrólisis (Wang et al., (2021), a la formación de ácidos orgánicos durante la fermentación por BAL, lo que afecta la velocidad de hidrólisis del almidón (Stamataki et al., 2017), y después de que se lleva el proceso de horneado del pan, este incremento de AR está asociado con la retrogradación de las cadenas de amilosa. La retrogradación es el fenómeno de recristalización, en el cual el almidón gelatinizado pasa del estado disperso o amorfo a un estado agregado o cristalino (Bello-Pérez et al., 2005). Chung & Liu, (2009), mencionan que hay una mayor tendencia a la retrogradación en las fracciones de amilosa que hayan sufrido una mayor hidrólisis enzimática o tengan un menor peso molecular, favoreciendo la movilización de estas en el medio para la formación de doble hélices durante el enfriamiento. Este fenómeno podría estar ocurriendo en los panes de masa madre, a mayor tiempo de fermentación mayor hidrólisis de amilosa, y por ende mayor reorganización molecular. Por lo tanto, los posibles granos intactos que resisten la gelatinización a tiempos cortos de hidrólisis, la formación de ácidos orgánicos durante la fermentación (LAB) y la temperatura de fermentación en la elaboración de panes de masa madre (Hilal Demirkesen-Bicak et al. 2021), podrían incluir en la formación de AR en los panes de masa madre.

### 7.7.1 Perfil de viscosidad

En relación al perfil de viscosidad que se muestra en la Tabla 10, se aprecia un pico de viscosidad (PV) mayor en el pan control ( $270.3 \pm 7.50 - 295.3 \pm 0.57$  cP) en comparación con los panes de masa madre y un valor estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) menor en el pan fermentado por 8 h ( $100.3 \pm 1.15 - 110.6 \pm 2.51$  cP), no encontrándose grandes diferencias significativas durante los días de almacenamiento. En relación a la viscosidad final (VF) los panes de masa madre fermentados a 4 y 16 h ( $230 \pm 2.64 - 241.6 \pm 7.37$  cP y  $242.6 \pm 2.08 - 245 \pm 2$  cP respectivamente), así como, el pan control ( $239.3 \pm 3.5 - 252.3 \pm 0.57$  cP) presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) mayores a los panes fermentados por 6 y 8 h, por otro lado se observó diferencia estadísticamente menor en el pan fermentado por 8 h ( $132 \pm 1 - 146 \pm 2.64$  cP) con el mismo comportamiento tanto en el día 0 como el día 4 de almacenamiento (Tabla 10).

Hong *et al.*, 2022 reportaron un comportamiento similar en almidón de trigo fermentado con bifidobacterias a diferentes tiempos de fermentación (de 0 a 12 h), mostrando una disminución de la viscosidad durante las horas de fermentación, este hallazgo nos lleva a creer que, durante la fermentación, la amilopeptina pierde su capacidad de absorber y retener moléculas de agua, (lo que se traduce en una mayor viscosidad). Esto ocurre debido al ataque enzimático que sufren las cadenas de amilopeptina, reduciendo así su grado de ramificación (Li *et al.*, 2017).

En relación a los resultados de *breakdown* que indica la estabilidad y el grado de desintegración de los gránulos de almidón al verse disminuido este valor, se observa en la Tabla 10 una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) mayor en el pan control ( $77 \pm 1.73 - 81.6 \pm 0.57$  cP) en comparación con los panes de masa madre con una ligera disminución durante el almacenamiento.

**TABLA 10. PROPIEDADES DE PEGADO DE LAS FORMULACIONES CON DIFERENTES HORAS DE FERMENTACIÓN Y DÍAS DE ALMACENAMIENTO EN PANES DE MASA MADRE**

Propiedades de pegado				
Muestra		Días de almacenamiento		
(T)	(h)	0	2	4
<b>PV</b>				
<b>25 °C</b>	1:30 C	270.3 ± 7.50 <sup>a4</sup>	295.3 ± 0.57 <sup>b3</sup>	280 ± 3.60 <sup>a3</sup>
	4	219.6 ± 2.30 <sup>b3</sup>	223 ± 6.08 <sup>b2</sup>	214.3 ± 1.52 <sup>a2</sup>
	6	185.3 ± 2.30 <sup>a2</sup>	211.3 ± 2.88 <sup>b2</sup>	226.3 ± 1.15 <sup>c2</sup>
	8	110.6 ± 2.51 <sup>b1</sup>	101 ± 1 <sup>a1</sup>	100.3 ± 1.15 <sup>a1</sup>
<b>4 °C</b>	16*	214 ± 2 <sup>a3</sup>	222.3 ± 0.57 <sup>b2</sup>	220 ± 2.64 <sup>a2</sup>
<b>VF</b>				
<b>25 °C</b>	1:30 C	243.6 ± 6.80 <sup>a3</sup>	252.3 ± 0.57 <sup>b2</sup>	239.3 ± 3.51 <sup>a23</sup>
	4	239 ± 2.64 <sup>b23</sup>	241.6 ± 7.37 <sup>b2</sup>	230 ± 2.64 <sup>a2</sup>
	6	212 ± 0.57 <sup>a2</sup>	230.3 ± 1.15 <sup>b2</sup>	247.3 ± 0.57 <sup>c3</sup>
	8	146 ± 2.64 <sup>b1</sup>	135.6 ± 1.52 <sup>a1</sup>	132 ± 1.00 <sup>a1</sup>
<b>4 °C</b>	16*	245 ± 2.00 <sup>a3</sup>	243.3 ± 0.57 <sup>a2</sup>	242.6 ± 2.08 <sup>a3</sup>
<b>Breakdown</b>				
<b>25 °C</b>	1:30 C	81.6 ± 0.571 <sup>b4</sup>	80.3 ± 0.57 <sup>ab3</sup>	77 ± 1.73 <sup>a4</sup>
	4	63.3 ± 0.57 <sup>b3</sup>	57 ± 2.00 <sup>a2</sup>	53.6 ± 1.52 <sup>a2</sup>
	6	51 ± 1.73 <sup>a2</sup>	60 ± 1.73 <sup>b2</sup>	65.3 ± 1.15 <sup>c3</sup>
	8	25.6 ± 0.57 <sup>a1</sup>	24 ± 0.01 <sup>a1</sup>	22.6 ± 0.57 <sup>a1</sup>
<b>4 °C</b>	16* C	66 ± 2.00 <sup>b3</sup>	65.3 ± 3.21 <sup>ab2</sup>	62.3 ± 0.57 <sup>a3</sup>
<b>Setback</b>				
<b>25 °C</b>	1:30 C	55 ± 2.64 <sup>b1</sup>	37.3 ± 1.52 <sup>a1</sup>	36.3 ± 1.52 <sup>a1</sup>
	4	82.6 ± 1.15 <sup>b2</sup>	75.6 ± 4.16 <sup>ab3</sup>	69.3 ± 2.88 <sup>a3</sup>

