

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



**Evaluación del efecto de un extracto enzimático de amilasas
en las características nutricionales de formulaciones de pan
de trigo enriquecidas con *Pleurotus ostreatus*.**

Por:

STEPHANIE SEYDI SIGALA LAGUNA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Noviembre 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Evaluación del efecto de un extracto enzimático de amilasas en las características nutricionales de formulaciones de pan de trigo enriquecidas con *Pleurotus ostreatus*.

TESIS

Presentada por

STEPHANIE SEYDI SIGALA LAGUNA

y que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título profesional de

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

A P R O B A D A

Dr. Mario Alberto Cruz Hernández
Presidente

Dra. Ruth Elizabeth Belmares Cerda
Vocal

Dra. Sonia Noemí Ramírez Barrón
Vocal

MC. Jacqueline Renovato Núñez
Vocal

Dr. José Duñez Alanís
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre 2022

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Evaluación del efecto de un extracto enzimático de amilasas en
las características nutricionales de formulaciones de pan de trigo
enriquecidas con *Pleurotus ostreatus*.**

T E S I S

Presentada por

STEPHANIE SEYDI SIGALA LAGUNA

Y que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial
para obtener el título profesional de

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Fue dirigida por el siguiente comité:



Dr. Mario Alberto Cruz Hernández
Asesor principal



Dr. Ruth Elizabeth Belmares Cerda
Co-asesor



Dra. Sonia Noemí Ramírez Barrón
Co-asesor



MC. Jacqueline Renovato Núñez
Co-asesor

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre 2022

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme fortaleza e iluminación en mi vida.

A mi familia por haber creído en mí siempre, dándome ejemplo de superación y humildad, por haber fomentado en mí, el deseo de superación y triunfo en la vida.

A la UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO, por haberme formado profesionalmente, así mismo, a los docentes que me brindaron las bases adecuadas para desarrollarme laboral y socialmente.

Al Dr. MARIO ALBERTO CRUZ HERNÁNDEZ por haberme apoyado en el desarrollo del presente trabajo y por su amistad.

A ÉFREN BERNARDO GARCÍA MARTÍNEZ por apoyarme a superar cada dificultad, miedo y obstáculo que se me presentaron en el trayecto de mi formación como profesionista.

DEDICATORIAS

A mis padres FRANCISCA LAGUNA FLORES por su apoyo maternal e incondicional siempre, por ser el sostén y la guía de mi vida y a MANUEL SIGALA ALVARADO que, aunque no esté conmigo físicamente siempre ha sido mi ejemplo a seguir y la luz de mi camino.

A mis hermanos MARÍA ARACELI, MIGUEL ÁNGEL, VÍCTOR MANUEL Y AXEL ADONIS SIGALA LAGUNA, por ser un pilar importante en cada etapa de mi vida y por caminar siempre a mi lado.

Al fruto del amor que crece dentro de mí.

Tabla de contenido

Abstract.....	8
Resumen	9
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
2.1 Objetivo General	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3. JUSTIFICACIÓN.....	13
4. ANTECEDENTES.....	14
4.1 Alimentos nutritivos	16
4.2 Harinas	17
4.3 Panes	17
4.4 Sustratos del desierto	18
4.5 <i>Pleurotus ostreatus</i>	19
4.6 Enzimas	20
4.7 Amilasas	21
4.8 Efecto de las enzimas en panes	22
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
5.1 Desarrollo y obtención de la harina de <i>Pleurotus ostreatus</i>.	23
5.2 Obtención del extracto enzimático	23
5.3 Determinación de la actividad enzimática de la amilasa	24
5.4 Desarrollo de formulaciones de pan enriquecidos con <i>Pleurotus ostreatus</i>	24
5.5 Evaluación del efecto del extracto enzimático sobre el pan de trigo enriquecido con Po.	25
5.6 Análisis de la composición química del Po y de las formulaciones de pan.	26

5.7	Análisis estadístico	26
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
6.1	Desarrollo de un pan a base de harina de Po.	27
6.2	Evaluación del efecto del extracto enzimático de las formulaciones de pan desarrolladas.	29
6.3	Evaluación de las características nutricionales de las formulaciones de pan obtenidas.....	31
7	CONCLUSIONES.....	35
8	REFERENCIAS	36

Abstract

Baking technology has evolved with the aim of improving the quality of the products. Different ingredients have been added to the formulations of different products, thus enzymes, such as amylases, have been an option to improve the rheological qualities of the dough resulting in a more attractive product for the consumer. The edible mushroom *Pleurotus ostreatus* (*Po*) is a good source of proteins of high biological value, it is 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. In the present work, *Po* powder and its enzymatic extract were obtained. The nutritional characteristics of the *Po* powder obtained were evaluated, and bread formulations were developed where 5, 10, 15 and 20% of wheat flour were replaced by *Po* and a formulation without *Po* as a control, and the 5% of enzyme extract obtained from the fermentation of *Po* was added too. The proximal analysis of *Po* powder and bread formulations was performed following the standardized methods of the AOAC (2000). The results showed that *Po* is a source of important nutrients such as 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 it is low in fat (1.9 g / 100g). The addition of *Po* in the formulations resulted in significant increases ($p > 0.05$) of protein (11.96 to 16.36 g / 100) and fiber (0.00 to 2.26 g / 100g). The addition of enzyme extract favored the increase in volume of the product and a better crumb quality. These results suggest that *Po* and its enzyme extract can be used as an alternative ingredient to enrich the nutritional value of wheat bread.

Keywords: edible mushroom, functional foods, *Pleurotus ostreatus*, wheat bread

Resumen

La tecnología de panificación ha evolucionado con el objetivo de mejorar la calidad de los productos. Se han agregado diferentes ingredientes a las formulaciones, por lo que las enzimas, como las amilasas, han sido una opción para mejorar las cualidades reológicas de la masa, dando como resultado un producto más atractivo para el consumidor. El hongo comestible *Pleurotus ostreatus* (Po) es una buena fuente de proteínas de alto valor biológico, es 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. En el presente trabajo, se obtuvo harina de Po y su extracto enzimático, se evaluaron las características nutricionales de la harina de Po obtenida, y se desarrollaron formulaciones de pan donde 5, 10, 15 y 20% de la harina de trigo fueron reemplazadas por Po y una formulación sin Po como control, además de la adición del 5% de extracto enzimático obtenido de la fermentación de Po. El análisis proximal de las formulaciones de harina de Po y de los panes se realizó siguiendo los métodos estandarizados de la AOAC (2000). Los resultados mostraron que la harina de Po es una fuente de nutrientes importantes como proteínas (22.3 g / 100 g), fibra (5.5 g / 100g) y minerales (9.9 g / 100g), además de carbohidratos (60.3 g / 100g) y es bajo en grasa (1.9 g / 100g). La adición de Po en las formulaciones resultó en aumentos significativos ($p > 0.05$) de proteína (11.96 a 16.36 g / 100) y fibra (0.00 a 2.26 g / 100g). La adición de extracto enzimático favoreció el aumento de volumen del producto y una mejor calidad de miga. 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 claves: alimentos funcionales, hongo comestible, pan de trigo, *Pleurotus ostreatus*

1. INTRODUCCIÓN

Las enzimas son moléculas que se encuentra conformadas principalmente por proteína que producen las células vivas, siendo su función acelerar las reacciones químicas. En su estructura globular, se entrelazan y se pliegan mediante una o más cadenas polipeptídicas, que así aportan un pequeño grupo de aminoácidos para formar el sitio activo, o lugar donde se reconoce el sustrato, y donde se realiza la reacción. Una enzima y un sustrato no llegan a interactuar si sus formas no encajan con exactitud.

