

# Producción de masas madre fermentadas con bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de la panificación

**R. H. Hernández-Figueroa\* y A. López-Malo**

\*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos

Correos electrónicos: [ricardoh.hernandez@udlap.mx](mailto:ricardoh.hernandez@udlap.mx) • [aurelio.lopezm@udlap.mx](mailto:aurelio.lopezm@udlap.mx)



## RESUMEN

El uso de masas madre para la elaboración de productos de panadería ha sido investigado en los últimos años como una alternativa para mejorar las características organolépticas del pan y su vida útil. Debido a ello, el propósito de esta revisión es presentar un panorama general de las investigaciones realizadas acerca del uso de masas madre y sus beneficios en la calidad del pan, así como presentar información relevante y reciente sobre el uso de masas madre y sus extractos acuosos para la conservación de los productos de panadería. En general, se ha demostrado que la incorporación de masas madre a la formulación del pan presenta un impacto positivo sobre el sabor y olor del producto, y ayuda a disminuir la velocidad del proceso de envejecimiento. A su vez, se ha observado que los compuestos bioactivos formados por las bacterias ácido lácticas (BAL) en las masas madre y en sus extractos presentan una capacidad antimicrobiana que ayuda de manera significativa al aumento de vida de anaquel del pan.

**Palabras clave:** masas madre, bacterias ácido lácticas, pan, antifúngico, vida útil.

## ABSTRACT

The use of sourdoughs for the preparation of bakery products has been recently investigated as an alternative to improve the organoleptic characteristics of bread and its shelf life. Due to this, the purpose of this review is to present an overview of the research carried out on the use of sourdoughs and their benefits in bread quality, as well as to present relevant and recent information on the use of sourdoughs and its aqueous extracts for the preservation of bakery products. In general, it has been shown that the incorporation of sourdoughs into the bread formulation has a positive impact on the taste and smell of the product and helps to slow down its aging process. In turn, it has been observed that the bioactive compounds formed by lactic acid bacteria (LAB) sourdoughs and in their extracts have an antimicrobial capacity that significantly helps to increase the shelf life of bread.

**Keywords:** sourdough, lactic acid bacteria, bread, antifungal, shelf life.

## INTRODUCCIÓN

El pan es uno de los alimentos fermentados que más se consume en el mundo y, en muchos casos, es la base alimentaria en un gran número de países. En general, es un producto que se elabora a partir del horneado de una masa previamente fermentada con levaduras y en algunos tipos de pan, en conjunto con otros microorganismos, los cuales le otorgan las características y atributos de calidad más importantes. Sin embargo, el pan fresco es un producto con una vida útil corta, regida principalmente por las alteraciones fisicoquímicas conocidas como envejecimiento y por el crecimiento de mohos en su superficie. Para mejorar la vida de anaquel de los productos de panadería, la industria de la panificación ha incorporado aditivos sintéticos y agentes antimicrobianos, los cuales han demostrado tener una capacidad para disminuir tanto el proceso de envejecimiento como el crecimiento de mohos. Sin embargo, la demanda de los consumidores por productos orgánicos o sin aditivos sintéticos ha devenido en la búsqueda de nuevas alternativas «naturales» que ayuden a reemplazar dichos aditivos y a mantener la vida útil de los panes (Cauvain y Young, 2003; Chavan y Chavan, 2011).

Una alternativa que ha sido investigada en los últimos años es el uso de masas madre en la formulación de productos de panadería. Por mucho tiempo, en la región de Europa se han empleado las masas madre para la elaboración del pan, ya que se ha observado que su incorporación ayuda a mantener las características organolépticas del producto y retrasa el crecimiento de mohos en su superficie. Se ha demostrado que durante la formación de las masas madre o masas agrias (*sourdough*) se forman compuestos como ácidos orgánicos, compuestos peptídicos y exopolisacáridos, los cuales ayudan a mantener la vida útil del producto, conservando las características de calidad del pan y disminuyendo la velocidad del crecimiento de mohos (Park *et al.*, 2006; Corsetti y Settanni, 2007; Chavan y Chavan, 2011; Garofalo *et al.*, 2012; Luz *et al.*, 2019). De igual forma, se ha demostrado la capacidad de los extractos acuosos de las masas madre fermentadas para inhibir el crecimiento de los principales mohos que deterioran el pan, generando de esta manera una alternativa prometedora como antimicrobiano natural en este tipo de productos (Ryan *et al.*, 2011; Samapundo *et al.*, 2017; Luz *et al.*, 2019). En este artículo se recopila la información genera-