	6	78.3 ± 3.78 <sup>a2</sup>	79 ± 3.46 <sup>a3</sup>	86.3 ± 1.52 <sup>b4</sup>
	8	61 ± 0.01 <sup>b1</sup>	58.6 ± 0.57 <sup>b2</sup>	54.3 ± 1.15 <sup>a2</sup>
<b>4 °C</b>	16* C	97 ± 2 <sup>b3</sup>	86.3 ± 3.21 <sup>a3</sup>	85 ± 1.73 <sup>a4</sup>

Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$ , por efecto de días de almacenamiento. Números diferentes dentro de la misma columna indican una diferencia estadística significativa de  $p < 0.05$ , por efecto de las horas de fermentación. Pan control (C); Horas (h); \* pan fermentado a 4 °C por 16 h; pico de viscosidad (PV); viscosidad final (VF). Los resultados son el promedio de tres determinaciones ± desviación estándar.

Los valores más bajos de breakdown se observaron en el pan fermentado por 8 h ( $22.6 \pm 0.57$  -  $25.6 \pm 0.57$  cP) con diferencia estadística significativa de  $p < 0.05$  en comparación con los demás tratamientos, pero sin diferencias estadísticas durante el almacenamiento. Lo que quiere decir que los gránulos de almidón se volvieron menos resistentes al someterse a la fermentación del ácido láctico, principalmente al aumento en las horas de fermentación a una temperatura de 25 °C.

Por otro lado, los valores más altos estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) de *setback* que hace referencia a la tendencia a la retrogradación durante el proceso de enfriamiento, se presentaron en la muestra de pan fermentada a las 16 h ( $85 \pm 1.73$  -  $97 \pm 2$  cP), por el contrario, los valores más bajos los obtuvo el pan control ( $36.3 \pm 1.52$  -  $55 \pm 2.64$  cP), en ambos casos se observó una disminución estadística significativa durante los días de almacenamiento (Tabla 10).

Estos resultados indican que los panes fermentados por 16 h mostraron una mayor tendencia a la retrogradación, lo que puede suponer un mayor grado de lixiviación en las moléculas de amilosa y la presencia de restos de almidón gelatinizado (Yan *et al.*, 2021; Thakaeng *et al.*, 2021).

Zhang *et al.*, 2019 evaluaron las propiedades de pegado en panes fermentados con masa madre y adicionados con dextrano los cuales presentaron un comportamiento similar al de este estudio, mostrando valores reducidos de viscosidad y aumento en los valores de *setback* en comparación con el pan control, probablemente la mayor tendencia a retrogradación en los panes fermentados se deba a una mayor degradación de la amilosa por un ambiente ácido, promoviendo la movilidad de la amilosa y favoreciendo a la cristalización (Zhang *et al.*, 2019).



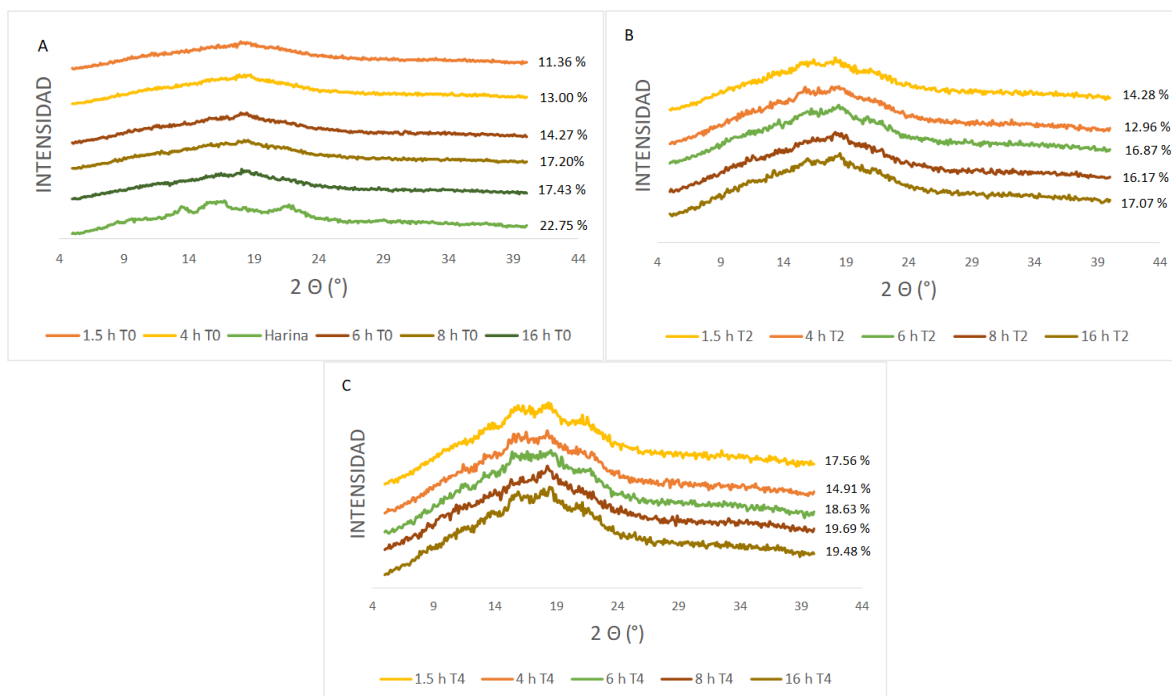
### 7.7.2 Difracción de rayos X

En la Figura 6 se puede apreciar el patrón de difracción para las muestras de pan a diferentes horas de fermentación y hasta el día 4 de almacenamiento, tomando en cuenta el patrón cristalino tipo A, característico en cereales, muestra importantes picos en los ángulos  $2\theta$  de  $15^\circ$ ,  $17^\circ$ ,  $18^\circ$  y  $23^\circ$  (Vrinten *et al.*, 2012), la muestra de harina de trigo expone los picos más cercanos a estos ángulos, contrario a las muestras de pan al día 0 de almacenamiento, en las cuales, solo se observa un pico muy tenue a  $18^\circ$  igualmente característico de cereales. Sin embargo, conforme aumentan los días de almacenamiento, los picos cristalinos se incrementan en cada una de las muestras de pan.

Esto podría explicarse debido a que el almidón en la harina de trigo no ha sufrido un proceso térmico que supera la temperatura de gelatinización como ocurre en las muestras de panes. Tao *et al.*, (2021), mencionan que una gelatinización parcial tras el proceso de cocción a altas temperaturas, puede favorecer la degradación en la estructura cristalina del almidón con alta densidad de ramificaciones  $\alpha$ -1,6.