Las enzimas tienen una gran diversidad funcional, son unas de las biomoléculas más empleadas en los laboratorios de investigación científica. Estas proteínas catalizadoras juegan un papel fundamental en ámbitos como la fabricación de detergentes la síntesis de nuevos fármacos o diversas aplicaciones químicas, forenses o ambientales.

Existen más de 75.000 enzimas diferentes y cada una de ellas es única, pues tiene afinidad por un sustrato concreto y, consecuentemente, realiza una función específica. Un ejemplo de enzima es la amilasa se le denomina así porque tiene la capacidad de dividir el almidón en sus diversos componentes.

Un alimento rico en almidón es el pan, alimento básico que forma parte de la dieta tradicional en Europa, Medio Oriente, India, América y Oceanía. Se suele preparar mediante el horneado de una masa, elaborada fundamentalmente con harina de cereal, agua y sal. La mezcla, en la mayoría de las ocasiones, suele contener levaduras para que se fermente la masa y sea más esponjosa y tierna.

Existen panes funcionales que son alimentos que contienen componentes biológicamente activos, como minerales, vitaminas, fibra, antioxidantes, ácidos grasos, que ayudan a mejorar algunas de las funciones del organismo y/o a prevenir enfermedades.

El *Pleurotus ostreatus* (o Seta de ostra) es un hongo medicinal de interés científico por su composición de polisacáridos, pero también por su importante contenido en otras sustancias bioactivas como fibra alimentaria, enzimas, compuestos fenólicos, tiene la capacidad de producir complejos enzimáticos que degradan la celulosa, lignocelulosa y almidón, estas enzimas son aplicadas en numerosos procesos dentro de la industria alimenticia, textil, del papel y en la elaboración de biocombustibles.

Por lo tanto, en esta investigación se evaluó el efecto de un extracto enzimático de amilasas provenientes de *Pleurotus ostreatus* en las características nutricionales de formulaciones de pan de trigo enriquecidas con *Pleurotus ostreatus*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

El objetivo de este estudio fue investigar la influencia del extracto enzimático con actividad amilasa del hongo *Pleurotus ostreatus* (Po) producido en fermentación sólida, sobre las características nutricionales de una formulación de un pan de trigo enriquecido con harina de Po.

2.2 Objetivos Específicos

- Evaluar los sustratos de la zona semiárida de Coahuila para la producción de *Pleurotus ostreatus*.
- Determinar cinéticamente la actividad enzimática producida por *P. ostreatus* en condiciones de laboratorio.
- Seleccionar el extracto enzimático con actividad amilasa producido bajo las condiciones determinadas anteriormente.
- Formular 5 diferentes concentraciones de harina de Po para la elaboración de los panes.
- Evaluar la influencia del uso del extracto enzimático de Po en las características nutricionales de las formulaciones de panes.

3. JUSTIFICACIÓN

El pan es el producto alimentario obtenido de la mezcla amasada, fermentada y cocida al horno, es el principal alimento derivado del trigo y su función ha sido satisfacer el hambre. Hoy en día, el mercado del pan es diverso y altamente competitivo, el consumidor elige el más apetecible, fresco o que presenta características nutricionales elevadas, esto se dirige hacia la importancia de los hábitos de vida diarios a llevar un estilo de vida saludable, otro factor clave es la textura en la percepción de la frescura, donde el análisis de las características de la masa puede ser suficiente para predecir la textura del producto final. La formulación de la masa adicionada con extracto enzimático y enriquecida con *Pleurotus ostreatus* es una alternativa que cubre necesidades tanto para saciar el hambre como para nutrir de tal manera que las proteínas se vean aumentadas en el producto final.

4. ANTECEDENTES

Desde que el hombre descubrió el trigo y aprendió a mezclar harina de grano de trigo con agua y hornearla sobre piedras calientes (Periodo Paleolítico, 21, 000 aC) (Zhou W y col.2014), el pan se ha convertido en un alimento muy popular en todo el mundo, y sus ingredientes han ido evolucionando y cambiando con el avance del tiempo. En este sentido, la ciencia y tecnología en 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 mucho al consumidor (Cardoso RVC y col. 2019). 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, nutricionales y sensoriales del pan. 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 (Li D y col. 2019). Amilasas como α -amilasas, amilasas maltogénicas y las glucoamilasas, o una combinación de ellas 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 (Calle J y col. 2019). Oliveira y col. (2014), 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 pan. También las enzimas se han utilizado para mejorar, no solo las cualidades físicas del pan, si no, también las cualidades nutricionales y digestivas, Li y col. (2019) investigaron los efectos de GtfB (glucosiltransferasa B) sobre la reología de la masa y el rendimiento de la harina de trigo para hornear, y desarrollaron un pan con baja retrogradación y digestibilidad lenta.

Es importante que además de mejorar las cualidades físicas del pan, también se mejore su calidad nutricional y funcional. El pan es consumido a nivel mundial, pero se debe tomar en consideración que tiene alto contenido de almidón de rápida digestión y debido a esto, su consumo provoca un rápido incremento en la glucosa sanguínea (SRV A y col. 2019), y como consecuencia puede promover el desarrollo de desórdenes metabólicos, como diabetes y enfermedades cardiovasculares (Roman L, 2019).

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 con propiedades funcionales que prevengan o contrarresten la generación o avance de enfermedades crónicas. (Proserpio C, 2019).

Se han llevado a cabo varias investigaciones sobre el enriquecimiento del pan, reemplazando la harina refinada con otras alternativas para diferentes fines, como por ejemplo cáscara de fruta para aumentar su contenido de fibra (Chen Y y col. 2019), legumbres como fuente de proteína vegetal (Millar KA y col. 2019), y mucílago de nopal que proporciona compuestos funcionales prebióticos al pan (Liguori G y col. 2019).

Ya que los hongos comestibles han sido consumidos desde épocas antiguas y valorados actualmente por sus características organolépticas y su gran valor nutricional (Ma G y col. 2018), puede convertirse en una opción como fuente enriquecedora de alimentos.

Se ha informado que la incorporación de hongos comestibles a los alimentos procesados mejora las características sensoriales, nutricionales y nutracéuticas o funcionales de los alimentos (Kim S y col. 2016).

Particularmente la especie *Pleurotus ostreatus* (Po), es uno de los más cultivados a nivel mundial (Kalač P. 2016). Este hongo se desarrolla en sustratos lignocelulósicos, como lo son los subproductos de la industria alimentaria (Bellettini MB y col. 2019). Además, el Po es

una fuente importante de proteínas de alta calidad que cumplen con los requerimientos de aminoácidos esenciales para un adulto, fibra, vitaminas, minerales y ácidos grasos insaturados (Carrasco G y col. 2017), así mismo es fuente de polisacáridos como los β -glucanos (pleuran) con diversas actividades biológicas y funcionales, como propiedades inmunomoduladoras (Vetvicka V y col. 2019), prebióticas (estimula el crecimiento selectivo en el colón de bacterias benéficas) (Synytsya A y col. 2009) y con actividad hipoglucemiante (Nweze CC, Rasaan NO. 2020).

4.1 Alimentos nutritivos

La alimentación es una cadena de hechos que comienzan con el cultivo, selección y preparación del alimento hasta las formas de presentación y el consumo de un grupo de ellos. Existen enfermedades que pueden prevenirse o mejorarse con una alimentación saludable (Izquierdo Amada y col. 2004).

