

Mejoramiento de propiedades nutricionales, fisicoquímicas y estructurales de un pan sin gluten adicionado con microalga a base de pre-fermento

M.F. Guzmán-Rodríguez¹, S.A. Cortez-Guardiola¹, E. Garza-Valverde¹, M.C.J. García² y C. García-Gómez*¹
1 Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Av. Francisco Villa S/N, Col. Ex Hacienda el Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México. **2** Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Ciencias Básicas, Calzada Antonio Narro 1923, Col. Buenavista, C.P. 25315, Saltillo, Coahuila, México. *celestino.garciagm@uanl.edu.mx

RESUMEN

Las microalgas son una potencial fuente de compuestos naturales que pueden ser utilizados como ingredientes funcionales. Por lo que se incorporó la microalga *Chlorella vulgaris* a un pan sin gluten para compensar los niveles de proteína y se realizó un pre-fermento para mejorar la capacidad viscoelástica de la masa y así poder generar una aceptabilidad más alta en los parámetros del producto final. Se incorporaron diferentes porcentajes de *Chlorella vulgaris* (2, 4 y 6%) y se realizaron análisis de color, actividad microbiana, bromatológicos y Análisis de Perfil de Textura (TPA) en el producto final. Los resultados mostraron que la microalga afectó la textura, presentando una dureza de 2160 ± 690 g en el pan adicionado con 4% de microalga a comparación de los 1365 ± 668 g del pan de control y el color disminuye la luminosidad conforme aumenta el porcentaje de microalga, llegando hasta 31.00 ± 2.46 en el pan 6%. El análisis bromatológico demostró que el contenido de proteína aumenta al adicionar el pan con microalga, la muestra control contiene 6.44 ± 5.58 g de proteína, los cuales aumentan hasta 9.74 ± 0.13 g en los panes adicionados, siendo el de 2% el que obtuvo el mejor contenido.

Palabras clave: *Chlorella vulgaris*, textura, efecto antimicrobiano.

ABSTRACT

Microalgae are a potential source of natural compounds that can be used as functional ingredients. Therefore, the microalgae *Chlorella vulgaris* was incorporated into a gluten-free bread to compensate for the protein levels and a preferential treatment was carried out to improve the viscoelastic capacity of the dough and thus be able to generate a higher acceptability in the parameters of the final product. Different percentages of *Chlorella vulgaris* (2, 4 and 6%) were incorporated and color, microbial activity, bromatological and Texture Profile Analysis (TPA) analyzes were performed on the final product. The results showed that the microalgae affected the texture, presenting a hardness of 2160 ± 690 g in the bread added with 4% microalgae compared to 1365 ± 668 g in the control bread and the color decreasing in luminosity as the percentage of microalgae increased, reaching 31.00 ± 2.46 in the 6% bread. The bromatological analysis concludes that the protein content increases by adding the bread with microalgae, the control sample contains 6.44 ± 5.58 g of protein, which increases to 9.74 ± 0.13 g in the added panels, with 2% being the one that obtained the best content.

Key words: *Chlorella vulgaris*, texture, antimicrobial effect.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la ingeniería en alimentos a podido ofrecer alternativas de consumo para sectores específicos como lo son los individuos que padecen alguna patología que les impida el poder ingerir algún producto o derivado. Un sector de la población al cual se ha buscado poder brindar alternativa de alimentos procesados es a los pacientes con enfermedad celíaca (EC). Este padecimiento se caracteriza por ser una enfermedad autoinmune donde su afectación principal es el tracto digestivo de los individuos que la padecen, se centra en la inflamación crónica y difusa de la mucosa del intestino delgado asociado a múltiples manifestaciones clínicas. La EC afecta al 1% de la población manifestándose principalmente en pacientes femeninas, su detección varía dependiendo de rasgos culturales y de alimentación, sin embargo, se caracteriza por ser detectada en adultos entre 30-50 años. Esta patología se desarrolla en individuos genéticamente predispuestos y los principales síntomas se desencadenan por el consumo e interacción con el gluten que se encuentra en trigo, la cebada y el centeno principalmente. Aunque también hay una población con mayor índice de riesgo como lo son pacientes con Síndrome Down, déficit selectivo, Diabetes Mellitus, Tiroiditis autoinmune, así como otras enfermedades autoinmunes (Saez, 2010).

El trigo es el cereal más cultivado alrededor del mundo, se le considera el alimento básico para más del 35% de la población mundial (ASERCA, 2018). Por lo tanto, dada las cifras de consumo y del porcentaje de pacientes diagnosticados, la fabricación e industrialización de productos para este sector es relativamente pequeño, pero ahora su demanda ha crecido poco a poco debido a la difusión de los síntomas, lo que la hace más común y ayuda a que más pacientes no diagnosticados acudan con su especialista.