da en los últimos años sobre el uso de masas madre fermentadas con bacterias ácido lácticas y de los extractos acuosos de las mismas, con el objetivo de mejorar la vida de anaquel de productos de panadería y observar los avances en torno a la identificación de los compuestos responsables de la actividad antifúngica.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1. Principales modos de deterioro en el pan

El pan es un alimento muy perecedero debido primordialmente a su composición básica; la disminución de su calidad se debe, ante todo, a cambios fisicoquímicos y microbiológicos que empiezan a ocurrir una vez que pasa por el proceso de enfriamiento posterior al horneado. Durante dicho procedimiento, la pérdida de humedad y el medioambiente provocan cambios importantes en la textura, tanto de la miga como de la corteza. A medida que el tiempo de almacenamiento avanza, el fenómeno de retrogradación de almidón comienza, lo cual, sumado a la pérdida de humedad, incrementa la velocidad de aumento de firmeza. De igual forma, el deterioro microbiológico provocado por el crecimiento de mohos en la superficie del pan representa el problema de mayor importancia para la industria de la panadería, ya que genera pérdidas económicas muy altas para el sector (García *et al.*, 2019).

Los mohos proliferan fácilmente en el pan debido a que es un producto rico en carbohidratos (70-80 g carbohidratos/100 g pan), con valores de actividad de agua entre 0.94-0.97 y valores de pH alrededor de seis, las cuales son condiciones óptimas para el crecimiento de este tipo de microorganismos. Se ha demostrado que la contaminación de los productos de panadería con esporas de mohos, que se encuentran de manera natural en el entorno de la panadería, ocurre después del proceso de horneado: durante el enfriamiento, rebanado y empaquetado del producto, siendo estas últimas etapas las determinantes para definir la calidad microbiológica de estos productos (Magan *et al.*, 2003; García *et al.*, 2019).

Se ha identificado una variedad amplia de mohos en el deterioro del pan, siendo los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* los más comunes e importantes, debido a la capacidad que presentan para crecer en un amplio rango de temperaturas y dis-

ponibilidad de agua, así como a su habilidad para producir una cantidad muy grande de esporas y que pueden encontrarse en el medioambiente. Las especies *Penicillium roqueforti*, *Penicillium paneum*, *Penicillium brevicompactum* y *Penicillium chrysogenum* han sido identificadas como las responsables del enmohecimiento del pan, caracterizado por la aparición de manchas de color verdiazul en la superficie del producto. Respecto al género *Aspergillus* se han aislado, en distintos tipos de pan, especies como *Aspergillus chevalieri*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus pseudoglaucus*, las cuales provocan la aparición de manchas de diferentes colores, que van desde verdes hasta negras, y en algunos casos este tipo de mohos producen pigmentos amarillos que se difunden en la superficie del pan. Por otra parte, se han reconocido otras especies de mohos filamentosos implicados en el deterioro del pan; especies como *Rhizopus*, *Mucorales* y *Neurospora* han sido aisladas en un gran número de productos de panificación. Sin embargo, su aparición e implicación en el proceso de enmohecimiento del pan no es tan significativa como las mencionadas anteriormente (Magan *et al.*, 2003; Garcia *et al.*, 2019).