Alimento Nutritivo es aquel que aporta al organismo los nutrientes, las vitaminas, las calorías y demás componentes necesarios para tener un rendimiento óptimo a lo largo del día. Algunos llaman a estos alimentos “superalimentos”, ya que están llenos de nutrientes que son beneficios para la salud.



Fig. 1 Ejemplo de alimentos nutritivos.

4.2 Harinas

Harina es el polvo más o menos fino que se obtiene de la molienda de un cereal o leguminosa seca. Se puede obtener harina de distintos cereales. Aunque la más habitual es la harina de trigo elemento habitual en la elaboración del pan, también se hace harina de centeno, de cebada, de avena, de maíz o de arroz y existen también otros tipos de harinas obtenidas de otros alimentos como leguminosas (garbanzos, soja), castaña, mandioca, etc.

La harina de trigo es uno de los alimentos más antiguos que el ser humano ha consumido y está presente en muchísimos ámbitos de nuestra vida. Es el producto que el ser humano ha empezado a cultivar hace 10.000 años en Oriente Medio. La harina forma parte de la base del pan ya elaborado desde las antiguas civilizaciones hasta nuestros días (Dolores María y col. 2018).

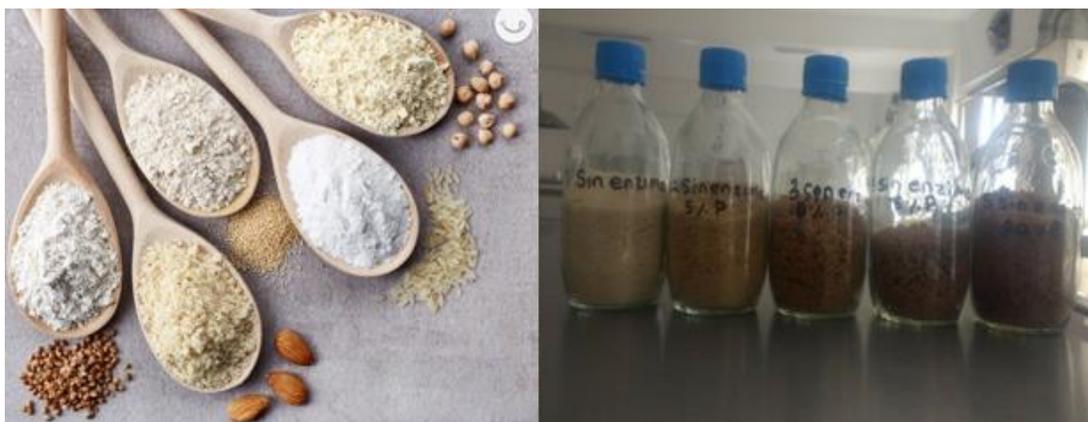


Fig. 1 Harinas derivadas de diferentes cereales y harinas a base de trigo adicionadas con *Pleurotus ostreatus*.

4.3 Panes

El pan, en latín *pannus* que significa masa blanca, es un alimento tradicional que se consume en todo el mundo y se prepara principalmente de harina y agua, a veces lleva levadura y sal. Uno de los cereales más utilizados para la elaboración de la masa para pan es el trigo, pero también se pueden elaborar de cebada, maíz, centeno y arroz y así mismo se pueden agregar a la masa manteca de cerdo, mantequilla, aceites vegetales, huevos, azúcar, especias, frutos

secos y semillas, todo lo anterior con el propósito de mejorar su sabor (Calvo María y col. 2021).



Fig. 3 Panes derivados de diferentes cereales.

4.4 Sustratos del desierto

La vegetación que crece en climas áridos es fuente de distintos recursos para las comunidades que habitan esas zonas, por ejemplo: plantas medicinales y comestibles, frutos, semillas, resinas, materias primas para diversas industrias (maderera, del carbón, artesanal, licorera, etcétera). También aportan valiosos servicios ambientales, como protección del suelo, refugio y alimento para la fauna silvestre (Palacios Abraham y col. 2019).

En los ecosistemas áridos y semiáridos, las plantas soportan condiciones climáticas y ambientales muy estresantes como largos periodos de sequía, temperaturas extremas, suelos de baja fertilidad y altos grados de erosión. Se considera que esta resistencia puede estar relacionada con la presencia de hongos micorrízicos de tipo vesículo arbusculares. Las micorrizas son una simbiosis mutualista de hifas de hongos y raíces de plantas vasculares, en la que se presenta un beneficio mutuo, debido al intercambio bidireccional. Esta asociación favorece el crecimiento y desarrollo de las plantas que crecen en condiciones limitantes, principalmente en el desarrollo del sistema radical por estimulación, la formación de nuevas raíces y, por lo tanto, plantas más tolerantes al estrés ambiental y eficientes en el

aprovechamiento de nutrientes y agua del suelo. Esto es debido a la extensión del hongo fuera de la raíz y entre las raíces secundarias, incrementando el volumen de suelo explorado, permitiendo capturar nutrientes más allá de la zona de alcance de la raíz y transportarlos a la planta (Quiñónez Miroslava y col. 2018).



Fig. 4 Sustratos del desierto, maguey, olote y yuca.

4.5 *Pleurotus ostreatus*

Pleurotus ostreatus es el segundo hongo comestible más cultivado en todo el mundo después de *Agaricus bisporus*. Tiene valores económicos y ecológicos y propiedades medicinales. El cultivo de hongos se ha movido hacia la diversificación con la producción de otros hongos (Sánchez Carmen, 2009).

Este hongo se desarrolla en la naturaleza preferiblemente sobre residuos de material leñoso o ricos en fibra como troncos, ramas y bagazos.

Para su cultivo se pueden utilizar materiales que contengan una composición similar a los que utiliza para crecer en su ambiente natural.



Fig. 5 Hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Dentro de estos materiales se encuentran los residuos agroindustriales, los cuales en la mayoría de los casos no son reutilizados sino simplemente son quemados o arrojados a los basureros, quebradas y ríos, sin tratamiento previo, y contribuyen de esta manera al daño del ecosistema (López Claudia y col. 2008).

El cultivo de los hongos del género *Pleurotus* sp. es de importancia debido a que producen proteínas de alta calidad. El uso de *Pleurotus ostreatus* tiene la ventaja de ser un complemento alimenticio por su valor nutricional, ya que contiene entre 57% y 61% de carbohidratos, 26% de proteína, 11,9% de fibra y 0,9% a 1,8% de grasas con base a su peso seco, además posee vitaminas como niacina, tiamina (B1), vitamina B12, vitamina C o ácido ascórbico y se le han detectado minerales como potasio, fósforo y calcio (Rivera Ruby y col. 2013).

4.6 Enzimas

Las enzimas son proteínas, polímeros formados por aminoácidos covalentemente unidos entre sí, que catalizan en los organismos una gran variedad de reacciones químicas. La actividad catalítica de las enzimas depende de que mantengan su plegamiento, es decir, su estructura tridimensional. En esta estructura tridimensional se forman cavidades, llamadas “sitio activo”, las cuales muestran afinidad por las moléculas específicas (sustratos) que se convertirán en productos. La combinación de grupos funcionales químicos presentes en estas cavidades genera un conjunto de interacciones covalentes y no covalentes entre la proteína y el sustrato, que hacen que la conversión de éste en un producto se vea favorecida. Como cualquier catalizador, al finalizar la transformación del sustrato y liberarse el producto del sitio activo, la enzima regresa a su estado original y puede involucrarse en un nuevo ciclo de catálisis. Las enzimas pueden utilizarse también fuera de las células: desde hace milenios el

ser humano las ha aprovechado. Sus aplicaciones más antiguas tienen que ver con la alimentación, por ejemplo, la producción de pan y queso (Ramírez Joaquín, Ayala Marcela, 2014).