En relación al porcentaje de cristalinidad, aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ), conforme aumentaron las horas de fermentación, así como, conforme transcurrieron los días de almacenamiento, siendo estadísticamente mayor en las muestras fermentadas por 8 y 16 h al tiempo 4 de almacenamiento ( $19.69 \pm 2.08$ - $19.48 \pm 1.65$  respectivamente) (Tabla 11).

Este comportamiento fue similar a lo reportado por Hong *et al.*, (2022), en el cual hubo un aumento en la cristalinidad del almidón fermentado por 12 h (20.84%) en comparación con el almidón nativo (19.65%).



**Figura 6. Patrón de difracción para muestras de pan a diferentes horas de fermentación y días de almacenamiento. Horas (h), A (día 0), B (día 2), C (día 4).**

**TABLA 11. PORCENTAJE DE CRISTALINIDAD DE PANES DE MASA MADRE CON DIFERENTES HORAS DE FERMENTACIÓN Y DÍAS DE ALMACENAMIENTO**

Muestra		Días de almacenamiento		
(T)	(h)	0	2	4
	1:30 C	11.36 ± 0.71 <sup>a1</sup>	14.28 ± 0.71 <sup>b12</sup>	17.59 ± 1.92 <sup>c12</sup>
	4	13.00 ± 0.78 <sup>a12</sup>	12.96 ± 1.11 <sup>a1</sup>	14.91 ± 0.50 <sup>a1</sup>
	6	14.27 ± 1.47 <sup>a2</sup>	16.87 ± 1.12 <sup>b2</sup>	18.63 ± 0.82 <sup>b2</sup>
	8	17.20 ± 0.67 <sup>a2</sup>	16.17 ± 0.70 <sup>a12</sup>	19.69 ± 2.08 <sup>b2</sup>
<b>4 °C</b>	16*	17.43 ± 0.07 <sup>ab2</sup>	17.07 ± 0.37 <sup>a2</sup>	19.48 ± 1.65 <sup>b2</sup>

Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa  $p < 0.05$ , por efecto de días de almacenamiento. Números diferentes dentro de la misma columna indican una diferencia estadística significativa de  $p < 0.05$ , por efecto de las horas de fermentación. Pan control (C); Horas (h); \* pan fermentado a 4 °C por 16 h. Los resultados son el promedio de tres determinaciones ± desviación estándar.

El aumento de la cristalinidad durante el almacenamiento puede deberse a la reorganización de la estructura de doble hélice en las cadenas de amilopectina que ocurre durante un almacenamiento a largo plazo (Yan *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2020). Cabe mencionar que se presentó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) mayor en el aumento de cristalinidad durante el almacenamiento para la muestra de pan control en comparación con los panes de masa madre, esto podría indicar que hubo una tasa de envejecimiento más lenta en los panes fermentados por las BAL.

### **7.8 Correlación lineal de Pearson**

A continuación, se presenta el análisis de correlación de Pearson del TPA con las horas de fermentación de la masa madre y con los días de almacenamiento de los panes elaborados (Tabla 12); así como, de la digestibilidad del almidón y proteína en función de las horas de fermentación de la masa madre y con los días de almacenamiento de los panes elaborados. Se considera una correlación lineal directa cuando el valor de  $r$  es lo más cercano a  $+1$ , lo que quiere decir que ambas variables van a aumentar al mismo tiempo. Por otro lado, un valor cercano a  $-1$  representa una fuerte correlación lineal inversa, y esto indica que al disminuir una de las dos variables la otra se incrementa. Se han determinado los siguientes parámetros para conocer el nivel de correlación en relación con el valor de  $r$ . Se va a considerar como una correlación "fuerte" a una  $r > 0.70$ , valores entre  $0.50$  y  $0.70$  se interpretan como una "buena" correlación, entre  $0.30$  y  $0.50$  representa correlación "regular" o "moderada" y valores  $< 0.30$  indican una "mala" correlación (Hazra, & Gogtay, 2016).

En la Tabla 12 se observa que hubo una correlación positiva de  $r = 0.904$ ,  $p < 0.01$  entre los días de almacenamiento y la dureza del pan, lo que quiere decir que conforme transcurrieron los días de almacenamiento la dureza se incrementó. El mismo comportamiento se observó con el parámetro de masticabilidad y los días de almacenamiento, obteniendo una correlación positiva de  $r = 0.835$ ,  $p < 0.01$ , y una  $r = 0.981$ ,  $p < 0.01$  entre masticabilidad y dureza.

**TABLA 12. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE TPA, HORAS DE FERMENTACIÓN Y DÍAS DE ALMACENAMIENTO**

	Horas	Días	Dureza	Resiliencia	Cohesión	Elasticidad	Masticabilidad
Horas	1	.000	.258	.334	.307	.281	.337
Días		1	<b>.904**</b>	-.031	-.148	<b>.696**</b>	<b>.835**</b>
Dureza			1	-.021	.107	<b>.596*</b>	<b>.981**</b>
Resiliencia				1	.336	.310	.005
Cohesión					1	-.149	.242
Elasticidad						1	<b>.552*</b>
Masticabilidad							1

\*\* La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

\* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

Esto indica una correlación fuerte entre dureza y masticabilidad que se puede observar desde el día 0 de almacenamiento (Tabla 6).

El parámetro de elasticidad también tuvo una correlación positiva con los días de almacenamiento de  $r=0.696$ ,  $p<0.01$ , y con el parámetro de dureza que fue de  $r=0.596$ ,  $p<0.05$ , así como, elasticidad y masticabilidad de  $r=0.552$ ,  $p<0.05$  (Tabla 12). Cabe mencionar que estas correlaciones del parámetro elasticidad, a pesar de presentar un nivel de significancia que indica correlación, no representan una fuerte correlación. Sin embargo, esto podría relacionarse con los resultados de cohesividad (Tabla 6), la cual se mantuvo durante el almacenamiento, y a la uniformidad de los alveolos en los panes de masa madre, lo que puede favorecer a la recuperación en los panes por más tiempo, a pesar de que la dureza y masticabilidad también se vean aumentadas.

El análisis de correlación de Pearson entre los días de almacenamiento y la digestibilidad del almidón que se aprecia en la Tabla 13, mostro correlaciones negativas para ARD respecto a los días de almacenamiento ( $r=-.681$ ,  $p<0.01$  y  $r=-.617$ ,  $p<0.05$  respectivamente), así también, se presentaron correlaciones negativas entre ARD con ALD ( $r=-0.770$ ,  $p<0.01$ ), AR y ARD ( $r=-0.807$ ,  $p<0.01$ ) y AR con ATD ( $r=-0.661$ ,  $p<0.01$ ). Se obtuvo correlación positiva para AR entre días de almacenamiento ( $r=.850$ ,  $p<0.01$ ), y cristalinidad en relación a las horas de fermentación y los días de almacenamiento siendo ambas positivas ( $r=.585$ ,  $p<0.05$  y  $r=.575$ ,  $p<0.05$  respectivamente). Esto quiere decir que durante los días de almacenamiento hubo una disminución del ARD, y por el contrario un aumento ALD y AR. La cristalinidad en cambio, presentó aumento tanto durante los días de almacenamiento como por las horas de fermentación.