Con respecto al crecimiento de bacterias en los productos de panadería, se han encontrado algunas como la *Serratia marcescens* y *Endomyces fibuliger*, las cuales pueden generar manchas rojas o blancas en la superficie del pan. A su vez, se ha descrito el fenómeno denominado *hilado* o *pan filamentosos*, causado por el crecimiento de determinadas cepas de *Bacillus subtilis*, el cual genera cambios de color (amarillo) y una viscosidad pegajosa indeseable en el producto. Sin embargo, la frecuencia con la que aparece un crecimiento bacteriano en los panes es muy baja, en comparación con el crecimiento de mohos, por lo que la industria panadera se centra en eliminar las contaminaciones causadas por estos últimos microorganismos (Magan *et al.*, 2003; Jay, 2005).

Como se mencionó anteriormente, las pérdidas económicas ocasionadas por el proceso de enmohecimiento del pan son muy grandes, lo cual ha generado un impulso para desarrollar distintos métodos de conservación por parte de la industria de la panificación. Hoy en día, la forma más común para prevenir o controlar el crecimiento de mohos en el pan es la utilización de conservadores sintéticos, denominados antifúngicos. Los ácidos propiónico, sórbico y acético, y sus sales, son los conservadores mayormente seleccionados para combatir dicho crecimiento (Magan *et al.*, 2003). No obstante, las exigencias de los consumido-

res por productos libres de aditivos sintéticos o más «naturales», han llevado a desarrollar investigaciones sobre nuevos compuestos naturales que ayuden a preservar la vida de anaquel de los productos de panificación (Saranraj y Sivasakthivelan, 2015).

Una alternativa para el desarrollo de sustancias antifúngicas que ayuden a preservar la vida de anaquel del pan es la utilización de masas madre o sus extractos acuosos en la formulación. Numerosos estudios han descrito y caracterizado distintos compuestos antifúngicos producidos por ciertas bacterias ácido lácticas; cepas de *Lactobacillus plantarum*, *Lb. reuteri*, *Lb. sanfransiscensis*, *Lb. amylovorus*, entre otras, han demostrado la capacidad de producir sustancias bioactivas, en especial ácidos orgánicos y compuestos peptídicos, durante el proceso de fermentación para la obtención de las masas madre en la industria de la panificación, lo cual genera una alternativa para reemplazar los antifúngicos sintéticos (Rizzello *et al.*, 2011; Saranraj y Sivasakthivelan, 2015; Luz *et al.*, 2017, 2019; Su *et al.*, 2019).

## 2. Masas madre

Las masas madre o masas agrias (*sourdough*) son el resultado de fermentaciones espontáneas que se obtienen cuando harinas de diferentes granos (sobre todo trigo o cebada) se mezclan con una cantidad de agua adecuada, y se mantienen en condiciones de temperatura y tiempo favorables para el crecimiento de microorganismos propios de la harina o inoculados intencionalmente. Este tipo de productos fermentados son de los más antiguos conocidos por el hombre, y en muchos países siguen siendo utilizados en la elaboración de panes, como parte de su formulación, debido a las características únicas de textura y sabor que otorgan al producto final (Gänzle y Ripari, 2016). De igual forma, en años recientes el uso de masas madre en la industria de la panificación está aumentando de manera importante, debido al descubrimiento de las mejoras nutricionales, como el aumento de la biodisponibilidad de minerales y la generación de compuestos peptídicos con actividad antioxidante, y los efectos sobre la vida de anaquel que otorga la adición de estas masas a la formulación del pan (Chavan y Chavan, 2011; Zou *et al.*, 2016).

Los análisis e investigaciones microbiológicas que se han llevado a cabo sobre las masas madre han demostrado que dentro de este ecosistema conviven principalmente dos tipos de

microorganismos: bacterias ácido lácticas y levaduras. En la mayoría de los análisis las BAL comúnmente aisladas en las masas madre son del género *Lactobacillus*. Con respecto a las levaduras, sobre todo se han aislado e identificado levaduras de los géneros *Saccharomyces* y *Candida*. La biodiversidad de las BAL y las levaduras en las masas madre dependen, más que nada, del tipo de masa madre y el proceso de elaboración (De Vuyst y Neysens, 2005; Sakandar *et al.*, 2019).