Se han descubierto indicios de que antiguos pobladores utilizaban las microalgas como fuente de alimento. Recientemente se ha incrementado el estudio e implementación en diversas áreas como fármacos, bioenergía y alimentos, esto representa un gran avance para poder cubrir las deficiencias en estas áreas. En el área de alimentos se han mostrado grandes avances para lograr el consumo diario de estas y así cubrir las necesidades de la población además de conseguir un mejoramiento nutricional en la dieta diaria. La microalga *Chlorella vulgaris* se ha vuelto muy popular entre los consumidores debido a la difusión de sus beneficios por su consumo diario. Es notoria la diversidad de productos en el mercado de la microalga, desde poder adquirirla en polvo hasta en capsulas de gel. El atractivo principal radica en su nivel alto de proteínas, así como ser una fuente rica en vitaminas esenciales para el buen funcionamiento del cuerpo (Safi, 2014). Debido a que no todos los productos que pueden ser consumidos por la población celíaca cumplen con las expectativas nutricionales y sensoriales, se busca compensar esas propiedades añadiendo microalgas. La *Chlorella vulgaris* es reconocida por su excepcional contenido de proteínas y ácidos grasos esenciales (OMS, 2017), lo cual la hace una opción para contrarrestar la ausencia de estas en productos libres de gluten.

La implementación de un pre-fermento se centra en la finalidad de contrarrestar la carencia de una viscoelasticidad adecuada para generar un producto con un mayor índice de aceptabilidad. Los aditivos alimentarios brindan características similares a un producto elaborado con harina de trigo. El gluten es esencial en la panificación porque ayuda a la absorción del agua dando lugar a la característica elasticidad del pan blanco, esto deriva en un mejor volumen del producto final y da una mejor migaja lo cual se interpreta como una consistencia y dureza aceptables (Trejo, 2022). Incluso se ha investigado que, debido al pH del pre-fermento, se realiza en el consumidor un proceso de digestión más sencillo desde que comienza la masticación generando un aumento de salivación para comenzar el proceso de digestión (Castiblanco, 2020).

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue incrementar las propiedades nutricionales de un pan sin gluten a base de pre-fermento y mejorar la aceptabilidad de los consumidores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Formulación y crecimiento de pre-fermento

Se formuló un pre-fermento con proporciones de 2:1 de agua potable y harina de arroz integral, el pre-fermento se realizó en un frasco de vidrio cerrado herméticamente. Se integraron los ingredientes de manera homogénea (Tabla 1) y se realizó una limpieza a las paredes del recipiente para poder evaluar el proceso de fermentación. El pre-fermento se dejó cerrado a una temperatura de 22 a 26 °C. En 24 h se mezcló la masa para “refrescar” el pre-fermento, después de 24 h se realizó una “alimentación” integrando 50 g de harina y 100 g de agua, este proceso se realizó durante 48 h, al terminar este tiempo se realizó un mezclado para “refrescar” el pre-fermento y se continuaron con las alimentaciones al pre-fermento por las siguientes 48 h (Fig. 1) (Marqués, 2007).



Figura 1. Actividad de levaduras de pre-fermento en 48 h.

Formulación y elaboración del pan

Se realizó una formulación para el pan blanco (Tabla 1) y se integró en proporción al contenido seco el 2%, 4% y 6% en cantidad de la microalga *C. vulgaris* lo cual se interpretaron como 4, 7 y 10 g respectivamente. Se utilizó un batidor de pedestal Hamilton Beach® 63266-MX, se inició mezclando los materiales secos incluyendo la microalga proporcional para cada tratamiento, después se agregaron los líquidos como el pre-fermento y el agua potable. Por último, se añadió la grasa, que fue el aceite de canola. Se realizó el amasado a máquina hasta una correcta integración de los ingredientes, se colocó la masa en los moldes respectivos (Fig. 2) y se realizó un fermento de 90 min a una temperatura de 24 a 26 °C. Una vez pasado el tiempo se llevaron los moldes al proceso de horneado (Glutendence, 2017).

Tabla 1. Formulación principal del pan sin gluten.

Ingredientes	g
Harina de trigo sarraceno*	50
Harina de arroz integral*	50
Almidón de maíz*	50
Fécula de papa*	16
<i>Plantago Syllium</i> *	6
Sal*	3

Goma Xantana*	4
Levadura	4
Agua	150
Aceite	24
Pre-Fermento	70

*materiales secos para determinar proporción de microalga.