En la Tabla 14 se observa una correlación de Pearson positiva entre las horas de fermentación y la digestibilidad de proteína en los diferentes tratamientos ( $r=.924$ ,  $p<0.05$ ), lo que indica hubo un aumento en la digestibilidad de la proteína al aumentar las horas de fermentación.

**TABLA 13. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE DIGESTIBILIDAD DE ALMIDÓN, HORAS DE FERMENTACIÓN Y DÍAS DE ALMACENAMIENTO**

	Horas	Días	ARD	ALD	AR	crystalinidad
Horas	1	.000	.415	-.445	-.137	<b>.585*</b>
Días		1	<b>-.681**</b>	.403	<b>.850**</b>	<b>.576*</b>
ARD			1	<b>-.770**</b>	<b>-.807**</b>	-.114
ALD				1	.462	-.124
AR					1	.310
Cristalinidad						1

\*\* La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

\* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

**TABLA 14. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE DIGESTIBILIDAD DE PROTEÍNA Y HORAS DE FERMENTACIÓN**

	<b>Horas</b>	<b>IVDP</b>
<b>Horas</b>	1	.924*

\*\* La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

\* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).



## VIII CONCLUSIÓN

El cultivo de masa madre durante 6 días de fermentación demostró ser eficaz para alcanzar la maduración con valores óptimos tanto de BAL como de levaduras, así como, un descenso en el valor de pH. Por lo tanto, fue una masa apta para fermentar los panes.

La fermentación con cultivo de masa madre repercutió en las propiedades fisicoquímicas de los panes. Con una disminución de humedad, proteína y grasa. Así como, un incremento de dureza, elasticidad y masticabilidad en los panes de masa madre durante el almacenamiento, y aumento de dureza, cohesión, masticabilidad, resiliencia y elasticidad en las fermentaciones de 8 y 16 h en comparación con el pan control. La luminosidad se vio disminuida por las horas de fermentación a 25 °C, presentando una mayor diferencia de color a las 8 h a 25 °C. La pérdida de luminosidad a las 16 h a 4 °C de fermentación fue menor, con un cambio de color apenas reconocible.

La digestibilidad de proteína aumento ligeramente durante las horas de fermentación de 4, 6 y 8 h a 25 °C, sin embargo, se obtuvo un aumento estadístico significativo a las 16 h a 4 °C. En relación a la digestibilidad del almidón, los panes fermentados con masa madre presentaron una mayor ganancia de AR y cristalinidad durante el almacenamiento. El almacenamiento contribuyó a la disminución de ARD y aumento de ALD.

Se encontraron correlaciones significativas que indicaron aumento de dureza, masticabilidad y elasticidad durante los días de almacenamiento. Así como, la disminución de ARD conforme aumentaron los días de almacenamiento, por el contrario, aumento de AR y cristalinidad al tiempo que aumentó el almacenamiento. Para finalizar la digestibilidad de proteína se incrementó al mismo tiempo que aumentaron las horas de fermentación.

## IX REFERENCIAS

- Alvarado, J. P. I., Hernández, B. V., & Valenzuela, J. P. (2011). Descripción de las Variedades de Trigo para el Valle de Mexicali BC y Norte de Sonora.
- Angarita Dávila, L., Escobar, M. C., Garrido, M., Carrasco, P., López-Miranda, J., Aparicio, D., ... & Bermúdez, V. (2016). Comparación del efecto de la fibra sobre el índice glicémico y carga glicémica en distintos tipos de pan. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 35(4), 100-106.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (2005). Official Methods of analysis of AOAC International. 18. ed. Washington.
- Arendt, E. K., Ryan, L. A., & Dal Bello, F. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food microbiology*, 24(2), 165-174.
- Arora, K., Ameer, H., Polo, A., Di Cagno, R., Rizzello, C. G., & Gobbetti, M. (2020). Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*.
- Baixauli, R., Salvador, A., & Fiszman, S. M. (2008). Textural and colour changes during storage and sensory shelf life of muffins containing resistant starch. *European Food Research and Technology*, 226, 523-530.
- Bello-Pérez, L. A y Flores-Silva, P. C. (26 de agosto 2019). A todo se acostumbra el hombre menos a no comer... almidón. Investigación y desarrollo. <https://invdes.com.mx/los-investigadores/se-acostumbra-hombre-menos-no-comer-almidon/>
- Bello-Pérez, L. A., Ottenhof, M. A., Agama-Acevedo, E., & Farhat, I. A. (2005). Effect of storage time on the retrogradation of banana starch extrudate. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(4), 1081-1086.

- Betancourt Botero, S. P., Bolívar Escobar, G. A., & Ramírez Toro, C. (2013). Fermentación de maíz de alta calidad proteica con *Lactobacillus plantarum* (CPQBA 087-11 DRM) aislado en Colombia de masas tradicionales fermentadas. *Revista argentina de microbiología*, 45(4), 282-283.
- Biliaderis, C. G. (1991). The structure and interactions of starch with food constituents. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 69(1), 60-78.
- Bleukx, W., Roels, S. P., & Delcour, J. A. (1997). On the presence and activities of proteolytic enzymes in vital wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 26(2), 183-193.
- Bottani, M., Brasca, M., Ferraretto, A., Cardone, G., Casiraghi, M. C., Lombardi, G., ... & Silveti, T. (2018). Chemical and nutritional properties of white bread leavened by lactic acid bacteria. *Journal of Functional Foods*, 45, 330-338.
- Bourne, M. C. (1992). Calibration of rheological techniques used for foods. In *Rheology of Foods* (pp. 151-163). Elsevier.
- Cabanillas, B. (2020). Gluten-related disorders: Celiac disease, wheat allergy, and nonceliac gluten sensitivity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(15), 2606-2621.
- Cacak-Pietrzak, G., Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Sulek, A., Kalisz, S., & Sujka, K. (2021). Effect of the Addition of Dried Dandelion Roots (*Taraxacum officinale* FH Wigg.) on Wheat Dough and Bread Properties. *Molecules*, 26(24), 7564.
- Cakir, E., Arici, M., & Durak, M. Z. (2021). Effect of starter culture sourdough prepared with *Lactobacilli* and *Saccharomyces cerevisiae* on the quality of hull-less barley-wheat bread. *LWT*, 152, 112230.
- Calvo-Carrillo, M. D. L. C., López-Méndez, O. X., Carranco-Jáuregui, M. E., & Marines, J. (2020). Evaluación fisicoquímica y sensorial de un pan tipo baguette utilizando

harinas de trigo (*Triticum* spp) y chícharo (*Pisum sativum* L.). *Biocencia*, 22(3), 116-124.