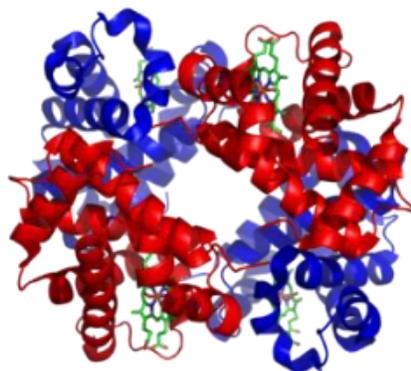


Fig. 6 Cadena de una enzima.

4.7 Amilasas

La enzima amilasa ha recibido gran cantidad de atención a nivel mundial. Los microorganismos que pueden producir tienen aplicación comercial en industrias almidoneras, de alimento, textiles, detergentes, productos farmacéuticos, elaboración de cerveza y finos productos químicos (Annamalai y col. 2011; Fooladi y Sajjadian, 2010). Las industrias almidoneras requieren enzimas con resistencia a alta temperatura, para la licuefacción del almidón (Asgher, 2006, Ponce y Pérez, 2002). Las amilasas son enzimas intra o extracelulares que promueven la hidrólisis de enlaces glucosídicos presentes en el almidón, glucógeno y otros polisacáridos (Van da Maarel y col. 2002.) Las amilasas con resistencia a las temperaturas elevadas son de importancia industrial y biotecnológica (Ferrer Cristina y col. 2015).

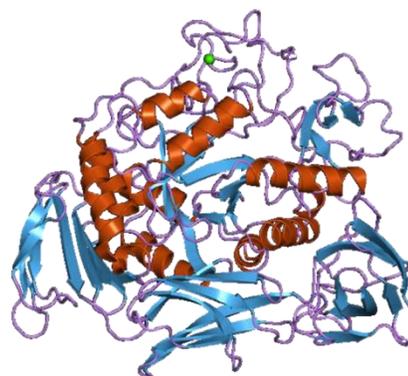


Fig. 7 Cadena de enzima alfa amilasa.

4.8 Efecto de las enzimas en panes

El grupo de enzimas utilizadas en panificación ha crecido significativamente, ya que mejoran la calidad de la pasta, obteniendo así una mejor flexibilidad, estabilidad, volumen y estructura de la miga. Específicamente el grupo de las xilanasas (enzimas degradadoras de xilanos) mejoran el volumen, fuerza y calidad de la red de gluten. Este grupo, ha sido de gran interés debido a su potencial biotecnológico (Mendoza M, Gutiérrez Alma. 2016).

Entre las enzimas más utilizadas se encuentran las proteasas, xilanasas y celulasas. La enzima xilanasas hidroliza específicamente algunas fracciones de WUAX por lo tanto son de mayor interés en la elaboración de pan. Los azúcares simples que se obtienen de la acción enzimática son xilooligosacáridos y son considerados prebióticos lo que le confieren mayor funcionalidad al pan. Debido a que esos oligómeros no son hidrolizados y adsorbidos en el tracto gastrointestinal estimulan selectivamente el crecimiento de bacterias benéficas en el colon (Moreno Oscar y col. 2018).



Fig. 8 Panes funcionales.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Desarrollo y obtención de la harina de *Pleurotus ostreatus*.

El cultivo del hongo se llevó a cabo siguiendo las metodologías de (Bonatti-Chves y col. 2004) con modificaciones. El desarrollo del hongo se llevó a cabo en paja de trigo y sorgo el cual se esterilizó para evitar contaminación, y se controló las condiciones de humedad relativa (entre 80 y 90%). Posteriormente, se sembró el sustrato con semilla de sorgo (15% p/p) inoculada con micelio del hongo Po (conservado a -4°), el cual fue proporcionado por el departamento de fitomejoramiento de la UAAAN, este procedimiento se llevó a cabo en bolsas de plástico, las cuales se identificaron y se mantuvieron en condiciones de oscuridad y de temperatura controlada (28°C). Los hongos maduros (cuerpo fructífero) de Po se cosecharon manualmente después un periodo de 40 días. Los hongos se cortaron y se secaron en horno eléctrico a 60°C durante 48 horas, a continuación, se molieron (Pulvex mini 100) y se tamizaron hasta un tamaño de partícula de 350 µm en un RO-TAP RX-29.

5.2 Obtención del extracto enzimático

Para la obtención del extracto enzimático del hongo Po se realizaron cinéticas de producción de enzimas utilizando como sustratos diferentes desechos agroindustriales de plantas del semidesierto (yuca, maguey y olote). Se seleccionó la muestra que presentó mayor actividad amilasa 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 en papel filtro con ayuda de una bomba de vacío y el sobrenadante recolectado se congeló hasta su uso (Cruz y col. 2019).

5.3 Determinación de la actividad enzimática de la amilasa

La actividad enzimática de la amilasa del extracto crudo obtenido previamente se determinó cuantificando los azúcares reductores liberados utilizando el reactivo ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) como lo describe Miller (1959). A 90 µl de almidón con agua destilada (10% v/v) se agregaron 10 µl del extracto enzimático crudo y se incubó a 50°C durante 60 min, posteriormente se adicionaron 100 µl de DNS para detener la reacción. Esta solución resultante se llevó a ebullición (100°C) durante 10 min y luego se colocó en hielo durante 5 min. Se determinó 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 µmol de azúcar reductor en equivalentes de maltosa por minuto.

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

Se desarrollaron formulaciones de pan 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. Estos panes fueron realizados en un ensayo preliminar para evaluar el comportamiento del hongo comestible Po en el desarrollo de un producto de panificación. La formulación base del pan de trigo (P0, como control) se presentan en la Tabla 1. La harina de Po sustituyó parcialmente la harina de trigo en 5, 10, 15 y 20% y se nombraron a estas formulaciones obtenidas como P5, P10, P15 y P20 respectivamente.

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

Ingredientes	(p/v)
Harina de trigo	60 g.
Levadura	1.5 g.
Leche entera	28.4 ml.
Aguamiel	3.7 ml.
Aceite de canola	4.5 ml.
Sal	1.1 g.

Se pesaron y mezclaron todos los ingredientes usando una amasadora eléctrica manual (Black + Decker MX 900) de 15 a 20 min, hasta la incorporación completa de los ingredientes. La masa obtenida, se cubrió y se mantuvo 1 hora a temperatura ambiente (25 °C) para permitir su fermentación. Pasado este tiempo, la masa fue pesada y dividida en partes iguales para ser moldeada y se dispuso en un recipiente para hornear, se dejó otros 30 min a temperatura ambiente (25°C) para una segunda fermentación. Los panes desarrollados se hornearon por 22 minutos en un horno de convección a 180°C (San Son, HCX PLUS 3). Después se enfriaron a temperatura ambiente (25°C) antes de ser guardados en bolsas plásticas para su posterior análisis. Todos los panes se prepararon por triplicado.