Figura 2. Masa en moldes antes de la fermentación

Horneado

El proceso de horneado se realizó a 200 °C, se manejó un horneado con presencia de vapor colocando una charola doble sobre la bandeja en el segundo nivel del horno, esta bandeja se llenó de agua potable al momento del precalentamiento del horno. Una vez que el horno alcanzó los 200 °C se colocaron los moldes, pasados 15 min se retiró la bandeja con agua y se continuó el proceso por 30 min más.

Análisis del Perfil de Textura (TPA)

Para el perfil de textura se utilizó el texturómetro TAX2i comprimiendo 20% de su altura original. Las muestras se comprimieron dos veces consecutivamente con el plato de compresión de 75 mm a una velocidad de 1.7 mm/s. Las evaluaciones de TPA se realizaron por triplicado para cada tratamiento (García Segovia, 2017).

Color

Las lecturas de color se realizaron por triplicado para cada uno de los tratamientos con el colorímetro (SC20) SADT®, se colocaron las muestras en una base blanca para evitar factores que influyan en las lecturas, cubriendo por completo el perímetro del lector del disparo (García, 2017).

Actividad microbiana

Se evaluó el poder fungicida que se adjudica a la *C. vulgaris* colocando en una incubadora las muestras a 25 °C durante 3 y 6 días para observar el crecimiento de hongos y el comportamiento correlacionado al contenido de algas proporcional (Danielli, 2015).

Proteína cruda

Se pesó un gramo de muestra y se colocó la muestra en el matraz Kjeldahl, se le agregó selenio y perlas de vidrio. Posteriormente se agregó 30 mL de H₂SO₄ concentrado, se mezcló y se colocó el matraz en el digestor Kjeldahl. Después que se enfrió el matraz Kjeldahl se le agregó agua destilada y NaOH más un catalizador y se colocó en la parte superior para realizar la destilación, el nitrógeno se recibió en un matraz Erlenmeyer que contenía una solución de ácido bórico con indicador para observar el vire en el momento de la titulación. La titulación se realizó con H₂SO₄ 0.1 N. Se analizó un testigo (sin muestra) y después se realizó la titulación de las muestras.

Extracto etéreo

En un papel filtro se pesaron 3 g de muestra y se colocaron en un dedal de celulosa. Un matraz bola de fondo plano se mantuvo a peso constante registrando el peso en una bitácora. Al matraz se le agregaron 250 ml de hexano y se colocaron el dedal en el sifón Soxhlet, junto con el matraz bola del refrigerante y después de 8 h de reflujo constante se recuperó el solvente y se colocó en la estufa para tenerlo a peso constante pero ahora con muestra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de TPA se muestran en la Tabla 2, éstos mostraron que los tratamientos fueron afectados por el contenido de microalga. La elasticidad y cohesividad no mostraron diferencia, lo que indica que el pan puede recuperarse después de la compresión. Sin embargo, la masticabilidad mostró un incremento conforme aumentó la concentración de la microalga, pero en el tratamiento de 6% disminuyó. Los tratamientos con 4 y 6% no presentaron valores de adhesividad, lo que indica que a mayores concentraciones de microalga va disminuyendo (González, Alvis & Arrázola, 2015). En la dureza se vio un incremento en comparación con el control, pero esta fue disminuyendo conforme se aumentó la concentración de microalga (Hleap & Velasco, 2010).

Tabla 2. Resultados de Análisis de Perfil de Textura.

Tratamiento	Dureza	Adhesividad	Elasticidad	Cohesividad	Gomosidad	Masticabilidad
Control	1365 ± 668 ^a	-20.2 ± 27.8 ^a	0.946 ± 0.029 ^a	0.830 ± 0.051 ^a	1141 ± 597 ^a	1083 ± 565 ^a
2%	1565 ± 684 ^a	-0.47 ± 0.34 ^a	0.895 ± 0.005 ^a	0.802 ± 0.052 ^a	1254 ± 550 ^a	1123 ± 491 ^a
4%	2160 ± 690 ^a	-	0.968 ± 0.008 ^a	0.846 ± 0.043 ^a	1772 ± 522 ^a	1723 ± 491 ^a
6%	14480 ± 472 ^a	-	0.951 ± 0.021 ^b	0.835 ± 0.035 ^a	1217 ± 446 ^a	1158 ± 432 ^a

* Superíndice en minúscula significa diferencia estadística significativa entre tratamientos en el mismo día de medición.

