



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Desarrollo de pan de trigo enriquecido con harina de *Pleurotus ostreatus* utilizando su extracto enzimático

Development of wheat bread enriched with *Pleurotus ostreatus* flour using its enzyme extract

Losoya-Sifuentes, C.^a, Tapia-Solís, M.^b, Sígala-Laguna, S.^b, Rodríguez-Jasso R.M.^a, Loredó-Treviño, A.^a, Ruiz, H.A.^a, Cruz, M.^{b*}, Belmares, R.^{a*}

^a Departamento de Investigación en Alimentos; Universidad Autónoma de Coahuila. C.P. 25280, Saltillo, Coahuila, México. <https://orcid.org/0000-0001-8971-0639>; <https://orcid.org/0000-0002-2857-3340>; <https://orcid.org/0000-0003-0917-0324>; <https://orcid.org/0000-0003-1362-4691>.

^b Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos; Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. C.P. 25315, Buenaventura, Coahuila, México. <https://orcid.org/0000-0002-2875-8097>.
carolinalosoya@uadec.edu.mx; marlen.tapia10@hotmail.com; phanita@outlook.es; rrodriguezjasso@uadec.edu.mx; araceliloredo@uadec.edu.mx; hector_ruiz_leza@uadec.edu.mx; myke13_80@hotmail.com*; ruthbelmares@uadec.edu.mx*

Innovación tecnológica: Pan enriquecido con harina de hongo comestible y agregando el extracto enzimático del hongo.

Área de Aplicación: Ciencias de los alimentos, biotecnología alimentaria, nutrición humana.

Recibido: 06 julio 2020

Aceptado: 01 septiembre 2023

Abstract

Baking technology has evolved with the aim of increasing the quality of products. For this reason, in this study, formulations enriched with edible mushroom flour (*Pleurotus ostreatus*) and enzymatic extracts were evaluated as ingredients to improve sensory characteristics in the preparation of the dough and obtain beneficial products for the consumer (functional bread). Amylolytic enzymes are among the most widely used ingredients, since they improve the sensory qualities of bread and increase its shelf life. The edible mushroom *Pleurotus ostreatus* (Po) is a source of high biological value protein, rich in fiber (β -glucans), vitamins and minerals. In addition, it has bioactive compounds with immunomodulatory activity, hypoglycemic and prebiotic effects that can benefit people at risk or suffering from a chronic disease. The aim of the present work has

to evaluate the effect of the enzyme extract in conjunction with Po flour to improve the sensory, nutritional and physicochemical characteristics of an enriched wheat bread. First, Po flour was obtained and its nutritional characteristics were evaluated, then bread formulations were developed substituting 5, 10, 15 and 20% of the wheat flour with Po flour, in addition to the formulation without Po as a control. Finally, the addition of 5% of enzyme extract with amylases activity of $3896 \text{ UE} \cdot \text{L}^{-1}$, previously obtained by fermentation using *Pleurotus ostreatus* in solid state with wheat straw as a substrate was evaluated. The proximal analysis of Po powder and bread formulations was performed according to the standardized AOAC methods. The results showed that Po flour is a source of essential nutrients including protein (22.3 g / 100 g), fiber (5.5 g / 100g) and minerals (9.9 g / 100g), in addition to carbohydrates (60.3 g / 100g) and low lipid content (1.9 g / 100g). The addition of 20% Po flour in the formulations resulted in significant ($p > 0.05$) increases in fiber content of bread (0.00 to 2.26 g / 100g). The addition of enzyme the volume of the bread. These results indicate that Po and its enzyme extract can be used as an alternative ingredient to enrich the nutritional value and quality of wheat bread.

Keywords: Edible fungus, Flour, *Pleurotus ostreatus*, Wheat bread.

Resumen

La tecnología de panificación ha evolucionado con el objetivo de incrementar la calidad de los productos, por esta razón en el presente estudio se evaluaron formulaciones enriquecidas con harina de hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) y extractos enzimáticos como ingredientes para mejorar características sensoriales en la elaboración de la masa y obtener productos benéficos para el consumidor (pan funcional). Las enzimas amilolíticas se encuentran entre los ingredientes más utilizados, ya que mejoran las cualidades sensoriales del pan y aumentan su vida de anaquel. *Pleurotus ostreatus* (Po) es una fuente de proteínas de alto valor biológico, rico en fibra (β -glucanos), vitaminas y minerales. Además, tiene compuestos bioactivos con actividad inmunomoduladora, efectos hipoglucémicos y prebióticos que pueden beneficiar a las personas en riesgo o que padecen una enfermedad crónica. El objetivo del presente trabajo, fue evaluar el efecto del extracto enzimático en conjunto con harina de Po para mejorar las características sensoriales, nutrimentales y fisicoquímicas de un pan de trigo enriquecido. Primeramente, se obtuvo harina de Po y se evaluaron las características nutricionales, posteriormente se desarrollaron formulaciones de pan sustituyendo en un 5, 10, 15 y 20 % de la harina de trigo por harina de Po, además de la formulación sin Po como control. Finalmente se evaluó la adición de extracto enzimático con actividad amilasa de $3896 \text{ UE} \cdot \text{L}^{-1}$ que previamente fue obtenido mediante fermentación utilizando *Pleurotus ostreatus* en estado sólido con paja de trigo como sustrato. El análisis proximal de las formulaciones de harina de Po y de los panes se realizó de acuerdo a los métodos de la AOAC. Los resultados mostraron que la harina de Po es una fuente de proteína (22.3 g / 100 g), fibra (5.5 g / 100g) y minerales (9.9 g / 100g), además de carbohidratos (60.3 g / 100g) y bajo contenido de lípidos (1.9 g / 100g). Se puede concluir que la adición del 20% de harina Po en las formulaciones resultó en aumentos significativos ($p > 0.05$) de fibra (0.00 a 2.26 g / 100g). La adición de extracto

enzimático favoreció el aumento de volumen del producto. Estos resultados sugieren que el Po y su extracto enzimático pueden usarse como un ingrediente alternativo para enriquecer el valor nutricional del pan de trigo.

Palabras clave: Hongo comestible, Harina, *Pleurotus ostreatus*, Pan de trigo.