5.5 Evaluación del efecto del extracto enzimático sobre el 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 11 ml del extracto enzimático continuando con el amasado hasta la homogenización de los ingredientes. Una vez obtenida la masa, se cubrió y se mantuvo 30 min a temperatura ambiente (25 °C) para permitir que la enzima amilasa actuara sobre la

masa. Transcurrido este tiempo se agregó la levadura, se realiza un amasado de 5-10 min para la incorporación en la masa. Se cubre la masa y se deja 1 hora a temperatura ambiente para permitir el proceso de fermentación. Pasado este tiempo, la masa fue pesada y dividida en partes iguales para ser moldeada y se continúa con la metodología de la sección 5.2. Las formulaciones obtenidas en esta etapa se nombraron P0e, P5e, P10e, P15e y P20e, en las cuales los números representan la cantidad en % de la harina de *pleurotus ostreatus* que se sustituyó por harina de trigo.

5.6 Análisis de la composición química del Po y de las formulaciones de pan.

Se realizó un análisis proximal de la composición química de la harina de Po y de los panes para determinar su contenido nutricional. Humedad, grasa, proteína, carbohidratos totales, fibra cruda y contenido de cenizas del PO y de todas las formulaciones fueron determinados de acuerdo a los métodos estandarizados de la A.O.A.C (Miller GL. 1959). 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 (A.O.A.C. 2000) y el factor 6.25 para las formulaciones de panes .

5.7 Análisis estadístico

Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado y los resultados se informaron 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).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Desarrollo de un pan a base de harina de Po.

Se realizaron pruebas de mezclas para la preparación de un pan que pudiera mantener las características organolépticas. Utilizando harina de Po, se encontró una mezcla de ingredientes adecuada (Tabla 1) ya que el uso de una harina de este tipo de compuestos en concentraciones elevadas presenta un sabor desagradable. Después de las pruebas preliminares se decidió trabajar con 4 diferentes concentraciones de harina (P0, P5, P10, P15 y P20), donde se utilizan de un 5 al 20 %.

Se determinó la composición química (base seca) y la energía de la harina de Po se muestran en la Tabla 2.

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

Componentes químicos	Valores obtenidos (g/100g)	Rango con valores de referencia (g/100g)	Referencia	Valores de referencia de Harina de trigo
Humedad (%)	5.6 ± 0.2	-----		13.75 - 14.1
Ceniza	9.9 ± 0.2	4.1-15.9		0.45 - 0.63
Grasa	1.9 ± 0.1	0.5 - 7.6	(20,28-30)	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

Alam y col. (2008) determinaron las características nutricionales de hongos comestibles como, *P. ostreatus*, *P. sajor- caju*, *P. florida* y *Calocybe indica*; con resultados de contenido

mineral (cenizas) en el Po (9.3 g/100g) similares a los obtenidos en esta investigación (9.9 g/100g). El contenido de minerales de la harina de Po es más alto a la de harina de trigo ya que muchos de los minerales se pierden durante el proceso de refinamiento de la harina (Frakolaki G y col. 2018). El contenido de grasa se acercó a los datos reportados por S. Wang y col. (2015) en Po cultivado en residuos de cáscaras de algodón adicionado con un 12 y 50% de sustrato reutilizado (1.91 y 1.92 g/100g, respectivamente) de la industria del cultivo del hongo *Hypsizygus marmoreus*, para evaluar su utilización en el cultivo del hongo Po. Las grasas que contiene la mayoría de los hongos está compuesta por ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (linolénico y linoleico), que también se conocen como ácidos grasos esenciales y son necesarios para prevenir enfermedades del corazón (Wang S y col. 2015).

Carrasco-González y col (2017), reportaron en su trabajo de revisión que el hongo Po presenta un contenido de proteínas promedio de un 23%, cifra similar a la que se obtuvo en el presente estudio (22.3 g/100 g) y además señalan al hongo Po como uno de los hongos con mayor cantidad de proteína en comparación con otras especies del género *Pleurotus* spp. Estas proteínas son de alto valor biológico ya que aporta todos los aminoácidos esenciales (Kayode RMO y col. 2015), a diferencia de la harina de trigo, que sus proteínas son deficientes en lisina y en treonina (Manzi P y col. 1999).

El mayor componente de la harina de hongo fueron los carbohidratos (60.3 g/100g). Estos resultados fueron similares a los reportados por Shbeeb y col. (2019) quien evaluó las diferencias del contenido de macronutrientes de las especies de hongos *Agaricus bisporus* y *Pleurotus ostreatus* frescos y enlatados. Los resultados mostraron que los carbohidratos fueron más altos (61.1 g/100 g) que en el *Agaricus bisporus* (47.2 g/100g), además de que la presentación en lata del Po también mostró mayor valor de carbohidratos (66.0 g/100 g) que

en el hongo fresco. A diferencia de la harina de trigo que contiene en su mayoría hasta en un 75 % de almidón (Shbeeb DA y col. 2019), los polisacáridos del Po son β -glucanos y quitina (Lu X y col. 2018).

Otro componente importante en el Po es la fibra. En este estudio se cuantificó la fibra cruda (5.5 g/100 g), valor que está por debajo de lo reportado por otros autores (Bonatti Chávez y col. 2004).

Al igual que en los demás componentes nutricionales, el sustrato en el que se desarrolla el hongo es un factor que tiene impacto sobre el contenido de fibra. Como lo demuestra Koutrotsios y col. (Zhou S y col. 2016), en todos los valores de compuestos químicos realizados.

En Po cultivado en una amplia gama de sustratos, demostró que el sustrato en que crece el hongo tiene gran influencia sobre su contenido nutrimental y químico. la harina de trigo utilizada para su elaboración es harina refinada y en este proceso se elimina el salvado y el germen, dos partes de grano que contienen la mayor parte de fibra dietética y otros componentes bioactivos (Koutrotsios G y col. 2014).

6.2 Evaluación del efecto del extracto enzimático de las formulaciones de pan desarrolladas.

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 actividades enzimáticas y sus reacciones acopladas (Geng P y col. 2016). 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 CO₂. La formación de

gas durante la fermentación final de la masa y la primera parte de la fase de cocción es necesaria para obtener un producto bien desarrollado (Liu W y col. 2017), por lo que se pretendió identificar los cambios que este efecto realizan en las formulaciones de un pan innovador. La enzima se dejó actuar por 30 min a temperatura ambiente en la mezcla amasada.



P5e

P5

Fig. 9 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).

Después del proceso enzimático se adiciono la levadura para que iniciara el proceso de fermentación lo que permitió que el microorganismo actuara de una mejor manera al encontrar los azucares más disponibles en las mezclas desarrolladas. (Shim JH y col. 2007). En la figura 1 se puede observar diferencias de volumen entre el pan P5e de harina de Po con enzima y sin enzima. La adición de enzima a la masa provocó un aumento de volumen en el pan. También al aumentar los azucares disponibles para la fermentación, aumenta el tiempo de fermentación lo que podría aumentar el volumen de pan (Shim JH y col. 2007).

Las formulaciones con tratamiento enzimático presentan características diferentes que pueden ser favorables en la elaboración del pan dependiendo también de la cantidad de harina de *Pleurotus* utilizada. Esto se puede observar en la figura 2 ya que conforme la concentración de harina de Po va aumentando, se observa una disminución en el rendimiento de la masa para incrementar volumen. La adición de polvo o harina de hongos comestibles

a masa de pan puede disminuir el volumen específico del pan, ya que provoca una disminución en la red de gluten y en la retención de CO₂ (Zhang Y y col. 2019). La adición de enzima podría cambiar la viscoelasticidad de la masa durante la gelatinización del almidón, aumentando la retención de gas durante la fermentación (Shim JH y col. 2007).