### 2.1. Clasificación de las masas madre

De acuerdo con el proceso de preparación y la actividad metabólica de las principales BAL y levaduras que se encuentran en las masas madre, estas se pueden clasificar en tres tipos. La masa madre tipo I es una mezcla de harina y agua sometida a un proceso de incubación a temperaturas menores de 30 °C, inoculada con una masa madre previamente fermentada, con el fin de mantener alta la actividad metabólica de los microorganismos. En la masa madre tipo II, la mezcla de harina y agua es incubada a temperaturas por arriba de los 30 °C durante tiempos muy prolongados de fermentación (hasta cinco días); esta puede ser líquida y es muy utilizada como agente acidificante y generador de aromas en los productos de panadería. Finalmente, la

masa madre tipo III pasa por un proceso de secado, generalmente por aspersión; los microorganismos en estado activo se transforman primero a un estado latente por el secado y luego requieren ser reactivados y resuspendidos con agua antes de su uso como ingrediente del pan. Para productos de panificación a gran escala, la masa madre tipo III es la más utilizada como iniciador de premezclas, por su fácil manejo y larga vida de anaquel; sin embargo, es importante mencionar que el número de microorganismos viables de esta masa depende de las condiciones de secado (De Vuyst y Neysens, 2005; Lai y Lin, 2007; Sakandar *et al.*, 2019).

### 2.2. Bacterias ácido lácticas en las masas madre

La microbiota de las masas madre por lo general comprende dos tipos de microorganismos: bacterias ácido lácticas y levaduras; en la tabla I se muestran las distintas BAL y levaduras que han sido aisladas en los diferentes tipos de masas madre. Las poblaciones de estos dos tipos de microorganismos pueden estar en niveles de  $10^6$  -  $10^9$  UFC/g, y como tal, la proporción de las BAL con respecto a las levaduras es de aproximadamente 100:1; esto indica que la mayor contribución de formación de compuestos durante la fermentación de las masas madre está proporcionada por las BAL (Lai y Lin, 2007; Chavan y Chavan, 2011).

**Tabla I.** Principales bacterias ácido lácticas (BAL) y levaduras aisladas en los diferentes tipos de masas madre

Tipo de masa madre	Microorganismo			
	BAL heterofermentativa obligada	BAL heterofermentativa facultativa	BAL homofermentativa obligada	Levaduras
Tipo I	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	<i>Lactobacillus alimentarius</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Candida humilis</i>
	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Candida milleri</i>
	<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus amylovorus</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i>
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus paralimentarius</i>	<i>Lactobacillus farciminis</i>	<i>Candida Krusei</i>
	<i>Lactobacillus fructivorans</i>	-	<i>Lactobacillus mindensis</i>	-
	<i>Lactobacillus pontis</i>	-	-	-

**Tabla I.** Principales bacterias ácido lácticas (BAL) y levaduras aisladas en los diferentes tipos de masas madre (continuación)

Tipo de masa madre	Microorganismo			
	BAL heterofermentativa obligada	BAL heterofermentativa facultativa	BAL homofermentativa obligada	Levaduras
Tipo II	<i>Lactobacillus brevis</i>	-	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (añadida)
	<i>Lactobacillus frumenti</i>	-	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	
	<i>Lactobacillus pontis</i>	-	<i>Lactobacillus amylovorus</i>	-
	<i>Lactobacillus panis</i>	-	<i>Lactobacillus farciminis</i>	-
	<i>Lactobacillus reuteri</i>	-	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	-
	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	-	-	-
	<i>Weissella confusa</i>	-	-	-
Tipo III	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-	-
	-	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	-	-

Adaptada de De Vuyst y Neysens (2005), y Chavan y Chavan (2011).