1. Introducción

El pan es un alimento popular en todo el mundo, y sus ingredientes han ido evolucionando y cambiando con el avance del tiempo (1). En este sentido, la ciencia y tecnología de la panificación tiene un papel muy importante para mejorar la práctica actual y desarrollar nuevos productos.

El cereal más utilizado en panificación es el trigo (*Triticum aestivum*), ya que en la preparación de un pan, forma una masa en donde queda atrapado el gas que es producido por las levaduras durante la fermentación y resulta en una miga suave y esponjosa que atrae al consumidor (2). El almidón es el componente principal de la harina de trigo (79 a 75 % de peso seco) afecta a las características reológicas de la masa debido a su capacidad de absorción de agua y sus propiedades gelificantes, además de las nutricionales y sensoriales en el pan (2). Se han utilizado varios tipos de enzimas amilolíticas en la elaboración del pan para mejorar la reología de la masa y las características físicas del pan (3) debido a la hidrólisis enzimática del almidón. Las α -amilasas, amilasas maltogénicas, las glucoamilasas, o una combinación de origen diferente (fúngico o bacteriano) son las más utilizadas para acelerar la degradación del almidón para evitar que la estructura del pan colapse y obtener un producto con mejores características sensoriales (4). Oliveira *et al* (5), evaluaron el impacto sobre la calidad y el envejecimiento del pan de un coctel enzimático con actividad xilanolítica del hongo *T. aurantiacus*, como un mejorador de las propiedades reológicas del pan. También

las enzimas se han utilizado para mejorar las cualidades físicas, nutricionales y digestivas del pan (6), Li *et al* (3) investigaron los efectos de glucosiltransferasa B (GtfB) sobre la reología de la masa y el rendimiento de la harina de trigo para hornear, obteniendo un pan con baja retrogradación y digestibilidad lenta.

El pan es consumido a nivel mundial, pero se debe tomar en consideración que tiene alto contenido de almidón de rápida digestión, por lo que su consumo provoca un incremento en los niveles de glucosa sanguínea (7) y como consecuencia, puede promover el desarrollo de desórdenes metabólicos, como diabetes y enfermedades cardiovasculares (8). Actualmente el desarrollo de alimentos funcionales busca satisfacer las necesidades de los consumidores, abasteciendo de productos que además de proporcionar nutrientes y energía, presenten compuestos bioactivos que prevengan o contrarresten la generación o avance de enfermedades crónicas (9–11). Se han llevado a cabo investigaciones sobre el enriquecimiento del pan, reemplazando la harina refinada por ejemplo por cáscara de fruta para aumentar su contenido de fibra (12), leguminosas como fuente de proteína vegetal (13), mucílago de nopal, que proporciona compuestos funcionales como polisacáridos que funcionan como prebióticos en el pan (14).

Se ha reportado que la incorporación de hongos comestibles a los alimentos procesados potencializa las características sensoriales, nutricionales y nutraceuticas o funcionales de los alimentos (15–18).

Particularmente, las especie de *Pleurotus ostreatus* (Po), es una de las más cultivadas a nivel mundial (19). Este hongo se desarrolla en sustratos lignocelulósicos, como lo son los subproductos de la industria alimentaria (20). Además, el Po es una fuente importante de proteínas (21) de alta calidad que cumplen con los requerimientos de aminoácidos esenciales para un adulto, fibra, vitaminas, minerales y ácidos grasos insaturados (22), así mismo es fuente de polisacáridos como los β -glucanos (pleuran) con diversas actividades biológicas y funcionales, como propiedades inmunomoduladoras (23), prebióticas (24) y actividad hipoglucemiante (25). Los hongos comestibles han sido consumidos desde épocas antiguas y valorados actualmente por sus características organolépticas y su gran valor nutricional (15), por lo que puede convertirse en una opción como fuente enriquecedora de alimentos.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de harina y adición de extracto enzimático con actividad amilolítica obtenidos a partir de *Pleurotus ostreatus* sobre las propiedades nutrimentales y fisicoquímicas de la masa panadera.

2. Materiales y métodos

2.1 Cultivo de *Pleurotus ostreatus* y obtención de la harina

El cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* se llevó a cabo siguiendo las metodologías de Bonatti-Chaves *et al* (26) con modificaciones en la temperatura y humedad durante la incubación. Para el desarrollo del hongo se utilizó paja de trigo (*Triticum* sp.) y sorgo (*Sorghum* sp.) como sustrato el cual se esterilizó en autoclave para evitar contaminación. Posteriormente, se inoculó el sustrato con semilla de sorgo (15% p/p) inoculada con micelio del hongo Po (conservado a -4°C), el cual fue proporcionado por el Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad

Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), este procedimiento utilizó bolsas de plástico de 2 Kg, las cuales se mantuvieron en oscuridad, en condiciones de temperatura (28°C) y humedad relativa (80 - 90 %) controladas. Los hongos maduros (cuerpo fructífero) de Po se cosecharon manualmente después de 40 días. Los hongos se cortaron y se secaron en horno eléctrico (Felisa) a 60°C durante 48 h; a continuación, se molieron (Pulvex mini 100) y se tamizaron hasta un tamaño de partícula de $350\ \mu\text{m}$ (Tyler, RO-TAP RX-29).

2.2. Obtención del extracto enzimático

Para la obtención del extracto enzimático de Po se realizaron cinéticas de producción de enzimas utilizando como sustratos diferentes desechos agroindustriales (bagazo) de plantas de yuca (*Yucca filifera*) y maguey (*Agave salmiana*) (21). Se seleccionó la muestra que presentó mayor actividad amilolítica ($3889\ \text{UE} \cdot \text{L}^{-1}$) para esta investigación. El extracto crudo se obtuvo adicionando 50 mL de buffer de citratos (pH 5) a cada bolsa, se agitó vigorosamente para asegurar la extracción total de las enzimas producidas. El contenido de la bolsa fue filtrado con una bomba de vacío y papel filtro Whatman No. 1, el sobrenadante recolectado se congeló a -20°C hasta su uso de acuerdo al método de González y col. (27).