Cámara Nacional de la Industria Panificadora (CANAINPA). (2022). La industria de la panificación apuesta por opciones de pan sin azúcar. Disponible en: <https://www.prnewswire.com/news-releases/la-industria-de-la-panificacion-apuesta-por-opciones-de-pan-sin-azucar-804246168.html>. consultado: 17 de septiembre 2022.

Chavarría-Fernández, S. M., Berrios, J. D. J., Pan, J. L., Alves, P. L., Palma-Rodríguez, H. M., Hernández Uribe, J. P., ... & Vargas-Torres, A. (2021). Native and modified chayotextle flour effect on functional property and cooking quality of spaghetti. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(9), 4516-4525.

Chávez Salgado, I. D. (2018). Desarrollo de un sistema gelatinizado ultracongelado para la formulación de pan leudado tipo bizcocho. [Tesis de licenciatura]. Universidad Autónoma del estado de México.

Chen, G., Ehmke, L., Sharma, C., Miller, R., Faa, P., Smith, G., & Li, Y. (2019). Physicochemical properties and gluten structures of hard wheat flour doughs as affected by salt. *Food chemistry*, 275, 569-576.

Chen, H. Y., Hsieh, C. W., Chen, P. C., Lin, S. P., Lin, Y. F., & Cheng, K. C. (2021). Development and Optimization of Djulis Sourdough Bread Fermented by Lactic Acid Bacteria for Antioxidant Capacity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(18), 5658.

Chinma, C. E., Ezeocha, V. C., Adedeji, O. E., Ayo-Omogie, H. N., Oganah-Ikujenyo, B. C., Anumba, N. L., ... & Adebo, O. A. (2023). Germinated Bambara groundnut (*Vigna subterranea*) flour as an ingredient in wheat bread: Physicochemical, nutritional, and sensory properties of bread. *Journal of Food Science*.

- Cho, K., Jang, Y. R., Lim, S. H., Altenbach, S. B., Gu, Y. Q., Simon-Buss, A., & Lee, J. Y. (2021). Proteomic Determination of Low-Molecular-Weight Glutenin Subunit Composition in Aroona Near-Isogenic Lines and Standard Wheat Cultivars. *International journal of molecular sciences*, 22(14), 7709.
- Chung, H. J., & Liu, Q. (2009). Impact of molecular structure of amylopectin and amylose on amylose chain association during cooling. *Carbohydrate Polymers*, 77(4), 807-815.
- Corrado, M., Zafeiriou, P., Ahn-Jarvis, J. H., Savva, G. M., Edwards, C. H., & Hazard, B. A. (2023). Impact of storage on starch digestibility and texture of a high-amylose wheat bread. *Food Hydrocolloids*, 135, 108139.
- Corsetti, A., & Settanni, L. (2007). Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food research international*, 40(5), 539-558.
- Corsetti, A., Gobbetti, M., Balestrieri, F., Paoletti, F., Russi, L., & Rossi, J. (1998). Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling. *Journal of Food Science*, 63(2), 347-351.
- Corsetti, A., Gobbetti, M., De Marco, B., Balestrieri, F., Paoletti, F., Russi, L., & Rossi, J. (2000). Combined effect of sourdough lactic acid bacteria and additives on bread firmness and staling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7), 3044-3051.
- Costantini, A., Da Ros, A., Nikoloudaki, O., Montemurro, M., Di Cagno, R., Genot, B., ... & Rizzello, C. G. (2022). How cereal flours, starters, enzymes, and process parameters affect the in vitro digestibility of sourdough bread. *Food Research International*, 159, 111614.
- Curiel, J. A., Coda, R., Limitone, A., Katina, K., Raulio, M., Giuliani, G., ... & Gobbetti, M. (2014). Manufacture and characterization of pasta made with wheat flour rendered gluten-free using fungal proteases and selected sourdough lactic acid bacteria. *Journal of Cereal Science*, 59(1), 79-87.

- Davidou, S., Le Meste, M., Debever, E., & Bekaert, D. J. F. H. (1996). A contribution to the study of staling of white bread: effect of water and hydrocolloid. *Food hydrocolloids*, 10(4), 375-383.
- de Jesús Cobos-Quevedo, O., Hernández-Hernández, G. A., & Remes-Troche, J. M. (2017). Trastornos relacionados con el gluten: panorama actual. *Medicina interna de México*, 33(4), 487-502.
- De Vuyst, L., Harth, H., Van Kerrebroeck, S., & Leroy, F. (2016). Yeast diversity of sourdoughs and associated metabolic properties and functionalities. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 26-34.
- Demirkesen-Bicak, H., Arici, M., Yaman, M., Karasu, S., & Sagdic, O. (2021). Effect of Different Fermentation Condition on Estimated Glycemic Index, In Vitro Starch Digestibility, and Textural and Sensory Properties of Sourdough Bread. *Foods*, 10(3), 514.
- Dingeo, C., Difonzo, G., Paradiso, V. M., Rizzello, C. G., & Pontonio, E. (2020). Teff type-I sourdough to produce gluten-free muffin. *Microorganisms*, 8(8), 1149.
- Diowksz, A., & Sadowska, A. (2021). Impact of sourdough and transglutaminase on gluten-free buckwheat bread quality. *Food Bioscience*, 43, 101309.
- Durmaz, R., Şahin, N., Koyuncu, M., & Sayaslan, A. (2023). Comparison of wet and dried chickpea yeast in breadmaking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Englyst, H. N. (1992). Kingman SM, Cummings JH. *Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. Eur J Clin Nutr*, 46.
- Eze, C. M., Aremu, K. O., Alamu, E. O., & Okonkwo, T. M. (2021). Impact of type and level of stabilizers and fermentation period on the nutritional, microbiological, and sensory properties of short-set Yoghurt. *Food science & nutrition*, 9(10), 5477–5492.

