

## APTITUD DE CEPAS DE LACTOBACILOS HETEROFERMENTANTES PARA EL DESARROLLO EN MASA DE TRIGO Y MASA APTA PARA CONSUMO POR PERSONAS CELIACAS

**PEVERENGO MARÍA ROCIO**

Instituto Nacional de Lactología Industrial INLAIN-UNL-CONICET  
Facultad de Ingeniería Química UNL

**Área:** Ingeniería

**Sub-Área:** Alimentos

**Grupo:** X

**Palabras clave:** lactobacilos heterofermentantes, masa madre, celiaquía

### INTRODUCCIÓN

Las bacterias lácticas (BAL) son bacterias fermentadoras que habitan o son intencionalmente adicionadas a medioambientes ricos en carbohidratos y proteínas. Las BAL incluyen un grupo heterogéneo de microorganismos, agrupadas en los géneros *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weissella*. En función de su metabolismo de azúcares se clasifican en BAL homo o heterofermentantes. Estas últimas fermentan glucosa generando como producto CO<sub>2</sub>, ácido láctico y ácido acético. Como se consumen sin riesgos desde hace miles de años, es que lograron el estatus GRAS: *generally recognised as safe*. Algunas especies de lactobacilos heterofermentantes (LH) suelen integrar la microflora de masas madres utilizadas tradicionalmente para obtención de panificados artesanales. La producción de metabolitos durante la fermentación afecta la calidad sensorial, la textura y la vida útil de panes elaborados con masa madre confiriendo ventajas con respecto a los panificados realizados únicamente con levadura comercial. Los ácidos láctico y acético producidos inhiben microorganismos patógenos y alterantes, retardando además la retrogradación del almidón, fenómeno relacionado con el envejecimiento del pan (Gobbetti M. 1998; Font de Valdez y col., 2010; Guerzoni y col., 2011).

La celiaquía es una enfermedad hereditaria y autoinmune donde la pared del intestino delgado se daña por intolerancia al gluten. En Argentina, se estima que 1 de cada 100 personas es celíaca (Ministerio de Salud, 2008). El único tratamiento eficaz es una dieta libre de gluten de por vida. La conservación de pan "fresco" para celíacos es un problema aún no resuelto. La adición de fermentos lácticos seleccionados a elaboraciones con levadura comercial podría mejorar textura y vida útil del alimento. El Cepario del INLAN cuenta con LH salvajes aislados de muestras enviadas por industrias lácteas regionales e identificados genéticamente como *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri* y *Weissella cibaria*. En este trabajo se plantea evaluar su aptitud para desarrollar en harina de trigo y en una premezcla comercial para celíacos. Estas cepas autóctonas de grado alimentario

Proyecto: Lactobacilos heterofermentantes: diversidad y potencialidad tecnológica para mejorar la vida útil del pan para celíacos, 2010-074-14

Director del proyecto: Dra. María Luján Capra

Director del becario/tesista: Dra. María Luján Capra; Codirector: Dra. Andrea del Luján Quiberoni

podrían contribuir a mejorar el pan para celíacos, facilitando un aspecto diario en la alimentación de un numeroso grupo de personas de nuestro país.

## OBJETIVOS

- Estudiar el desempeño de 16 cepas de lactobacilos heterofermentantes en la fermentación de harina de trigo y de una premezcla comercial para celíacos.
- Evaluar el efecto del agregado de NaCl a las masas sobre el crecimiento de un grupo de cepas de lactobacilos heterofermentantes.

## METODOLOGÍA

### Cepas y condiciones de cultivo

Se utilizaron 16 cepas de lactobacilos heterofermentantes (LH) pertenecientes al Cepario del INLAIN y seleccionadas en base a estudios previos. *Lactobacillus brevis* (2), *Lactobacillus buchneri*(1), *Lactobacillus fermentum*(12) y *Weissella cibaria* (1). Las mismas fueron cultivadas en caldo de *ManRogosa and Sharp* (MRS, Biokar, Beauvais, Francia) a 30 °C por 24-48h, salvo para *Lactobacillus fermentum* (37°C).

### Crecimiento en masas

La mayoría de las propiedades beneficiosas atribuidas a la masa madre se debe a la actividad acidificante de las BAL. Se evaluó la capacidad de las cepas de desarrollar en una masa preparada con una Premezcla comercial para Celíacos (PcC) (Rendimiento de Masa, RM= 160, peso masa x 100/peso harina) inoculada ( $10^8$  UFC/g) con una suspensión de células lavadas e incubada a 30 °C durante 18 h. Se determinaron recuentos microbiológicos (MRS agar, 30 °C a 24 h en microaerofilia) y pH al inicio, 2, 4 y 24 h. Como controles se utilizaron masas preparadas e incubadas en forma análoga pero sin inocular, para las que sólo se realizó observación visual y valoración sensorial (aroma y apariencia).