2.3 Determinación de la actividad enzimática de la amilasa

La actividad enzimática del extracto crudo obtenido se determinó cuantificando los azúcares reductores liberados utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) como lo describe Miller (28). En una solución de almidón en agua destilada (10% v/v) en un volumen de $90\ \mu\text{L}$ se agregaron $10\ \mu\text{L}$ del extracto enzimático crudo y se incubó a 50°C durante 60 min, posteriormente se adicionaron $100\ \mu\text{L}$ de DNS. La solución resultante se llevó a ebullición (100°C)

durante 10 min y luego se colocó en hielo durante 5 min. Se determinaron los azúcares reductores obtenidos, midiendo la absorbancia a 546 nm en un espectrofotómetro (BIOBASE EL-10A), utilizando como curva patrón maltosa. Una unidad de actividad de amilasa se definió como la cantidad de enzima requerida para la liberación de 1 μ mol de azúcar reductor en equivalentes de maltosa por minuto.

2.4 Desarrollo de formulaciones de pan enriquecidos con *Pleurotus ostreatus*

Se desarrollaron formulaciones de pan con harina de trigo, Po, aguamiel y otros ingredientes (levadura, leche entera, sal, aceite de canola y agua) adquiridos en un comercio local de la ciudad de Saltillo, Coahuila, México. La formulación base del pan de trigo (P0, como control) se presenta en la Tabla 1. La harina de Po sustituyó la harina de trigo en 5, 10, 15 y 20 % y las formulaciones obtenidas se designaron como P5, P10, P15 y P20 respectivamente.

Tabla 1. Formulación base empleada para la elaboración de pan de trigo.

Ingredientes	(%, p/p)
Harina de trigo	60
Levadura	1.5
Leche entera	28.4
Aguamiel	3.7
Aceite de canola	4.5
Sal	1.1

Se pesaron en balanza analítica (Ohaus) y posteriormente se mezclaron todos los ingredientes usando una amasadora eléctrica manual (Black + Decker MX 900) durante 15 a 20 min, hasta la incorporación completa de los ingredientes. La masa obtenida, se dejó reposar por 1 h a 25 °C para permitir su fermentación por levadura. Pasado este tiempo, la masa fue pesada y dividida en partes iguales de 50 g para ser moldeada y se dispuso en un recipiente para hornear, se dejó

otros 30 min a 25 °C para una segunda fermentación. Las formulaciones desarrolladas se hornearon por 22 min en un horno de convección a 180 °C (San-Son, HCX PLUS). Después se enfriaron a 25 °C y se almacenaron en bolsas de plástico hasta su posterior análisis. Todas las formulaciones se prepararon por triplicado.

2.5 Evaluación del efecto del extracto enzimático sobre las características del pan de trigo enriquecido con Po

Una vez que las formulaciones de pan enriquecido con Po se desarrollaron, así como las condiciones adecuadas de elaboración y horneado, se evaluó el efecto de la enzima amilasa sobre el pan. Se mezclaron todos los ingredientes excepto la levadura por 15 a 20 min, adicionando un 5% del extracto enzimático continuando con el amasado hasta la homogenización de los ingredientes. Una vez obtenida la masa, se cubrió y se mantuvo por 30 min a temperatura ambiente (25 °C) para permitir que la enzima amilasa actuara sobre la masa. Transcurrido este tiempo, se agregó la levadura y se amasó de 5-10 min para su incorporación. Se cubrió la masa y se dejó 1 h a temperatura ambiente (25 °C) para permitir el proceso de fermentación. Pasado este tiempo, la masa se pesó y dividió en partes iguales para ser moldeada y se continuó con la metodología de la sección 2.2. Las formulaciones obtenidas en esta etapa se nombraron P0e, P5e, P10e, P15e y P20e.

2.6 Análisis de la composición química del Po y de las formulaciones de pan

Los contenidos de humedad, lípidos crudos, proteína cruda, fibra cruda y cenizas de la harina de Po y de los panes se determinaron de acuerdo a los métodos estandarizados de la AOAC (29). El contenido de proteína fue estimado por el método de Kjeldahl usando 4.38 como factor de conversión del nitrógeno a proteína para las muestras de harina de

hongo Po (30) y el factor 6.25 para las formulaciones de panes. Los lípidos se extrajeron con hexano en un Soxhlet durante 6 h. El contenido de cenizas se determinó mediante incineración a 600 °C en mufla. Los carbohidratos totales se determinaron por diferencia (100 – (cenizas + proteína + lípidos + humedad)). Así mismo, se determinaron azúcares totales de las formulaciones de pan siguiendo el método de fenol-sulfúrico. Se determinó fibra cruda siguiendo el método gravimétrico que mide el residuo orgánico luego de una digestión secuencial con ácido sulfúrico 0.255 N e hidróxido de sodio 0.313 N, seguido de secado en horno a 100 °C por 12 h e incineración en mufla a 600 °C durante tres horas.

2.7 Análisis estadístico

Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado y los resultados se presentan como el promedio $\pm$ desviación estándar (DE). Los análisis estadísticos se realizaron mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey con un nivel de significación del 5%, utilizando el software INFOSTAT versión 2018 para Windows (Córdoba, Argentina).

3. Resultados y Discusión

3.1 Análisis proximal de la harina de Po

La composición química (base seca) de la harina de Po (31-35) se muestran en la Tabla 2. El contenido de cenizas fue de 9.9 ± 0.2 g/100 g, resultado similar al obtenido por Alam *et al* (36). El hongo Po es una fuente de minerales como fósforo, potasio y magnesio

(37). El contenido de minerales de la harina de Po es más alto que la de harina de trigo ya que muchos de los minerales se pierden durante el proceso de molienda del grano para la harina de trigo (33). El contenido de lípidos fue similar a los datos reportados por Wang *et al* (38) en Po cultivado en residuos de cáscaras de algodón. La grasa que contiene la mayoría de los hongos está compuesta por ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (linolénico y linoleico), estos últimos, son ácidos grasos esenciales y son necesarios para prevenir enfermedades cardiovasculares (39-40). En cuanto al contenido de proteínas, este fue el segundo componente con mayor concentración en la harina de Po. Carrasco-González *et al* (22) señalaron al hongo Po como uno de los hongos con mayor cantidad de proteína en comparación con otras especies del género *Pleurotus* spp. Estas proteínas aumentan valor biológico ya que aportan todos los aminoácidos esenciales, en cantidades suficientes (40), a diferencia de la harina de trigo, cuyas proteínas son deficientes en lisina y treonina (41). Sin embargo, el contenido de proteínas en hongos puede variar dependiendo del sustrato en el que se desarrolla el hongo (32, 36, 42, 43). Con respecto al contenido de carbohidratos totales, estos fueron de 60.3 ± 0.7 g/100 g, siendo el componente químico mayoritario, en concordancia con otros trabajos previos (32, 44). A diferencia de la harina de trigo que contiene en su mayoría hasta en un 75% de almidón (41, 45), los polisacáridos presentes en el hongo Po son β -glucanos y quitina (46).