- Fernández Caizatasig, R. D. P. (2018). *Características reológicas, nutricionales y sensoriales de panes elaborados a partir de granos de chocho (Lupinus mutabilis) fermentados como masas madres Tipo II* (Bachelor's thesis, Universidad del Azuay).
- Fernández Pintos, A. (2016). *Elaboración de masas madre de pan sin gluten* (Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya).
- Flores, R. V. (2014). El gluten del trigo y su rol en la industria de la panificación. *Ingeniería industrial*, (32), 231-246.
- Fu, W., Xue, W., Liu, C., Tian, Y., Zhang, K., & Zhu, Z. (2020). Screening of Lactic Acid Bacteria and yeasts from sourdough as starter cultures for reduced allergenicity wheat products. *Foods*, 9(6), 751.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Calasso, M., Archetti, G., & Rizzello, C. G. (2019). Novel insights on the functional/nutritional features of the sourdough fermentation. *International journal of food microbiology*, 302, 103-113.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., & Delcour, J. A. (2005). Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in food science & technology*, 16(1-3), 12-30.
- Gómez-Guillén, M. C., Turnay, J., Fernández-Díaz, M. D., Ulmo, N., Lizarbe, M. A., & Montero, P. (2002). Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16(1), 25-34.
- González Cervantes, M. E. (2018). Estudio molecular y de bioaccesibilidad de harinas de *Oxalis tuberosa* obtenidas mediante diferentes condiciones de secado. (Doctoral). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

- Guan Q. (2019). Una revisión integral y actualización sobre la patogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal. *Revista de investigación en inmunología*, 2019, 7247238.
- Hammes, W. P., Brandt, M. J., Francis, K. L., Rosenheim, J., Seitter, M. F., & Vogelmann, S. A. (2005). Microbial ecology of cereal fermentations. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 4-11.
- Harth, H., Van Kerrebroeck, S., & De Vuyst, L. (2018). Impact of process conditions on the microbial community dynamics and metabolite production kinetics of teff sourdough fermentations under bakery and laboratory conditions. *Food science & nutrition*, 6(6), 1438-1455.
- Hazra, A., & Gogtay, N. (2016). Biostatistics series module 6: correlation and linear regression. *Indian journal of dermatology*, 61(6), 593.
- Hong, J., Guo, W., Chen, P., Liu, C., Wei, J., Zheng, X., & Saeed Omer, S. H. (2022). Effects of Bifidobacteria Fermentation on Physico-Chemical, Thermal and Structural Properties of Wheat Starch. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(17), 2585.
- Huertas, R. A. P. (2010). Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos. *Bioteología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 8(1), 93-105.
- Iglesias-Puig, E., & Haros, M. (2013). Evaluation of performance of dough and bread incorporating chia (*Salvia hispanica* L.). *European Food Research and Technology*, 237, 865-874.
- Irakli, M., Mygdalia, A., Chatzopoulou, P., & Katsantonis, D. (2019). Impact of the combination of sourdough fermentation and hop extract addition on baking properties, antioxidant capacity and phenolics bioaccessibility of rice bran-enhanced bread. *Food chemistry*, 285, 231-239.



- Jenkins, D. J., Wolever, T. M., Buckley, G., Lam, K. Y., Giudici, S., Kalmusky, J., ... & Wong, G. S. (1988). Low-glycemic-index starchy foods in the diabetic diet. *The American journal of clinical nutrition*, 48(2), 248-254.
- Juodeikiene, G. (2016). Chapter 12 Traditional Rye Sourdough Bread in the Baltic Region en Springer Science+ Business Media. Kristbergsson, K., & Oliveira, J. *Traditional foods*. New York, USA: pp 173.
- Katsi, P., Kosma, I. S., Michailidou, S., Argiriou, A., Badeka, A. V., & Kontominas, M. G. (2021). Characterization of artisanal spontaneous sourdough wheat bread from central greece: evaluation of physico-chemical, microbiological, and sensory properties in relation to conventional yeast leavened wheat bread. *Foods*, 10(3), 635.
- Kawamura, Y., & Yonezawa, D. (1982). Wheat flour proteases and their action on gluten proteins in dilute acetic acid. *Agricultural and Biological Chemistry*, 46(3), 767-773.
- Kim, Y., Huang, W., Zhu, H., & Rayas-Duarte, P. (2009). Spontaneous sourdough processing of Chinese Northern-style steamed breads and their volatile compounds. *Food Chemistry*, 114(2), 685-692.
- Kuria, M. W., Matofari, J. W., & Nduko, J. M. (2021). Physicochemical, antioxidant, and sensory properties of functional mango (*Mangifera indica* L.) leather fermented by lactic acid bacteria. *Journal of Agriculture and Food Research*, 6, 100206.
- Laemmli, U. K. (1970). SDS-page Laemmli method. *Nature*, 227, 680-5. 10.21769/BioProtoc.80.
- Lancetti, R. P. (2017). *Desarrollo de masas madre y evaluación de propiedades reológicas y tecnológicas de panificados* (Bachelor's thesis).
- Lau, S. W., Chong, A. Q., Chin, N. L., Talib, R. A., & Basha, R. K. (2021). Sourdough microbiome comparison and benefits. *Microorganisms*, 9(7), 1355.

- Lazaridou, A., & Biliaderis, C. G. (2009). Gluten-free doughs: Rheological properties, testing procedures—methods and potential problems. *Gluten-free food science and technology*, 5, 52-82.
- Leonard, M. M., Sapone, A., Catassi, C., & Fasano, A. (2017). Enfermedad celiaca y sensibilidad al gluten no celiaca (Actualización 2017). *Jama*, 318(7), 647-656.
- Li, M., Dhital, S., & Wei, Y. (2017). Multilevel Structure of Wheat Starch and Its Relationship to Noodle Eating Qualities. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 16(5), 1042–1055.
- Li, R., Zhang, H., Pan, S., Zhu, M., & Zheng, Y. (2022). Preparation of Slowly Digested Corn Starch Using Branching Enzyme and Immobilized  $\alpha$ -Amylase. *ACS omega*, 7(21), 17632–17640. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c00462>.
- Li, X., Guo, Y., Chen, L., Liu, K., & Gong, K. (2021). Texture and bio-functional characteristics of a Chinese steamed bread prepared from lotus root powder partially replacing wheat flour. *Scientific reports*, 11(1), 16338.
- Li, Z., Li, H., Deng, C., & Liu, C. (2014). Effect of mixed strain starter culture on rheological properties of wheat dough and quality of steamed bread. *Journal of Texture Studies*, 45(3), 180-186.
- Liu, Y., Zhang, X., Ding, B., Ding, W., Xiao, S., Song, J., ... & Fu, Y. (2020). Effect of hydrocolloids on physical, thermal and microstructure properties of par-baked baguette during frozen storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1866-1874.
- Ma, S., Wang, Z., Guo, X., Wang, F., Huang, J., Sun, B., & Wang, X. (2021). Sourdough improves the quality of whole-wheat flour products: Mechanisms and challenges—a review. *Food Chemistry*, 130038.
- Manzur-Valdespino, S., Ramírez-Moreno, E., Arias-Rico, J., Jaramillo-Morales, O. A., Calderón-Ramos, Z. G., Delgado-Olivares, L., ... & Cruz-Cansino, N. D. S.