Por otra parte, se han identificado en las masas madre BAL de los géneros *Enterococcus*, *Weissella*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Lactobacillus*, siendo este último el de mayor importancia, ya que se han aislado más de 60 especies del mismo. A pesar de la gran diversidad de BAL que han sido reconocidas, solo algunas especies de lactobacilos sobreviven al proceso de mantenimiento y ciclos de alimentación a los que son sometidos las masas madre. En general, las BAL heterofermentativas obligadas sobreviven a estos procesos debido a su capacidad para metabolizar carbohidratos, la asimilación de una variedad amplia de aminoácidos y por su resistencia al ambiente ácido, provocada por los ácidos generados por las mismas bacterias. Las especies *Lb. plantarum* y *Lb. sanfranciscensis* han sido identificadas como las BAL con mayor presencia y resistencia en las masas madre. Se ha reportado que alrededor del 50 % de las masas madre fermentadas presentan un crecimiento de este tipo de BAL durante los distintos ciclos de alimentación (Gänzle y Ripari, 2016).

A su vez, los ciclos de alimentación de las masas madre, los cuales consisten en la adición de nueva harina y agua a la masa una vez cumplido su tiempo de fermentación, han demostrado

que afectan de manera significativa la diversidad de la microbiota en este tipo de elementos. Investigaciones han demostrado que, a medida que aumentan los ciclos de alimentación, la diversidad de la microbiota en las masas madre disminuye de manera significativa, siendo las especies *Lb. plantarum* y *Lb. sanfranciscensis* las predominantes a partir del décimo día de alimentación, pues son las que presentaron mayor capacidad de adaptación y resistencia a este proceso (Minervini *et al.*, 2012; Lin y Gänzle, 2014; Gänzle y Ripari, 2016; Manini *et al.*, 2016). Por otra parte, se han aislado especies como *Lb. brevis*, *Lb. paralimentarius*, *Lb. fermentum* y *Lb. casei*; pero han demostrado tener una baja capacidad para adaptarse al medio después de varios ciclos de alimentación de la masa madre (De Vuyst y Neysens, 2005; Gänzle y Ripari, 2016; Manini *et al.*, 2016).

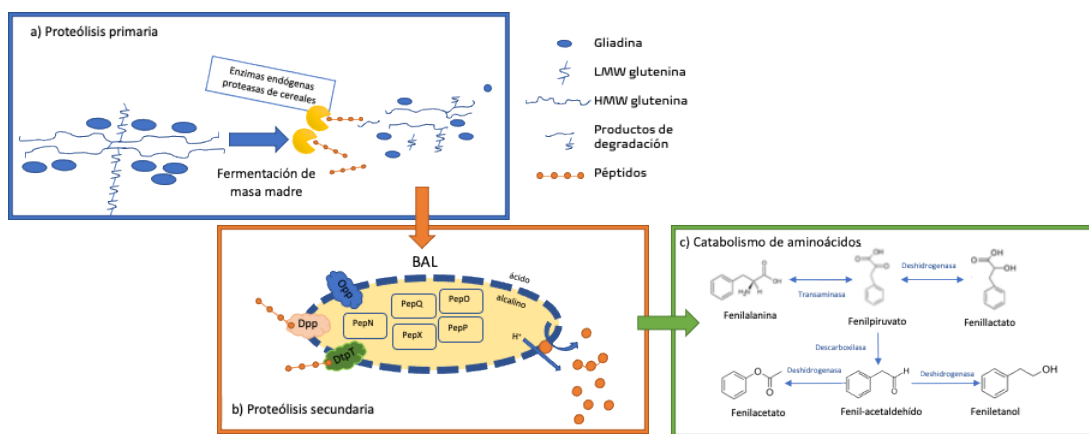
### 2.3. Rutas metabólicas de las bacterias ácido lácticas durante la fermentación de masas madre

Las rutas metabólicas o los procesos que ocurren durante la fermentación ácido láctica dependen directamente del tipo de BAL presentes en la masa madre. A partir de la glucosa, las BAL homo-