Tabla 2. Composición química del polvo de *Pleurotus ostreatus* comparada con la harina de trigo.

Componentes químicos	Valores obtenidos de harina de Po (g/100g)	Valores de referencia de harina de Po ^(22,31,32)	Valores de referencia de Harina de trigo ^(2,34,35)
Humedad (%)	5.6 ± 0.2	-----	13.75 - 14.1
Ceniza	9.9 ± 0.2	4.1-15.9	0.45 – 0.63
Lípidos	1.9 ± 0.1	0.5 - 7.6	0.00 – 0.92
Proteína	22.3 ± 1.4	7.3- 53.3	11.20 – 13.2
Carbohidratos totales	60.3 ± 0.7	13.1 – 85.8	67.78 – 85.2
Fibra cruda	5.5 ± 0.4	7.6 – 15	0.00

Otro componente importante que se encuentra en el Po es la fibra. En este estudio se cuantificó la fibra cruda (5.5 g/100 g), el contenido fue menor a lo reportado por (26, 36, 44). La fibra es otro componente que se ve afectado por el sustrato elegido para que crezca el hongo (43). A pesar de esto, en comparación con la harina de trigo refinada, el valor encontrado en la harina de Po es superior. Durante el proceso de molienda del grano de trigo, se separan el salvado y el germen. Estas dos partes del grano contienen la mayor parte de fibra dietética y otros componentes bioactivos, por lo que la harina resultante es baja en este componente (47).

3.2 Obtención y determinación de la actividad amilasa del extracto enzimático *P. ostreatus*

La determinación de la actividad amilasa durante el desarrollo del hongo *P. ostreatus*

en las diferentes mezclas de sustrato evaluado presentó un pico máximo de actividad amilasa a los 7 días del cultivo del hongo en los sustratos compuestos por 40 y 50 % de yuca. La mayor actividad enzimática obtenida fue de $3896 \text{ UE} \cdot \text{L}^{-1}$ y se presentó en la mezcla con 50% de *Y. filifera*, de acuerdo al ANOVA se obtuvo diferencia significativa entre los tratamientos ($p < 0.05$) (27). Se ha reportado que, en los primeros días de la cinética de fermentación, los microorganismos fúngicos desarrollan sistemas enzimáticos rápidamente con el objetivo de degradar los azúcares disponibles en el medio, sin embargo, en seguida la actividad enzimática comienza a decrecer debido a la presencia de otras moléculas (como azúcares reductores o aminoácidos) que inhiben la producción enzimática y pueden retardar su crecimiento [48].

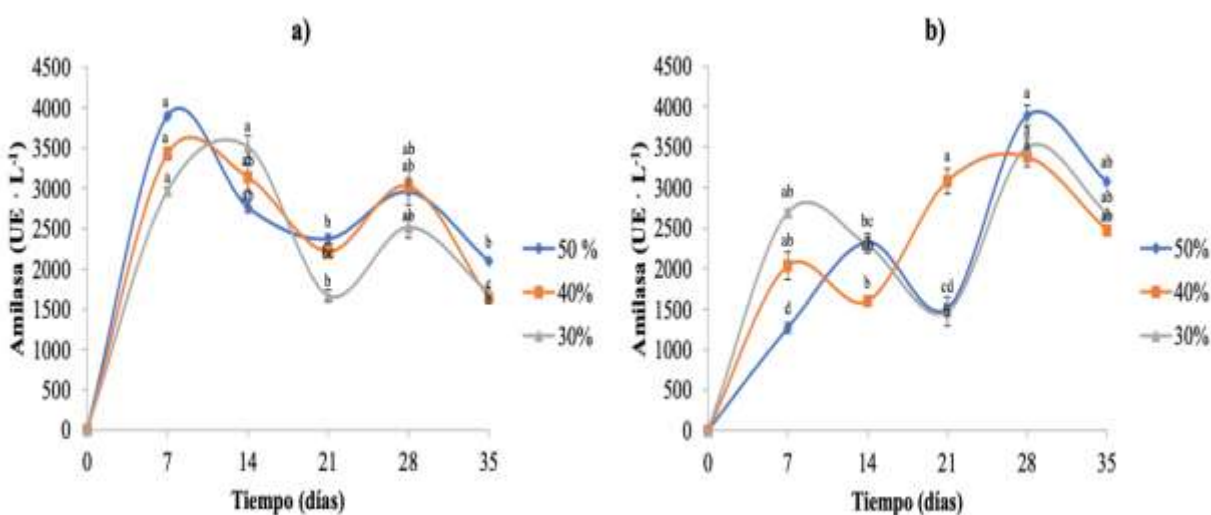


Figura 1. Cinética de actividad amilasa con a) bagazo de yuca y b) bagazo de maguey como soporte. Desviación estándar representada por las barras de error. Medias dentro de la cinética del mismo tratamiento que no comparten una letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Por otra parte, la mayor actividad de amilasa en el sustrato con maguey al 50% fue de $3889 \text{ UE} \cdot \text{L}^{-1}$, el hecho de que la mayor producción de amilasas se diera casi al final de la cinética de fermentación puede deberse a que los

azúcares solubles son los principales consumidos durante el desarrollo del micelio [49]. Sin embargo, otras investigaciones han reportado niveles de producción de enzima amilasa alrededor de $495 \text{ UE} \cdot \text{L}^{-1}$ a los 21

días de la cinética de fermentación. En el presente estudio se obtuvieron mayores niveles ($3889 \text{ UE} \cdot \text{L}^{-1}$), debido a efectos sinérgicos que pueden presentar los microorganismos en sistemas de fermentación sólida (27).