- (2020). *Opuntia ficus-indica* L. Mill residues—properties and application possibilities in food supplements. *Applied Sciences*, 10(9), 3260.
- Marco, C., Pérez, G., León, A. E., & Rosell, C. M. (2008). Effect of transglutaminase on protein electrophoretic pattern of rice, soybean, and rice-soybean blends. *Cereal Chemistry*, 85(1), 59-64.
- Mensa-Wilmot, Y., Phillips, R.D., Hargrove, J.L., (2001). Protein quality evaluation of cowpea-based extrusion cooked cereal/legume weaning mixtures. *Nutrition Research* 21, 849–857.
- Mesas, J. M., & Alegre, M. T. (2002). El pan y su proceso de elaboración the bread and its processing o pan eo seu proceso de elaboración. *CYTA-Journal of Food*, 3(5), 307-313.
- Miaja, M. F., Martín, J. J. D., Treviño, S. J., González, M. S., & García, C. B. (2021, June). Estudio de la adherencia a la dieta sin gluten en pacientes celíacos. In *Anales de Pediatría* (Vol. 94, No. 6, pp. 377-384).
- Moore, M. M., Schober, T. J., Dockery, P., & Arendt, E. K. (2004). Textural comparisons of gluten-free and wheat-based doughs, batters, and breads. *Cereal Chemistry*, 81(5), 567-575.
- Moreno, I., Ramírez, A., Plana, R., & Iglesias, L. (2001). El cultivo del trigo. Algunos resultados de su producción en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 22(4), 55-67.
- Nowak, D., & Jakubczyk, E. (2020). The Freeze-Drying of Foods-The Characteristic of the Process Course and the Effect of Its Parameters on the Physical Properties of Food Materials. *Foods* (Basel, Switzerland), 9(10), 1488.
- Olasupo, N. A., & Okorie, P. C. (2019). African fermented food condiments: microbiology impacts on their nutritional values. *Frontiers and new trends in the science of fermented food and beverages*, 1, 1-20.

- Onyango, C., Mutungi, C., Unbehend, G., & Lindhauer, M. G. (2010). Rheological and baking characteristics of batter and bread prepared from pregelatinised cassava starch and sorghum and modified using microbial transglutaminase. *Journal of Food Engineering*, 97(4), 465-470.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2021). Situación alimentaria mundial. FAO. <https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/>.
- Latham Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2021). Capítulo 26 Cereales, raíces feculentas y otros alimentos con alto contenido de carbohidratos. FAO. <https://www.fao.org/3/w0073s/w0073s0u.htm>.
- Osella, C. A., Sánchez, H. D., Carrara, C. R., de la Torre, M. A., & Pilar Buera, M. J. S. S. (2005). Water redistribution and structural changes of starch during storage of a gluten-free bread. *Starch-Stärke*, 57(5), 208-216.
- Oshiro, M., Tanaka, M., Momoda, R., Zendo, T., & Nakayama, J. (2021). Mechanistic Insight into Yeast Bloom in a Lactic Acid Bacteria Relaying-Community in the Start of Sourdough Microbiota Evolution. *Microbiology spectrum*, 9(2), e00662-21.
- Oyewole, O. B., & Odunfa, S. A. (1989). Effects of fermentation on the carbohydrate, mineral, and protein contents of cassava during “fufu” production. *Journal of food Composition and Analysis*, 2(2), 170-176.
- Pérez, M. D. (2014). Desarrollo de un pan de masa madre rico en GABA y péptidos IECA. [Doctoral disertación]. Universidad de Barcelona.
- Ponzio, N. R. (2011). Calidad panadera de variedades de trigo puras y sus mezclas (Doctoral disertación). Universidad Nacional de La Plata.

- PAM, Producción Agrícola Mundial . (2021). Producción mundial de trigo 2020/2021. ProducciónAgricolaMundial.com.<http://www.produccionagricolamundial.com/cultivos/trigo.aspx>.
- Punia, S. (2020). Barley starch: Structure, properties and in vitro digestibility-A review. *International journal of biological macromolecules*, 155, 868-875.
- Qi, K., Yi, X., & Li, C. (2022). Effects of endogenous macronutrients and processing conditions on starch digestibility in wheat bread. *Carbohydrate Polymers*, 119874.
- Ramírez Ramírez, J. C., Rosas Ulloa, Petra., Velázquez González, M. y., Ulloa, J. A., & Arce Romero, Francisco. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *CONACYT*.
- Ramos, L., Alonso-Hernando, A., Martínez-Castro, M., Morán-Pérez, J. A., Cabrero-Lobato, P., Pascual-Maté, A., ... & Mujico, J. R. (2021). Sourdough Biotechnology Applied to Gluten-Free Baked Goods: Rescuing the Tradition. *Foods*, 10(7), 1498.
- Rivas-González, M., Méndez-Montealvo, M. G. C., Sánchez-Rivera, M. M., Núñez-Santiago, M. C., & Bello-Pérez, L. A. (2008). Caracterización morfológica, molecular y fisicoquímica del almidón de plátano oxidado y lintnerizado. *Agrociencia*, 42(5), 487-497.
- Rizzello, C. G., Coda, R., Mazzacane, F., Minervini, D., & Gobbetti, M. (2012). Micronized by-products from debranned durum wheat and sourdough fermentation enhanced the nutritional, textural and sensory features of bread. *Food Research International*, 46(1), 304-313.
- Sandoval, E. R., Quintero, A. F., & Aponte, A. A. (2005). Reología y textura de masas: Aplicaciones en trigo y maíz. *Ingeniería e Investigación*, 25(1), 72-78.

- Santamaria, M., Montes, L., Garzon, R., Moreira, R., & Rosell, C. M. (2022). Unraveling the impact of viscosity and starch type on the in vitro starch digestibility of different gels. *Food & function*, 13(14), 7582-7590.
- Sanz, T., Salvador, A., Baixauli, R., & Fiszman, S. M. (2009). Evaluation of four types of resistant starch in muffins. II. Effects in texture, colour and consumer response. *European Food Research and Technology*, 229, 197-204.
- Scazzina, F., Del Rio, D., Pellegrini, N., & Brighenti, F. (2009). Sourdough bread: Starch digestibility and postprandial glyceemic response. *Journal of Cereal Science*, 49(3), 419-421.
- Scherf, K. A., Koehler, P., & Wieser, H. (2016). Gluten and wheat sensitivities—an overview. *Journal of Cereal Science*, 67, 2-11.
- SAGARPA, Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. (2017). Planeación agrícola nacional. Trigo grano cristalino y harinero. Gob. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256434/B\\_sicoTrigo\\_Cristalino\\_y\\_Harinero.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256434/B_sicoTrigo_Cristalino_y_Harinero.pdf).
- Seyedian, SS, Nokhostin, F. y Malamir, MD (2019). Una revisión de los métodos de diagnóstico, prevención y tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal. *Revista de medicina y vida*, 12 (2), 113–122.
- Shumoy, H., Van Bockstaele, F., Devecioglu, D., & Raes, K. (2018). Effect of sourdough addition and storage time on in vitro starch digestibility and estimated glyceemic index of tef bread. *Food chemistry*, 264, 34-40.
- Siepmann, F. B., de Almeida, B. S., Waszczynskyj, N., & Spier, M. R. (2019). Influence of temperature and of starter culture on biochemical characteristics and the aromatic compounds evolution on type II sourdough and wheat bread. *Lwt*, 108, 199-206.