En la Tabla 3 se muestran los resultados del análisis colorimétrico según el espacio de color L*a*b*. El tratamiento control manifestó un color naranja oscuro mayormente desaturado, mientras que las muestras con contenido de microalga demostraron un color naranja desaturado muy oscuro. Conforme aumentó el contenido de microalga, disminuyó la luminosidad en los panes, y el color verde y azul aumentan. Se notan ligeros cambios en los panes con contenido de microalga, pero de igual forma a comparación del control el color se ve severamente afectado.

Tabla 3. Resultados de color de los tratamientos.

Tratamiento	L	a	b	C	H
Control	44.77 ± 2.26 ^a	4.77 ± 0.21 ^a	11.07 ± 0.35 ^b	11.33 ± 0.42 ^b	60.73 ± 5.86 ^b
2%	35.97 ± 0.65 ^b	2.17 ± 1.48 ^b	18.93 ± 1.81 ^a	19.13 ± 1.70 ^a	83.03 ± 4.67 ^a
4%	31.00 ± 3.08 ^b	2.40 ± 0.30 ^b	18.43 ± 1.36 ^a	18.60 ± 1.39 ^a	82.40 ± 0.62 ^a
6%	31.00 ± 2.46 ^b	3.00 ± 0.26 ^{ab}	16.90 ± 1.48 ^a	17.53 ± 2.06 ^a	79.87 ± 0.38 ^a

* Superíndice en minúscula significa diferencia estadística significativa entre tratamientos en el mismo día de medición.

Acción microbiana

Se tiene como antecedente que la *C. vulgaris* puede inhibir la actividad de los hongos y bacterias, esto puede ser reevaluado para considerarlo un conservante natural debido a esta característica. En la Figura 3 se muestran los tratamientos al tercer día, se encontró que mientras más se incrementa el contenido de microalgas se puede tener una acción antimicrobiana visible, no por completo, pero a comparación de la muestra de pan control si hay un cambio visible de manera significativa. Por último, se observa en la Figura 4 el comportamiento de crecimiento en la muestra con 10gr de alga (6%) al sexto día y la muestra control donde se puede analizar que si tiene una acción significativa como factor antimicrobiano el alga *C. vulgaris*.

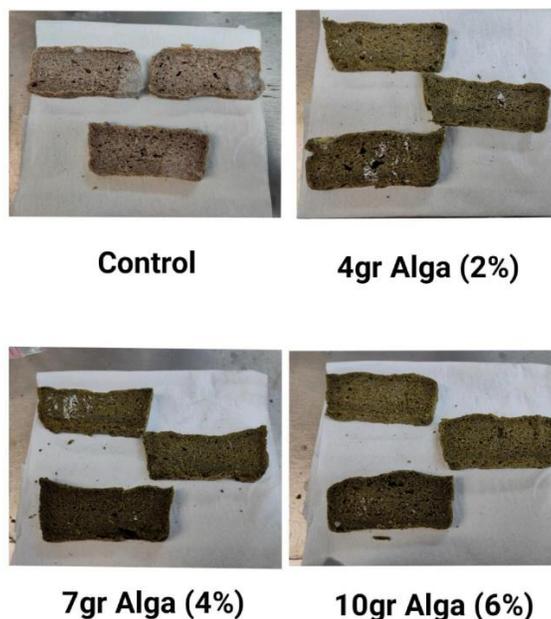


Figura 3. Crecimiento microbiano a 25°C al tercer día.



Figura 4. Crecimiento microbiano a 25°C en el día 6, tratamiento control y 6%.

Análisis bromatológico

Tabla 4. Resultados del análisis bromatológico.

Componente químico	Control	2%	4%	6%
Humedad (%)	1.13 ± 0.08	1.38 ± 0.01	1.09 ± 0.10	1.71 ± 0.02
Proteína	6.44 ± 5.58	9.74 ± 0.13	5.32 ± 4.61	5.08 ± 4.41
Grasa	7.41 ± 0.02	8.59 ± 0.08	8.09 ± 0.03	8.73 ± 0.06
Cenizas	97.41 ± 0.01	96.80 ± 0.07	97.14 ± 0.03	97.49 ± 0.04
Cenizas totales	2.59 ± 0.01	3.20 ± 0.07	2.86 ± 0.03	2.51 ± 0.04
Materia Seca total	98.87 ± 0.08	98.62 ± 0.01	98.91 ± 0.10	98.29 ± 0.02
Materia orgánica	97.41 ± 0.01	96.80 ± 0.07	97.14 ± 0.03	97.49 ± 0.04