3.3 Evaluación del efecto del extracto enzimático en las formulaciones de pan desarrolladas

En la figura 2 se presentan las formulaciones de pan desarrolladas enriquecidas con harina de Po con y sin extracto enzimático. Durante el desarrollo de la masa para pan, se adicionó el extracto enzimático 30 min antes que la levadura, con el fin de que este proceso ayudara a que este microorganismo tuviera

mayor disponibilidad de azúcares fermentables (50). La acción de la enzima amilasa es catalizar la hidrólisis de enlaces α -1, 4-glucosídicos en moléculas de almidón (amilosa y amilopectina), generando maltosa y glucosa; además tiene un efecto en la reología de la masa produciendo un pan con propiedades diferentes al pan sin actividad enzimática y sus reacciones acopladas (51). La glucosa y la maltosa son azúcares fermentables que pueden ser utilizados por la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) como fuente de metabolismo para producir CO_2 . La formación de gas durante la fermentación final de la masa y en la primera parte de la fase de cocción es necesaria para obtener un producto de calidad (52).

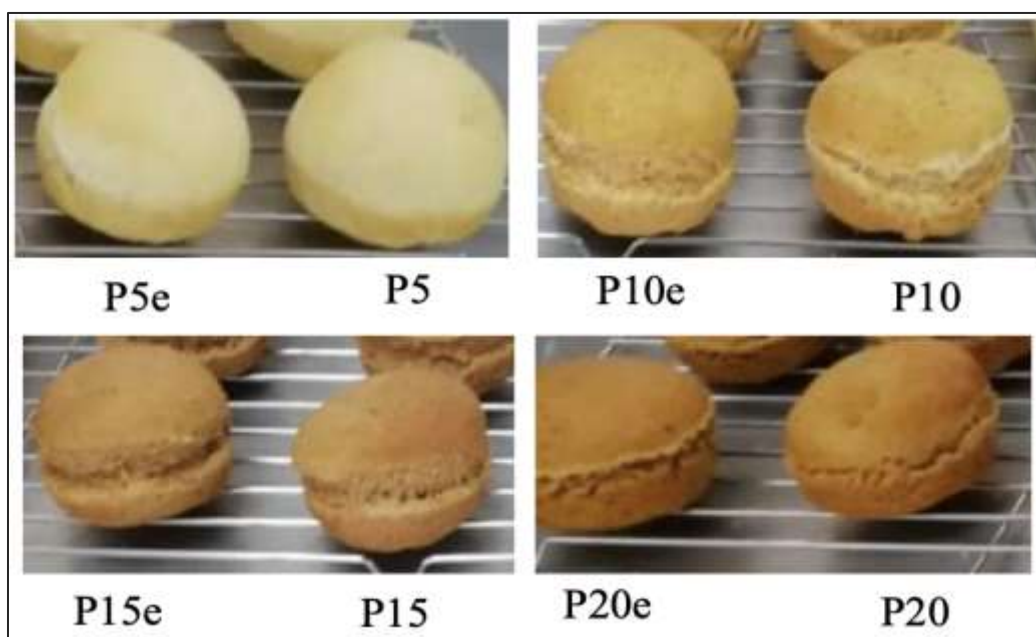


Figura 2. Formulaciones de pan con diferentes concentraciones de harina de Po (5, 10, 15 y 20 %) con o sin extracto enzimático.

En la figura 3 se puede observar una diferencia en el volumen entre el pan P5e de harina de Po con enzima y sin enzima (P5e). Al aumentar los azúcares disponibles para la fermentación, la levadura tuvo mejor rendimiento durante la fermentación lo que pudo aumentar el volumen de pan (50). Este comportamiento debido a la adición de

enzimas puede resultar favorecedor en productos de panificación a los que se les ha sustituido la harina de trigo, por otro ingrediente que no contenga gluten o con bajo contenido de almidón, como es el caso de la harina del hongo Po.

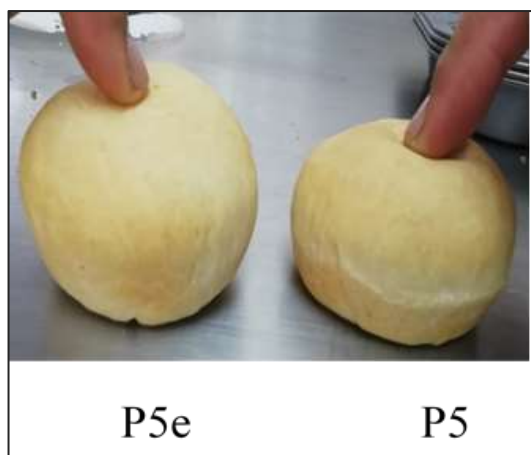


Figura 3. Formulación P5e (Pan con el 5% de harina de Po y enzima) y pan P5 (pan con el 5% de harina de Po, sin enzima).

La adición de polvo o harina de hongos comestibles a masa de pan puede disminuir el volumen específico del pan, ya que interfiere con la formación de una red de gluten de calidad y en consecuencia, una menor retención de CO_2 , lo que resulta en que la masa no alcance su potencial para aumentar volumen porque se colapsan las burbujas de gas (17). La adición de enzima amilolítica podría cambiar la viscoelasticidad de la masa durante la gelatinización del almidón, aumentando la retención de gas durante la fermentación (50, 51).