- Stamataki, N. S., Yanni, A. E., & Karathanos, V. T. (2017). Bread making technology influences postprandial glucose response: a review of the clinical evidence. *British Journal of Nutrition*, 117(7), 1001-1012.
- Sun, Y., Gao, P., Xu, Y., Xia, W., Hua, Q., & Jiang, Q. (2020). Effect of storage conditions on microbiological characteristics, biogenic amines, and physicochemical quality of low-salt fermented fish. *Journal of Food Protection*, 83(6), 1057-1065.
- Syrokou, M. K., Tziompra, S., Psychogiou, E. E., Mpisti, S. D., Paramithiotis, S., Bosnea, L., Mataragas, M., Skandamis, P. N., & Drosinos, E. H. (2021). Technological and Safety Attributes of Lactic Acid Bacteria and Yeasts Isolated from Spontaneously Fermented Greek Wheat Sourdoughs. *Microorganisms*, 9(4), 671.
- Tao, H., Zhu, X. F., Nan, B. X., Jiang, R. Z., & Wang, H. L. (2021). Effect of extruded starches on the structure, farinograph characteristics and baking behavior of wheat dough. *Food chemistry*, 348, 129017.
- Thakaeng, P., Boonloom, T., & Rawdkuen, S. (2021). Physicochemical Properties of Bread Partially Substituted with Unripe Green Banana (Cavendish spp.) Flour. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(7), 2070.
- Thiele, C., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2002). Contribution of sourdough lactobacilli, yeast, and cereal enzymes to the generation of amino acids in dough relevant for bread flavor. *Cereal chemistry*, 79(1), 45-51.
- Tinus, T., Damour, M., Van Riel, V., & Sopade, P. A. (2012). Particle size-starch–protein digestibility relationships in cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Food Engineering*, 113(2), 254-264.
- Torrez, J. A. C., Llebeili, Y., de Olmos, A. R., & Gerez, C. L. (2021). Cultivos lácticos como potenciadores de compuestos bioactivos de avena. *Revista Argentina de Microbiología*.

- Torrieri, E., Pepe, O., Ventrino, V., Masi, P., & Cavella, S. (2014). Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. *LWT-Food Science and Technology*, 56(2), 508-516.
- Vrinten, P. L., Shimbata, T., Yanase, M., Sunohara, A., Saito, M., Inokuma, T., ... & Nakamura, T. (2012). Properties of a novel type of starch found in the double mutant "sweet wheat". *Carbohydrate polymers*, 89(4), 1250-1260.
- Wang, T. L., Bogracheva, T. Y., & Hedley, C. L. (1998). Starch: as simple as A, B, C?. *Journal of experimental botany*, 49(320), 481-502.
- Wang, X., Lao, X., Bao, Y., Guan, X., & Li, C. (2021). Effect of whole quinoa flour substitution on the texture and in vitro starch digestibility of wheat bread. *Food Hydrocolloids*, 119, Article 106840.
- Wang, Z., Ma, S., Sun, B., Wang, F., Huang, J., Wang, X., & Bao, Q. (2021). Effects of thermal properties and behavior of wheat starch and gluten on their interaction: A review. *International journal of biological macromolecules*, 177, 474-484.
- Wanjuu, C., Abong, G., Mbogo, D., Heck, S., Low, J., & Muzhingiri, T. (2018). The physiochemical properties and shelf-life of orange-fleshed sweet potato puree composite bread. *Food science & nutrition*, 6(6), 1555-1563.
- Wolter, A., Hager, A. S., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2014). Influence of sourdough on in vitro starch digestibility and predicted glycemic indices of gluten-free breads. *Food & function*, 5(3), 564-572.
- Wu, W. H., Rule, D. C., Busboom, J. R., Field, R. A., & Ray, B. (1991). Starter culture and time/temperature of storage influences on quality of fermented mutton sausage. *Journal of Food Science*, 56(4), 916-919.
- Wulandari, E., Yurmiati, H., Subroto, T., & Suradi, K. (2020). Quality and Probiotic Lactic Acid Bacteria Diversity of Rabbit Meat Bekasam-Fermented Meat. *Food science of animal resources*, 40(3), 362-376.



- Yaman, M., Sargin, H. S., & Mizrak, Ö. F. (2019). Free sugar content, in vitro starch digestibility and predicted glycemic index of ready-to-eat breakfast cereals commonly consumed in Turkey: An evaluation of nutritional quality. *International journal of biological macromolecules*, 135, 1082-1087.
- Yan, W., Yin, L., Zhang, M., Zhang, M., & Jia, X. (2021). Gelatinization, Retrogradation and Gel Properties of Wheat Starch-Wheat Bran Arabinoxylan Complexes. *Gels* (Basel, Switzerland), 7(4), 200.
- Yin, Y., Wang, J., Yang, S., Feng, J., Jia, F., & Zhang, C. (2015). Protein degradation in wheat sourdough fermentation with *Lactobacillus plantarum* M616. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, 7(2), 205-210.
- Zeng, F., Yang, Y., Liu, Q., Yang, J., Jin, Z., & Jiao, A. (2023). Effect of fermentation methods on properties of dough and whole wheat bread. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Zhang, Y., Guo, L., Li, D., Jin, Z., & Xu, X. (2019). Roles of dextran, weak acidification and their combination in the quality of wheat bread. *Food chemistry*, 286, 197-203.
- Zhou, X., Duan, M., Gao, S., Wang, T., Wang, Y., Wang, X., & Zhou, Y. (2022). A strategy for reducing acrylamide content in wheat bread by combining acidification rate and prerequisite substance content of *Lactobacillus* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Current Research in Food Science*, 5, 1054-1060.
- Zielińska, E., & Pankiewicz, U. (2020). Nutritional, physiochemical, and antioxidative characteristics of shortcake biscuits enriched with *Tenebrio molitor* flour. *Molecules*, 25(23), 5629.