Como se muestra en la tabla 4, los resultados del análisis bromatológico, se observa cómo hay una diferencia significativa en comparación del pan de control en diversos resultados, como se observan los resultados de la proteína se analizó que se tiene un incremento de proteína al incorporarle microalga lo cual resulta en un gran atractivo como sustituto para este tipo de productos que debido a su naturaleza no poseen un buen nivel de proteína, de igual forma se observa que el mayor nivel se manifestó en el pan con menor contenido en porcentaje, esto puede resultar atractivo debido a que es el pan con mejor contenido visual y de textura de las muestras analizadas. Se debe tomar a considerar como el contenido de grasa igual aumenta de manera en que aumenta el porcentaje de microalga. Los resultados concuerdan con los establecidos en la literatura. (Qazi *et.al.*, 2022)

CONCLUSIÓN

Los resultados mostraron que al incorporar microalga a un pan sin gluten puede afectar según el porcentaje agregado en la textura y color. De igual forma se concluyó que el efecto del pre-fermento fue un factor clave en la capacidad de la viscoelasticidad del producto dado los resultados de elasticidad y cohesividad del análisis TPA. También la capacidad antimicrobiana nos indica que esta microalga puede ser utilizada como conservante natural en alimentos. A pesar de los buenos resultados obtenidos es recomendable continuar con la investigación en esta área para mejores resultados y en un futuro incorporar las microalgas con éxito a más productos alimenticios.

BIBLIOGRAFÍA

- ASERCA. (2018). Trigo cereal más cultivado alrededor del mundo. Gobierno de México.
- Castiblanco, E. (2020). Procesos y técnicas de panificación. *PALMA Express*, 68-113.
- Danielli M.M. Dantas, Romero M.P.B. Costa, Carneiro-da-Cunha, M. G., Galvez, A. O., Drummond, A. R., & Bezerra, R. S. (2015). Bioproduction, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Compounds from *Chlorella vulgaris*. *Research & Reviews: Journal of Botanical Sciences*.
- El superalimento avalado por la OMS y la ONU» Aizea», consultoría en nutrición y seguridad alimentaria. (2017).
- Francisco Tejero - Asesoría Técnica en Panificación - El gluten en la panadería. (2022). Francisco Tejero - Asesoría Técnica En Panificación.
- García-Segovia, P., Pagán-Moreno, M. J., Lara, I. F., & Martínez-Monzó, J. (2017). Effect of microalgae incorporation on physicochemical and textural properties in wheat bread formulation. *Food Science and Technology International*, 23(5), 437-447.
- García-Segovia, P., Pagán-Moreno, M. J., Lara, I. F., & Martínez-Monzó, J. (2017). Effect of microalgae incorporation on physicochemical and textural properties in wheat bread formulation. *Food Science and Technology International*, 23(5), 437-447.
- González, A., Alvis, A., & Arrázola, G. (2015). Efecto del recubrimiento comestible en las propiedades de trozos de batata (*Ipomoea batatas* Lam) fritos por inmersión: Parte 1: Textura. *Información tecnológica*, 26(1), 95-102.
- Güemes Vera, N., Totosaus, A., Hernandez, J. F., Soto, S., & Aquino Bolaños, E. N. (2009). Propiedades de textura de masa y pan dulce tipo "concha" fortificados con proteínas de suero de leche. *Food Science and Technology*, 29(1), 70-75.
- Hleap, J. I., & Velasco, V. A. (2010). Análisis de las propiedades de textura durante el almacenamiento de salchichas elaboradas a partir de tilapia roja (*Oreochromis* sp.). *Bioteología en el Sector agropecuario y agroindustrial*, 8(2), 46-56.
- Marqués, C. B., Albiñana, M. L., & Lacueva, C. P. (2007). La masa madre: el secreto del pan. *Alimentaria*, 380, 51.
- Pan. (2017). Pan de masa madre sin gluten. Método sencillo. GLUTENDENCE.
- Peña, A. S., & Rodrigo Saez, L. (2013). Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca. *OmniaScience Monographs*.
- Qazi, M. W., de Sousa, I. G., Nunes, M. C., & Raymundo, A. (2022). Improving the nutritional, structural, and sensory properties of gluten-free bread with different species of microalgae. *Foods*, 11(3), 397.
- Sáez, M. L., García, R. Á. B., & Almendros, M. T. (2010). Enfermedad celiaca. *SESIONES HOSPITALARIAS 2011-2012 COMPLEJO HOSPITALARIO TORRECÁRDENAS*, 53.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. Y., & Vaca-García, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265-278.
- Von Atzingen, M. C., & Machado Pinto e Silva, M. E. (2005). Evaluación de la textura y color de almidones y harinas en preparaciones sin gluten. *CyTA-Journal of Food*, 4(5), 319-323.