3.4 Evaluación de las características nutricionales de las formulaciones de pan obtenidas

La adición de harina de Po y extracto enzimático afectó la concentración de nutrientes en las formulaciones de pan (tabla 3). En cuanto al contenido de cenizas, la

máxima concentración lo obtuvo la formulación P10, con el 5.53 ± 0.20 g/100 g, el incremento se puede atribuir a que el hongo Po es fuente de minerales como fósforo, potasio y calcio (30). El contenido de lípidos presentó una disminución con la adición a partir del 10% de harina de Po en las formulaciones de pan. La formulación P20e presentó la máxima concentración de proteína de 16.36 ± 1.33 g/100 g en comparación con el pan P0e (pan control con enzima) con el 11.06 ± 0.14 g/100 g. Se ha observado el incremento en el contenido proteico de galletas adicionadas con harina de hongos (52). Se presentó un aumento de la cantidad de azúcares totales en las formulaciones al adicionar harina de Po, en comparación con la formulación P0e (control) sin embargo no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) dependiendo de la concentración de harina. El extracto enzimático al tener una actividad mayor de amilasas, transforma el almidón en azúcares de los cuales la levadura los utiliza para convertirlos en alcohol y dióxido de carbono (50). Esto podría causar el ligero incremento en las concentraciones de azúcares totales. Los carbohidratos de Po son polisacáridos (β -glucanos) que no son susceptibles a la hidrólisis enzimática (46). La fibra cruda incrementó su concentración de 0.00 g/ 100g en P0e a 2.26 ± 0.20 al adicionar Po en la formulación de pan. El incremento en fibra, con la adición de Po puede ser causado por la presencia de fibra dietética contenida en la harina de Po, β -glucanos.

Tabla 3. Composición química de las formulaciones de pan enriquecidos con Po y con extracto enzimático (g/100g).

Muestra	Humedad (%)	Ceniza	Lípidos	Proteína	Azúcares totales	Carbohidratos totales	Fibra cruda
P0e	3.41 ± 0.21 ^a	2.66 ± 0.04 ^a	0.40 ± 0.10 ^b	11.06 ± 0.14 ^b	15.15 ± 0.31 ^a	67.32 ± 0.21 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
P5e	9.63 ± 0.07 ^b	3.07 ± 0.5 ^a	0.26 ± 0.04 ^b	7.84 ± 0.03 ^a	20.83 ± 1.33 ^b	58.05 ± 0.28 ^b	0.32 ± 0.13 ^a
P10e	12.35 ± 0.12 ^c	5.53 ± 0.20 ^b	0.03 ± 0.02 ^a	11.56 ± 0.55 ^b	20.99 ± 0.97 ^b	49.20 ± 0.16 ^c	0.34 ± 0.03 ^a
P15e	17.54 ± 1.72 ^d	2.32 ± 0.69 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	7.95 ± 0.60 ^a	21.57 ± 0.58 ^b	48.95 ± 0.22 ^c	1.66 ± 0.19 ^b
P20e	15.44 ± 0.92 ^d	2.71 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.02 ^a	16.36 ± 1.33 ^c	21.02 ± 1.48 ^b	42.17 ± 0.29 ^d	2.26 ± 0.20 ^b

* Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$, ANOVA).

Esta fibra dietética soluble que está presente en las paredes celulares de los hongos ha demostrado tener beneficios para la salud, como efectos hipoglucemiantes (53). El enriquecimiento de productos a base de cereal, ricos en almidón, con fibras dietéticas de hongos comestibles ha mostrado disminuir el índice glucémico de estos alimentos, evitando el incremento repentino de los niveles de azúcar en sangre en los consumidores (54, 55).

4. Conclusiones

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de harina y adición de extracto enzimático con actividad amilolítica obtenidos a partir de *Pleurotus ostreatus* sobre las propiedades nutrimentales y fisicoquímicas de la masa panadera. El enriquecimiento del pan de trigo con harina de hongo Po incrementó la concentración de fibra cruda, con la formulación P20e, la inclusión del extracto enzimático obtenido del hongo Po, aumentó la concentración de proteína y fibra del pan, por lo que la harina

del hongo comestible de *Pleurotus ostreatus* puede ser una fuente de nutrientes como la proteína que permite enriquecer los alimentos y que su extracto enzimático puede ser utilizado como mejorador en panificación de acuerdo con los resultados.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma de Coahuila (UAdeC), a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por el apoyo financiero para realizar esta investigación (923148). Este estudio también fue apoyado por el Fondo Destinado a Promover el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología en el Estado de Coahuila (FONCYT) con clave COAH-2019-C13-C110.

6. Referencias

1. Zhou W, Therdthai N, Hui YH. (2014). "Introduction to Baking and Bakery Products". *Bakery Products Science and*

- Technology*, John Wiley & Sons, Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9781118792001>
2. Cardoso RVC, Fernandes Â, González-Paramás AM, Barros L, Ferreira ICFR. (2019). "Flour fortification for nutritional and health improvement: A review". *Food Research International*. 125: 108576. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108576.
 3. Li D, Zhao Y, Fei T, Wang Y, Lee BH, Shim JH, Zu B, Li Z & Li Z. (2019). "Effects of *Streptococcus thermophilus* GtfB enzyme on dough rheology, bread quality and starch digestibility". *Food Hydrocolloids*. 96:134–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.009>.
 4. Calle J, Benavent-Gil Y, Rosell CM. (2020). "Development of gluten free breads from *Colocasia esculenta* flour blended with hydrocolloids and enzymes". *Food Hydrocolloids*. 98:105243. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105243>.
 5. Oliveira DS, Telis-Romero J, Da-Silva R, Franco CML. (2014). "Effect of a *Thermoascus aurantiacus* thermostable enzyme cocktail on wheat bread quality". *Food Chemistry*. 143:139–46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.103>.
 6. Md. Asaduzzaman Khan & Mousumi Tania. (2012). "Nutritional and Medicinal Importance of *Pleurotus* Mushrooms: An Overview". *Food Reviews International*. 28(3): 313–329. <https://doi.org/10.1080/87559129.2011.637267>
 7. Akila SRV, Mishra S, Hardacre A, Matia-Merino L, Goh K, Warren F & Monro J. (2019). "Kernel structure in breads reduces in vitro starch digestion rate and estimated glycaemic potency only at high grain inclusion rates". *Food Structure*. 21:100109. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2019.100109>.
 8. Roman L & Martinez MM. (2019). "Structural Basis of Resistant Starch (RS) in Bread: Natural and Commercial Alternatives". *Foods*. 8:267. <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/7/267>.
 9. Proserpio C, Pagliarini E, Laureati M, Frigerio B, Lavelli V. (2019). "Acceptance of a new food enriched in β -glucans among adolescents: Effects of food technology neophobia and healthy food habits". *Foods*; 8(10). <https://doi.org/10.3390/foods8100433>
 10. Szakály Z, Kovács S, Pető K, Huszka P, Kiss M. (2019). "A modified model of the willingness to pay for functional foods". *Appetite*;138:94–101.
 11. Wai A, Yeung K, Mocan A, Atanasov AG. (2018). "Let food be thy medicine and medicine be thy food: A bibliometric analysis of the most cited papers focusing on nutraceuticals and functional foods". *Food Chemistry*. 269:455–65. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.139>
 12. Chen Y, Zhao L, He T, Ou Z, Hu Z, Wang K. (2019). "Effects of mango peel powder on starch digestion and quality characteristics of bread". *International Journal Biological Macromolecules*. 140:647–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.188>
 13. Millar KA, Barry-Ryan C, Burke R, McCarthy S, Gallagher E. (2019). "Dough properties and baking characteristics of white bread, as affected by addition of raw, germinated and toasted pea flour". *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 56:102189. DOI: 10.1016/j.ifset.2019.102189.
 14. Liguori G, Gentile C, Gaglio R, Perrone A, Guarcello R, Francesca N, (2019). "Effect of addition of *Opuntia fi cus-*