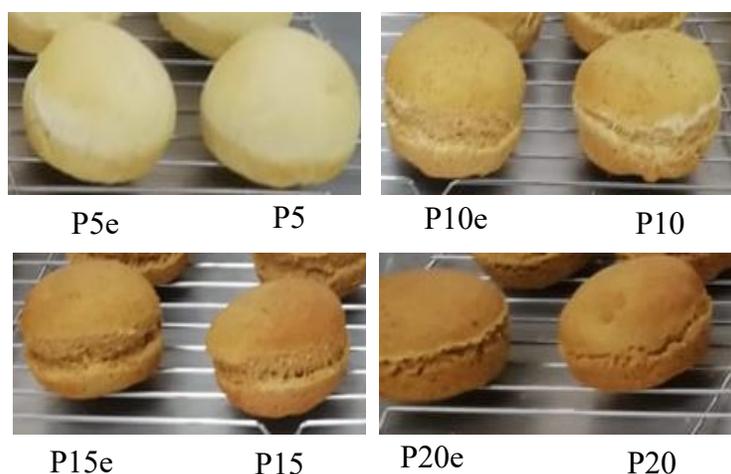


Fig. 10 Formulaciones de pan con diferentes concentraciones de harina de Po (5, 10, 15, 20%) con o sin extracto enzimático.

6.3 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. Los resultados en la composición nutricional de las formulaciones de pan enriquecidos con Po y con extracto enzimático se muestran en la Tabla 3.

Las formulaciones de pan presentan un incremento en su contenido proteico independientemente de la concentración de hongo Po adicionado, el cual en la formulación con máxima concentración de Po utilizado (P20e con el 20% de harina de Po) se observó la mayor concentración de proteína (figura 11).

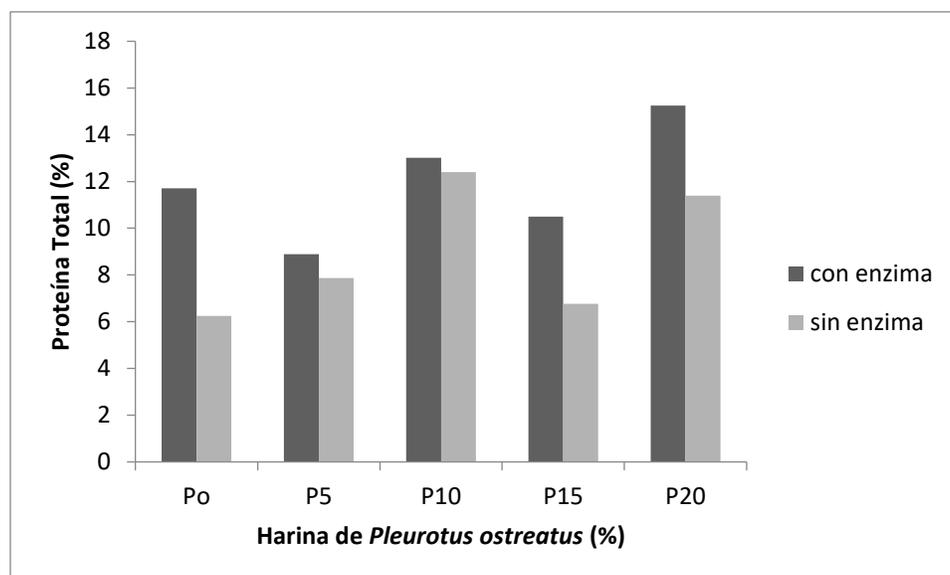


Fig. 11 Proteína cruda total en formulaciones de pan con y sin extracto enzimático.

El aumento en el contenido de proteína también fue reportado Bello y col. (2017), en donde se sustituyó harina de trigo con el 5 al 30% de harina de *Pleurotus sajor-caju* para la elaboración de galletas enriquecidas donde se registró que la galleta con más concentración de hongo presentó el máximo contenido proteico (15.55%) a comparación de la galleta sin *Pleurotus* (13.04%). El incremento de proteína se debe a que el Po es una fuente de proteínas, como anteriormente fue mencionado (22.3%) además de la adición del extracto enzimático en la formulación.

En cuanto al contenido de cenizas (2.66 a 5.53), no hubo diferencias significativas. La máxima concentración lo obtuvo la formulación P10. El incremento en el contenido de cenizas en el pan se puede atribuir a que el hongo Po es fuente de minerales (Rasalanavho M y col. 2020). La composición grasa del pan (0.40 a 0.04), no presentó diferencias significativas.

Las formulaciones de pan con extracto enzimático presentaron un contenido de carbohidratos de 16.94 a 22.24. 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 (Shim JH y col. 2007). La harina de trigo presenta más almidón que puede transformar la enzima que el Po, que tiene polisacáridos (β -glucanos) que no son susceptibles a la hidrólisis enzimática, es por esta causa que los carbohidratos fueron mayores en la formulación con mayor cantidad de Po.

Los resultados en la composición nutricional de las formulaciones de pan enriquecidos con Po y con extracto enzimático se muestran en la Tabla 3.



Fig. 12 Panes elaborados a base de harina de trigo y panes adicionados con *Pleurotus ostreatus*.

Tabla 3. Composición nutricional de las formulaciones de pan enriquecidos con Po y con extracto enzimático.

Muestra	Ceniza (g/100g)	Grasa (g/100g)	Proteína (g/100g)	Carbohidratos* (g/100g)	Fibra cruda (g/100g)
P0e	2.66 ± 0.04 ^a	0.40 ± 0.10 ^b	11.06 ± 0.14 ^b	16.94 ± 0.31 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
P5e	3.07 ± 0.5 ^a	0.26 ± 0.04 ^b	7.84 ± 0.03 ^a	18.28 ± 1.33 ^a	0.32 ± 0.13 ^a

P10e	5.53 ± 0.20 ^b	0.03 ± 0.02 ^a	11.56 ± 0.55 ^b	20.21 ± 0.97 ^a	0.34 ± 0.03 ^a
P15e	2.32 ± 0.69 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	7.95 ± 0.60 ^a	19.40 ± 0.58 ^a	1.66 ± 0.19 ^b
P20e	2.71 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.02 ^a	16.36 ± 1.33 ^c	22.24 ± 1.48 ^a	2.26 ± 0.20 ^b

* Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0.05, ANOVA)

La fibra cruda incrementó su concentración (0.00 a 0.26 g/100) 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. Esta fibra dietética soluble que está presente en las paredes celulares de los hongos ha demostrado tener beneficios para la salud, como efectos hipoglucemiantes (Bello M y col. 2017).

Esta investigación mostró que ocurren cambios significativos en el contenido nutricional del pan de trigo cuando es enriquecido con harina de Po y adicionado con extracto enzimático obtenido del Po., incrementando la concentración de importantes nutrientes como proteínas y fibra, siendo las formulaciones P15 y P20 las de mejor valor nutricional, las cuales son las que presentan mayor contenido de hongo Po. Estos resultados demuestran que la harina del hongo comestible Po puede ser una fuente de nutrientes para enriquecer a los alimentos y que su extracto enzimático puede ser utilizado en panificación.

7 CONCLUSIONES

El uso de la enzima amilasa en la formulación de panes con harina de *Pleurotus ostreatus* afecta las características nutrimentales del pan. La cantidad de proteína total en un pan utilizando harina Po aumenta con el uso de enzimas amilasas, así como la concentración de cenizas. El efecto de la amilasa en el amasado por 30 min favorece las propiedades organolépticas del pan.