Análoga experiencia se desarrolló en harina de trigo con el objetivo de evaluar el comportamiento de las cepas en una matriz más convencional.

### Tolerancia a sal en la matriz de masa

En base a la capacidad de desarrollo en las masas y a resultados obtenidos en experiencias anteriores, 6 cepas (*Lb. brevis* 61 y 66, *Lb. buchneri* 39, *Lb. Fermentum* 22 y 68, *W.cibaria* 20) fueron seleccionadas. Se estudió el desarrollo en masa de PcC y de trigo con y sin el agregado de NaCl (2% p/p), por determinación de la variación de pH a tiempo inicial y luego de una incubación (4 h a 30 °C) (Gaggiano y col. 2007).

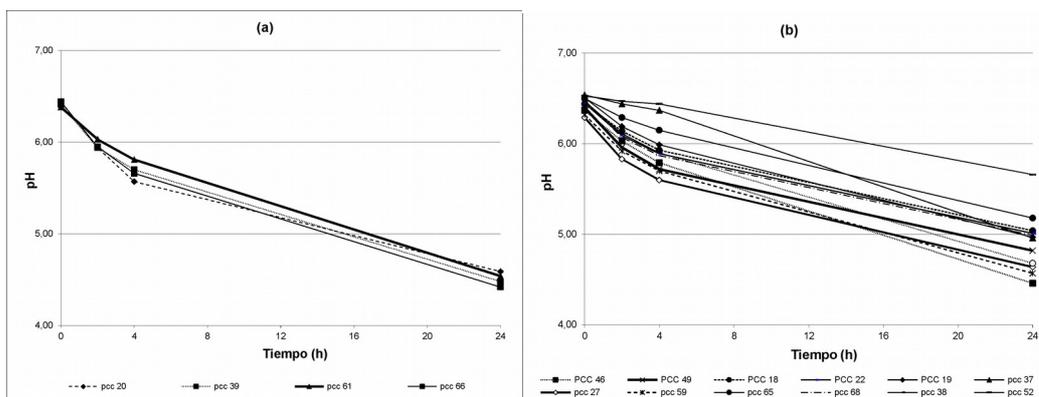
## RESULTADOS Y DISCUSION

### Crecimiento en masas

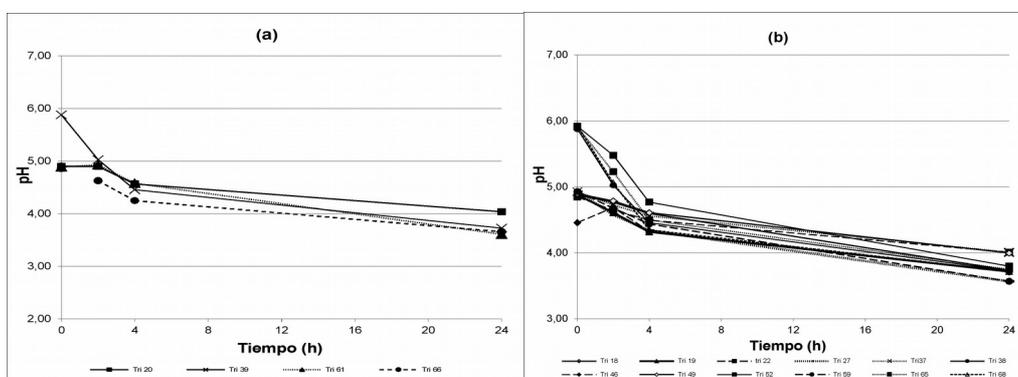
El desarrollo en masa de PcC y trigo se evaluó para todas las cepas en estudio por determinación de pH y a través de recuentos microbiológicos. Se analizó de manera visual la producción de gas (CO<sub>2</sub>) en los paquetes de masa fermentada por cada cepa.

Para PcC, las cepas de *W. cibaria*, *Lb. brevis* y *Lb. buchneri* disminuyeron el pH inicial de las masas entre 1,84 y 2,02 puntos de pH a las 24 h. Las cepas de *Lb. fermentum* fueron menos efectivas, con disminuciones entre 1,32-1,91; más aún la cepa 52 sólo logró una disminución de 0,87(Figura 1). En cuanto a los recuentos, a las 24h se mantuvieron o incrementaron en 0,3-0,8 órdenes logarítmicos respecto de los recuentos iniciales. La masa se tornó esponjosa (presencia de numerosas burbujas diminutas) y su aroma suave y agradable, ligeramente ácido. En general, las cepas fueron capaces de desarrollar en la matriz propuesta.