- indica mucilage on the biological leavening , physical , nutritional , antioxidant and sensory aspects of bread". *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 126 (2): 184-191. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.08.009>
15. Ma G, Yang W, Zhao L, Pei F, Fang D, Hu Q. (2018). "A critical review on the health promoting effects of mushrooms nutraceuticals". *Food Science and Human Wellness*. 7(2):125–33. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.05.002>.
 16. Kim S, Lee JW, Heo Y, Moon B. (2016). "Effect of *Pleurotus eryngii* Mushroom β -Glucan on Quality Characteristics of Common Wheat Pasta". *Journal of Food Science*. 81(4):C835–40. DOI: 10.1111/1750-3841.13249
 17. Khider M, Elbanna K, Seoudi O, El-Fakharany A. (2015). "Lactic acid fermented permeates and mushroom powder (*Pleurotus ostreatus* Hk 35) for improvement of the nutritional value and quality of pan bread". *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 4(8):723–36.
 18. Zhang Y, Ruan C, Cheng Z, Zhou Y, Liang J. (2019). "Mixolab behavior, quality attributes and antioxidant capacity of breads incorporated with *Agaricus bisporus*". *Journal of Food Science and Technology*. 56(8): 3921–9. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03859-7>.
 19. Kalač P. (2016). "Edible Mushrooms: Chemical composition and nutritional value". *Academic Press*. Elsevier. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/C20150004713>.
 20. Bellettini MB, Fiorda FA, Maieyes HA, Teixeira GL, Ávila S, Hornung PS, et al. (2019). "Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp". *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26(4): 633–46. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.12.005
 21. González-Colunga, A.A., Sigala-Laguna, S.S., Tapia-Solís, M., Cruz, M., Rodríguez-Jasso R.M., Loredó, A. , Contreras-Esquivel, J.C. and Belmares, R. (2021). "Efecto de diferentes sustratos sobre la cinética enzimática de *Pleurotus ostreatus*". *Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica*. 9(49):20-39.
 22. Carrasco-González JA, Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JA. (2017). "Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potencial use as food ingredient". *Journal of Food Composition of Analysis*. 58:69–81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>.
 23. Vetvicka V, Gover O, Karpovsky M, Hayby H, Danay O, Ezov N. (2019). "Immune-modulating activities of glucans extracted from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* ". *Journal of Functional Foods*. 54:81–91. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.12.034>.
 24. Synytsya A, Mičková K, Synytsya A, Jablonský I, Spěváček J, Erban V. (2009). "Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity". *Carbohydrate Polymers*. 76(4): 548–56. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.021>
 25. Nweze CC, Rasaq NO, Istifanus BI. (2020). "Effect of *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* mixed diet on Alloxan-induced hyperglycemic rats". *Science African*. 7:e00209. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00209>.
 26. Bonatti-Chaves M, Soares H, Furlan SA. (2004). "Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when

- cultivated in different lignocellulosic wastes". *Food Chemistry*. 88(3): 425-428.
DOI:10.1016/j.foodchem.2004.01.050
27. M. A. Cruz-Hernández, A. C. Ríos-Sánchez, F. Morales-Luna, M. Flores-Verastegui, M. E. Castelo-Mejia, and R. Belmares-Cerda. (2019). "Evaluación de la producción de enzimas celulolíticas utilizando *Pleurotus ostreatus*" *Av. Investig. En Inocuidad Aliment.* 2: 5–11.
 28. Miller GL. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal Chem*. 31(3): 426–8.
 29. A.O.A.C. 2000. "Official Methods of Analysis". *Association of Official Analytica Chemist*. EUA.
 30. Rasalanavho M, Moodley R, Jonnalagadda SB. (2020). "Elemental bioaccumulation and nutritional value of five species of wild growing mushrooms from South Africa". *Food Chemitry*. 319: 126596.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126596>
 31. Khan MA, Tania M. (2012). "Nutritional and Medicinal Importance of *Pleurotus* Mushrooms: An Overview". *Food Reviews International*. 28(3): 313–29. DOI:10.1080/87559129.2011.637267
 32. Fernandes Â, Barros L, Martins A, Herbert P, Ferreira ICFR. (2015). "Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate". *Food Chemitry*. 169:396–400. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.08.027
 33. Corrêa RCG, Brugnari T, Bracht A, Peralta RM, Ferreira ICFR. (2016). "Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings". *Trends in Food Science and Technology*. 50:103–17. DOI:10.1016/J.TIFS.2016.01.012
 34. Frakolaki G, Giannou V, Topakas E, Tzia C. (2018). "Chemical characterization and breadmaking potential of spelt versus wheat flour". *Journal of Cereal Science*. 79:50–6. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.08.023>.
 35. Wang J, Hasanalieva G, Wood L, Anagnostopoulos C, Ampadogiannis G, Bempelou E. (2020). "Effect of wheat species (*Triticum aestivum* vs *T. spelta*), farming system (organic vs conventional) and flour type (wholegrain vs white) on composition of wheat flour – results of a retail survey in the UK and Germany - 3. Pesticide residue content". *Food Chemistry X* 26:100089. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2020.100091>.
 36. Alam N, Amin R, Khan A, Ara I, Shim MJ, Lee MW. (2008). "Nutritional Analysis of Cultivated Mushrooms in Bangladesh - *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus florida* and *Calocybe indica*". *Mycobiology*. 36(4): 228-232. doi: 10.4489/MYCO.2008.36.4.228
 37. Bach F, Helm CV, Bellettini MB, Maciel GM, Haminiuk CWI. (2017). "Edible mushrooms: a potential source of essential amino acids, glucans and minerals". *International Journal of Food Science and Technology*. 52(11): 2382–9235. DOI:10.1111/ijfs.13522
 38. Wang S, Xu F, Li Z, Zhao S, Song S, Rong C. (2015). "The spent mushroom substrates of *Hypsizigus marmoreus* can be an effective component for growing the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*". *Sci Hortic*. 186:217–22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.028>.
 39. Kayode RMO, Olakulehin TF, Adedeji BS, Ahmed O, Aliyu TH, Badmos AHA. (2015). "Evaluation of amino acid and fatty acid profiles of commercially cultivated oyster mushroom (*Pleurotus*