Se evaluaron diferentes sustratos de la zona semiárida de Coahuila para la producción de *Pleurotus ostreatus* y se encontró que la composición química está fuertemente relacionada con la producción enzimática.

Se determinó la acción de la enzima amilasa, catalizando la hidrólisis de enlaces α -1, 4-glucosídicos en moléculas de almidón (amilosa y amilopectina), además se logró un efecto de un pan con propiedades diferentes al pan sin actividades enzimáticas.

La adición de enzima a la masa provocó un aumento de volumen en el pan. Las formulaciones con tratamiento enzimático presentan también otras características diferentes que pueden ser favorables en la elaboración del pan por ejemplo el aumento de las proteínas esto dependiendo también de la cantidad de harina de *Pleurotus* utilizada.

8 REFERENCIAS

A.O.A.C. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytica Chemist. EUA; 2000.

Alam N, Amin R, Khan A, Ara I, Shim MJ, Lee MW, et al. Nutritional Analysis of Cultivated Mushrooms in Bangladesh - *Pleurotus ostreatus* , *Pleurotus sajor-caju* , *Pleurotus florida* and *Calocybe indica* . *Mycobiology*. 2008;36(4):228.

Bellettini MB, Fiorda FA, Maieves HA, Teixeira GL, Ávila S, Hornung PS, et al. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi J Biol Sci*. 2019;26(4):633–46.

Bello M, Oluwamukomi M, Enujiugha V. Nutrient Composition and Sensory Properties of Biscuit from Mushroom-Wheat Composite Flours. *Arch Curr Res Int*. 2017;9(3):1–11.

Bonatti-Chaves M, Soares H, Furlan SA. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chem*. 2004;(December):1–5.

Calle J, Benavent-Gil Y, Rosell CM. Development of gluten free breads from *Colocasia esculenta* flour blended with hydrocolloids and enzymes. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2020;98(June 2019):105243. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105243>

Calvo Carrillo María de la Concepción, López Méndez Oliverio Xicoténcatl, Carranco Jáuregui María Elena, Marines Jared. 2021, Physicochemical and sensory evaluation of a baguette bread using wheat (*Triticum* spp) and pea (*Pisum sativum* L.) flours, *Biocencia*,1665-1456.

Cardoso RVC, Fernandes Â, González-Paramás AM, Barros L, Ferreira ICFR. Flour fortification for nutritional and health improvement: A review. *Food Res Int* [Internet]. 2019;125(May):108576. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108576>

Carrasco-González JA, Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JA. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potencial use as food ingredient. *J Food Compos Anal* [Internet]. 2017;58:69–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>

Chen Y, Zhao L, He T, Ou Z, Hu Z, Wang K. Effects of mango peel powder on starch digestion and quality characteristics of bread. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2019;140:647–52. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.188>

Corrêa RCG, Brugnari T, Bracht A, Peralta RM, Ferreira ICFR. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends Food Sci Technol*. 2016;50:103–17.

Dolores Sifre María, Delfina Simó Manu Peraire, Segura Amparo, Simó Pepita, Tosca Pepita. 2018, *La Harina*, Universidad para Mayores Sede del Norte – San Mate.

Fernandes Â, Barros L, Martins A, Herbert P, Ferreira ICFR. Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. *Food Chem*. 2015;169:396–400.

Ferrer Villena Cristina Isabel, Zúñiga Llanos Ariadna Zatyuri, Salazar Quispe Israel José, Naquiche Calero Ana Julissa, Zapata Málaga Helena Beatriz, Castellanos Cabrera Roberto. 2015, CARACTERIZACIÓN DE LA ENZIMA AMILASA DE LA BACTERIA TERMÓFILA *Bacillus licheniformis* BA-3 AISLADA DE LOS GÉISERES DE CANDARAVE (TACNA-PERÚ), *Revista Ciencia y Desarrollo*, 2304-8891.

Frakolaki G, Giannou V, Topakas E, Tzia C. Chemical characterization and breadmaking potential of spelt versus wheat flour. *J Cereal Sci* [Internet]. 2018;79:50–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.08.023>

Geng P, Harnly JM, Chen P. Differentiation of bread made with whole grain and refined wheat (*T. aestivum*) flour using LC/MS-based chromatographic fingerprinting and chemometric approaches. *J Food Compos Anal* [Internet]. 2016;47:92–100. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2015.12.010>

Guardado-félix D, Lazo-vélez MA, Pérez-carrillo E, Esteban D, Serna-saldívar SO. 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 Sci Technol* [Internet]. 2020;109517. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109517>

HERNANDEZ, MARIO ALBERTO CRUZ. Evaluación de la producción de enzimas celulolíticas utilizando *Pleurotus ostreatus*. *Avances de Investigación en Inocuidad de Alimentos*, 2019, vol. 2.

Hernández Mendoza M, Román Gutiérrez Alma Delia. 2016, EVALUACIÓN DE ENZIMAS XILANASAS PARA EL DESARROLLO UN PRODUCTO FUNCIONAL EN PANIFICACIÓN, *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 875-879.

Izquierdo Hernández Amada, Armenteros Borell Mercedes, Lancés Costilla Luisa, Martín González Isabel. 2004, Alimentación saludable, *Revista Cubana de Enfermería*, 1561-2961

Kalač P. *Edible Mushrooms* [Internet]. Academic Press. Elsevier; 2016. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/C20150004713>

Kayode RMO, Olakulehin TF, Adedeji BS, Ahmed O, Aliyu TH, Badmos AHA. Evaluation of amino acid and fatty acid profiles of commercially cultivated oyster mushroom (*Pleurotus*

sajor-caju) grown on gmelina wood waste. Niger Food J [Internet]. 2015;33(1):18–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nifoj.2015.04.001>

Khan MA, Tania M. Nutritional and Medicinal Importance of Pleurotus Mushrooms: An Overview. Food Rev Int. 2012;28(3):313–29.

Khider M, Elbanna K, Seoudi O, El-Fakharany A. Lactic acid fermented permeates and mushroom powder (*Pleurotus ostreatus* Hk 35) for improvement of the nutritional value and quality of pan bread. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 2015;4(8):723–36.

Kim S, Lee JW, Heo Y, Moon B. Effect of *Pleurotus eryngii* Mushroom β -Glucan on Quality Characteristics of Common Wheat Pasta. J Food Sci. 2016;81(4):C835–40.

Koutrotsios G, Mountzouris KC, Chatzipavlidis I, Zervakis GI. 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 Chem [Internet]. 2014;161:127–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.121>

Li D, Zhao Y, Fei T, Wang Y, Lee BH, Shim JH, et al. Effects of *Streptococcus thermophilus* GtfB enzyme on dough rheology, bread quality and starch digestibility. Food Hydrocoll [Internet]. 2019;96(January):134–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.009>

Liguori G, Gentile C, Gaglio R, Perrone A, Guarcello R, Francesca N, et al. Effect of addition of *Opuntia ficus-indica* mucilage on the biological leavening , physical , nutritional , antioxidant and sensory aspects of bread. J Biosci Bioeng [Internet]. 2019;xxx(xxx). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.08.009>

Liu W, Brennan MA, Serventi L, Brennan CS. Effect of cellulase, xylanase and α -amylase combinations on the rheological properties of Chinese steamed bread dough enriched in

wheat bran. *Food Chem* [Internet]. 2017;234:93–102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.160>

López Rodríguez Claudia, Hernández Corredor Ricardo, Suárez Franco Christian, Borrero . 2008, Evaluation of growth and production of *Pleurotus ostreatus* on different agroindustrials wastes of Cundinamarca, *Universitas Scientiarum*, 0122-7483.