Análoga experiencia se realizó en masa de trigo observando que las cepas de *W. cibaria*, *Lb. brevis* y *Lb. buchneri* disminuyeron el pH inicial de las masas entre 0,86 y 2,15 puntos de pH a las 24 h. En esta matriz, las cepas de *Lb. fermentum* disminuyeron el pH en aproximadamente el mismo rango (0,75-2,21) (Figura 2). Los recuentos a las 24 h se incrementaron entre 0,6 y 2 órdenes logarítmicos con respecto al valor inicial. Notoriamente, algunas cepas de *Lb. fermentum* mostraron escaso desarrollo en 24 h (cepa 22, 0,7 órdenes  $\log_{10}$ ), mientras que otras lograron importantes diferencias en ese tiempo (1,9 y 2 órdenes  $\log_{10}$  para las cepas 18 y 19, respectivamente). Las cepas de las demás especies aumentaron sus recuentos iniciales entre 1,2 y 1,7 órdenes  $\log_{10}$ , siendo *W.cibaria* 20 la que alcanzó mayor desarrollo. La masa de trigo control, se tornó esponjosa por la presencia de burbujas de gran tamaño, de color marrón oscuro, con aroma fuertemente ácido y fétido. La masa de trigo inoculada presentó color marrón claro, presencia de gas en forma de burbujas medianas y pequeñas, y aroma ácido de variada intensidad según la cepa en cuestión.



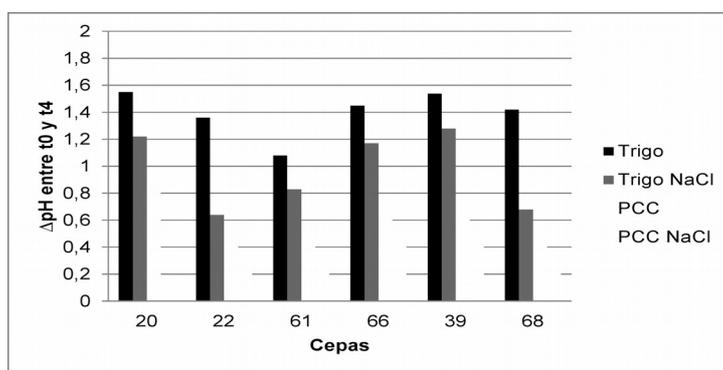
**Figura 1.** Evolución del pH en masas preparadas con PcC y fermentadas (30 °C) con cepas de *W.cibaria* (20), *Lb. brevis* (61 y 66) y *Lb. buchneri*(39) (a) y cepas de *Lb. fermentum*(b).



**Figura 2** Evolución del pH en masas preparadas con harina de trigo y fermentadas (30 °C) con cepas de *W.cibaria*(20), *Lb. brevis*(61 y 66) y *Lb. buchneri*(39) (a) y cepas de *Lb. fermentum*(b).

## Tolerancia a sal en la matriz de masa

En las masas preparadas con PcC, las cepas lograron mayores disminuciones de pH (0,50-0,85) en las masas sin sal agregada entre  $t_0$  y  $t_4$  (**Figura 3**). En masas con sal la diferencia fue menor (0,15-0,40), siendo la cepa de *W. cibaria* la más afectada por la presencia de sal. También en las masas preparadas con harina de trigo las cepas lograron mayores disminuciones de pH entre  $t_0$  y  $t_4$  (1,08-1,55) cuando no se les agregó sal; mientras que en las masas con sal la diferencia fue de 0,64-1,28. En este caso las cepas más afectadas por la presencia de sal fueron *Lb. fermentum* 22 y 68.



**Figura 3:** Tolerancia a NaCl (2% p/p) en PcC y harina de trigo.

## CONCLUSIONES

Las cepas analizadas son capaces de adaptarse y desarrollar en masas preparadas con harinas de trigo o PcC, a pesar de provenir de matrices lácteas. Por otro lado, pudo observarse que el agregado de NaCl afecta el desarrollo de las cepas en las masas preparadas con los dos tipos de harinas, aunque no inhibe totalmente su crecimiento.

## BIBLIOGRAFÍA

**Guerzoni M.E., Gianotti A., Serrazanetti D.I.** (2011). Fermentation as a tool to improve healthy properties of bread. En V.R. Preedy, R. R. Watson, V. B. Patel, (Eds), Flour and breads and their fortification in health and disease prevention (pp.385-393). London, Burlington, San Diego: Academic Press, Elsevier. ISBN: 9780123808868

**Gaggiano M., Di Cagno R., De Angelis M., Arnault P., Tossut P., Fox P.F., Gobbetti M.** (2007). Defined multi-species semi-liquid ready-to-use sourdough starter. Food Microbiology 24, 15-24.

**Gobbetti, M.** (1998). The sourdough micro flora: interactions of lactic acid bacteria and yeasts. Trends in Food Science and Technology, 9, 267-274.

**Font de Valdez G., Gerez C.L., Torino M.I. y Rollán G.** (2010). New trends in cereal-based products using lactic acid bacteria. En F. Mozzi, R. R. Raya, G.M. Vignolo, (Eds) Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications (pp.273-287). Singapore: Blackwell Publishing, Wiley-Blackwell. ISBN: 978-0-8138-1583-1.