- sajor-caju*) grown on gmelina wood waste". *Niger Food Journal*. 33(1): 18–21.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.nifoj.2015.04.001>.
40. Manzi P, Gambelli L, Marconi S, Vivanti V, Pizzoferrato L. (1999). "Nutrients in edible mushrooms: An inter-species comparative study". *Food Chemistry*. 65(4): 477–82. DOI:10.1016/S0308-8146(98)00212-X
 41. Guardado-félix D, Lazo-vélez MA, Pérez-carrillo E, Esteban D, Serna-saldivar SO. (2020). "Effect of partial replacement of wheat flour with sprouted chickpea flours with or without selenium on physicochemical, sensory, antioxidant and protein quality of yeast-leavened breads". *LWT-Food Science and Technology*. 109517. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109517>.
 42. Adebayo EA, Oloke JK, Azeez MA, Omomowo IO, Bora TC. (2014). "Assessment of the genetic diversity among ten genotypes of *Pleurotus* (oyster mushroom) using nutrient and mineral compositions". *Scientia Horticulturae*. 166:59–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2013.12.010>.
 43. Koutrotsios G, Mountzouris KC, Chatzipavlidis I, Zervakis GI. (2014). "Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi-Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties". *Food Chemistry*. 161:127–35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.121>.
 44. Shbeeb DA, Farahat MF, Ismail HM. (2019). "Macronutrients analysis of fresh and canned *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* mushroom species sold in Alexandria markets, Egypt". *Progress in Nutrition*. 21(1): 203–9. DOI:10.23751/pn.v21i2-S.6453
 45. Lu X, Brennan MA, Serventi L, Liu J, Guan W, Brennan CS. (2018). "Addition of mushroom powder to pasta enhances the antioxidant content and modulates the predictive glycaemic response of pasta". *Food Chemistry*. 264:199–209. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.130>.
 46. Zhou S, Ma F, Zhang X, Zhang J. (2016). "Carbohydrate changes during growth and fruiting in *Pleurotus ostreatus*". *Fungal Biology*. 120(6): 852–61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2016.03.007>.
 47. Geng P, Harnly JM, Chen P. (2016). "Differentiation of bread made with whole grain and refined wheat (*T. aestivum*) flour using LC/MS-based chromatographic fingerprinting and chemometric approaches". *Journal of Food Composition and Analysis*. 47:92–100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2015.12.010>.
 48. J. H. A. Betini, M. Michelin, S. D. C. Peixoto-Nogueira, J. A. Jorge, H. F. Terenzi, and M. L. T. M. Polizeli, "Xylanases from *Aspergillus niger*, *Aspergillus niveus* and *Aspergillus ochraceus* produced under solid-state fermentation and their application in cellulose pulp bleaching," *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 32, no. 6, pp. 819–824, 2009. <https://doi.org/10.1007/s00449-009-0308-y>
 49. V.-C. M.A., G. Mata, and J. M. Savoie, "Waste-reducing cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp: changes in the production of some lignocellulolytic enzymes," *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 18, no. 3, pp. 201–207, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1014999616381>
 50. Struyf N, Verspreet J, Verstrepen KJ,

- Courtin CM. (2017). "Investigating the impact of α -amylase, α -glucosidase and glucoamylase action on yeast-mediated bread dough fermentation and bread sugar levels". *Journal of Cereals Science*. 75:35–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2017.03.013>.
51. Liu W, Brennan MA, Serventi L, Brennan CS. (2017). "Effect of cellulase, xylanase and α -amylase combinations on the rheological properties of Chinese steamed bread dough enriched in wheat bran". *Food Chemistry*. 234:93–102. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.160>.
 52. Bello M, Oluwamukomi M, Enujiugha V. (2017). "Nutrient Composition and Sensory Properties of Biscuit from Mushroom-Wheat Composite Flours". *Archives of Current Research International*. 9(3):1–11. DOI:10.9734/ACRI/2017/35686
 53. Rodrigues Barbosa J, dos Santos Freitas MM, da Silva Martins LH, de Carvalho RN. (2020). "Polysaccharides of mushroom *Pleurotus* spp.: New extraction techniques, biological activities and development of new technologies". *Carbohydrate Polymers*. 229:115550. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115550>.
 54. Lu X, Brennan MA, Serventi L, Liu J, Guan W, Brennan CS. (2018). "Addition of mushroom powder to pasta enhances the antioxidant content and modulates the predictive glycaemic response of pasta". *Food Chemistry*. 264:199–209. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.130>.
 55. Ng SH, Robert SD, Wan Ahmad WAN, Wan Ishak WR. (2017). "Incorporation of dietary fibre-rich oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) powder improves postprandial glycaemic response by interfering with starch granule structure and starch digestibility of biscuit". *Food Chemistry*. 227:358–68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.108>.