Lu X, Brennan MA, Serventi L, Liu J, Guan W, Brennan CS. Addition of mushroom powder to pasta enhances the antioxidant content and modulates the predictive glycaemic response of pasta. *Food Chem* [Internet]. 2018;264(April):199–209. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.130>

Ma G, Yang W, Zhao L, Pei F, Fang D, Hu Q. A critical review on the health promoting effects of mushrooms nutraceuticals. *Food Sci Hum Wellness* [Internet]. 2018;7(2):125–33. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.05.002>

Manzi P, Gambelli L, Marconi S, Vivanti V, Pizzoferrato L. Nutrients in edible mushrooms: An inter-species comparative study. *Food Chem*. 1999;65(4):477–82.

Millar KA, Barry-Ryan C, Burke R, McCarthy S, Gallagher E. Dough properties and baking characteristics of white bread, as affected by addition of raw, germinated and toasted pea flour. *Innov Food Sci Emerg Technol* [Internet]. 2019;56(September 2018):102189. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102189>

Miller GL. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal Chem*. 1959;31(3):426–8.

Moreno Araiza1 Oscar, Magaña Barajas Elisa, Morales Ortega Adriana, Buitimea Cantúa Nydia Estrellita. 2018, EFECTO DE LA ENZIMA XILANASA SOBRE LA CALIDAD DEL PAN ENRIQUECIDO CON SALVADO TOSTADO DE TRIGO, *Biotecnia*, 111-116.

Nweze CC, Rasaq NO, Istifanus BI. Effect of *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* mixed diet on Alloxan-induced hyperglycemic rats. *Sci African* [Internet]. 2020;7:e00209. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00209>

Oliveira DS, Telis-Romero J, Da-Silva R, Franco CML. Effect of a *thermoascus aurantiacus* thermostable enzyme cocktail on wheat bread quality. *Food Chem* [Internet]. 2014;143:139–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.103>

Palacios Romero Abraham, Rodríguez Laguna Rodrigo, Razo Zárate Ramón, Jiménez Muñoz Edith. 2019, Effect of different substrates in *Dasyliirion acrotrichum* (Schiede) Zucc. seedling growth, *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*.

Proserpio C, Pagliarini E, Laureati M, Frigerio B, Lavelli V. Acceptance of a new food enriched in β -glucans among adolescents: Effects of food technology neophobia and healthy food habits. *Foods*. 2019;8(10).

Quiñónez Martínez Miroslava, Enríquez Anchondo Irma Delia, Flores Margez Juan Pedro, Palacios Ramírez Karla Yamel, Olivas Sánchez Martha Patricia, Garza Ocañas Fortunato, Lebgue Keleng Toutcha, Nájera Medellín Jesús Alejandro. 2018, Plant communities in soil of semiarid ecosystem and their relationship with mycorrhizal fungi, *Terra Latinoamericana* 36: 381-391.

Ramírez Ramírez Joaquín, Ayala Aceves Marcela. 2014, ENZIMAS: ¿QUÉ SON Y CÓMO FUNCIONAN?, *Revista Digital Universitaria UNAM*, 1607-6079.

Rasalanavho M, Moodley R, Jonnalagadda SB. Elemental bioaccumulation and nutritional value of five species of wild growing mushrooms from South Africa. *Food Chem* [Internet]. 2020;319:126596. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126596>

Rivera Omen Ruby Leonor, Martínez Mamián Carlos agosto, Morales Velasco Sandra. 2013, EVALUATION OF AGRICULTURAL WASTE AS SUBSTRATE FOR THE PRODUCTION OF *Pleurotus ostreatus*, Luna Azul, 1909-2474.

Rodriguez Barbosa J, dos Santos Freitas MM, da Silva Martins LH, de Carvalho RN. Polysaccharides of mushroom *Pleurotus* spp.: New extraction techniques, biological activities and development of new technologies. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2020;229(November 2019):115550. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115550>

Roman L, Martinez MM. Structural Basis of Resistant Starch (RS) in Bread: Natural and Commercial Alternatives. *Foods* (Basel, Switzerland) [Internet]. 2019 Jul 19;8(7):267. Available from: <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/7/267>

Sánchez Carmen. 2009, Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms, *Applied Microbiology and Biotechnology* 1321-1337.

Shbeeb DA, Farahat MF, Ismail HM. Macronutrients analysis of fresh and canned *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* mushroom species sold in Alexandria markets, Egypt. *Prog Nutr*. 2019;21(1):203–9.

Shim JH, Seo NS, Roh SA, Kim JW, Cha H, Park KH. Improved bread-baking process using *Saccharomyces cerevisiae* displayed with engineered cyclodextrin glucanotransferase. *J Agric Food Chem*. 2007;55(12):4735–40.

SRV A, Mishra S, Hardacre A, Matia-Merino L, Goh K, Warren F, et al. Kernel structure in breads reduces in vitro starch digestion rate and estimated glycaemic potency only at high grain inclusion rates. *Food Struct* [Internet]. 2019;21(December 2018):100109. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2019.100109>

Struyf N, Verspreet J, Verstrepen KJ, Courtin CM. Investigating the impact of α -amylase, α -glucosidase and glucoamylase action on yeast-mediated bread dough fermentation and bread sugar levels. *J Cereal Sci* [Internet]. 2017;75:35–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2017.03.013>

Synytsya A, Míčková K, Synytsya A, Jablonský I, Spěváček J, Erban V, et al. Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydr Polym*. 2009;76(4):548–56.

Szakály Z, Kovács S, Pető K, Huszka P, Kiss M. A modified model of the willingness to pay for functional foods. *Appetite*. 2019;138(March):94–101.

Vetvicka V, Gover O, Karpovsky M, Hayby H, Danay O, Ezov N, et al. Immune-modulating activities of glucans extracted from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*. *J Funct Foods* [Internet]. 2019;54(October 2018):81–91. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.12.034>

Wai A, Yeung K, Mocan A, Atanasov AG. 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 Chem*. 2018;269(March):455–65.

Wang J, Hasanalieva G, Wood L, Anagnostopoulos C, Ampadogiannis G, Bempelou E, et al. 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 -Pesticide residue content. *Food Chem X* [Internet]. 2020;6(November 2019):100089. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2020.100091>

Wang S, Xu F, Li Z, Zhao S, Song S, Rong C, et al. The spent mushroom substrates of *Hypsizygus marmoreus* can be an effective component for growing the oyster mushroom

Pleurotus ostreatus. *Sci Hortic (Amsterdam)* [Internet]. 2015;186:217–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.028>

Zhang Y, Ruan C, Cheng Z, Zhou Y, Liang J. Mixolab behavior, quality attributes and antioxidant capacity of breads incorporated with *Agaricus bisporus*. *J Food Sci Technol* [Internet]. 2019;56(8):3921–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03859-7>

Zhou S, Ma F, Zhang X, Zhang J. Carbohydrate changes during growth and fruiting in *Pleurotus ostreatus*. *Fungal Biol* [Internet]. 2016;120(6–7):852–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2016.03.007>

Zhou W, Therdthai N, Hui YH. Introduction to Baking. In: *Bakery Products Science and Technology*. 2014.