Por otra parte, las BAL que han sido encontradas en las masas madre poseen proteasas, peptidasas y enzimas convertidoras de aminoácidos, que descomponen las proteínas de los cereales generando tanto compuestos con propiedades bioactivas, como otros que impactan de manera directa el sabor y aroma del pan. El sistema enzimático proteolítico de las BAL consiste en una serina-proteínasa localizada extracelularmente, sistemas de transporte específicos para di/tri-peptidos y oligopéptidos (>3 residuos de aminoácidos) y una multitud de peptidasas intracelulares (Chavan y Chavan, 2011; Gobetti *et al.*, 2014). La transfor-

mación de los aminoácidos por parte de las BAL a compuestos que mejoran el sabor y olor en los panes se produce por reacciones de transaminación (figura 1), que requiere la presencia de un aceptor de electrones y de un grupo amino, preferiblemente  $\alpha$ -cetoglutarato. Finalmente, las BAL tienen la capacidad de catabolizar distintos aminoácidos libres, como en el caso de la reacción catabólica que involucra a la fenilalanina, en la cual las enzimas catabólicas de las BAL generan distintos compuestos bioactivos como el fenilactato y el fenilacetato (figura 2) (Chavan y Chavan, 2011; Gobetti *et al.*, 2014).



**Figura 2.**

Metabolismo de las proteínas llevado a cabo por las bacterias ácido lácticas (BAL) durante la fermentación de las masas madre. Adaptada de Gobetti *et al.* (2014).

### 3. Masas madre y su efecto en las características fisicoquímicas del pan

Se ha observado que los procesos de fermentación de las masas madre juegan un papel relevante en el perfeccionamiento de las características organolépticas del pan. Se ha demostrado que los compuestos formados en las fermentaciones ácido lácticas y su concentración se encuentran directamente relacionados

con la mejora de los sabores, aromas y textura del pan (Chavan y Chavan, 2011; Pétel *et al.*, 2017; Siepmann *et al.*, 2019).

#### 3.1. Textura

En general, la fermentación de las masas madre afecta a la reología de la masa en dos niveles; en la propia masa madre y en la masa final que es adicionada con masa madre (Chavan y Chavan,

2011). Se han realizado diversos estudios sobre el efecto que tiene la adición de masa madre a la formulación de pan en las características de textura finales; se ha observado que este proceso disminuye la resistencia a la extensión y la elasticidad de la masa, y aumenta el grado de ablandamiento, lo cual favorece la obtención de un miga con más capacidad de retención de  $\text{CO}_2$  (mayor número de alveolos y de mayor tamaño), una corteza más firme y de mejor textura. Estos cambios, tanto en la estructura de la miga como en la de la masa, han sido atribuidos por varios autores a la proteólisis de las proteínas del gluten provocada más que nada por el aumento de la acidez, gracias a la formación de los ácidos orgánicos durante la fermentación de la masa madre (Di Cagno *et al.*, 2002; Jekle y Becker, 2012; Nutter *et al.*, 2019; Park *et al.*, 2006; Rizzello *et al.*, 2010; Siepmann *et al.*, 2019; Torrieri *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2020).

Por otra parte, muchas de las BAL asociadas a las masas madre, especialmente del género *Lactobacillus*, producen una variedad de exopolisacáridos (EPS) y oligosacáridos durante la fermentación ácido láctica de las mismas. Estos compuestos han demostrado la capacidad para funcionar como hidrocoloides y de esta manera mejorar las características de textura del pan durante el almacenamiento (Chavan y Chavan, 2011). Torrieri *et al.* (2014) evidenciaron que, además de la proteólisis del gluten, la adición de BAL productoras de EPS a la masa madre también mejoró de manera significativa la textura durante el almacenamiento. De igual forma, observaron que los panes adicionados con masas madre fermentadas con este tipo de BAL presentaban un mayor contenido de humedad y mejores propiedades mecánicas, lo cual puede ser una alternativa para disminuir el proceso de envejecimiento de este producto (Torrieri *et al.*, 2014).

### 3.2. Sabor y olor

Los olores y sabores se generan en la masa madre debido, sobre todo, a procesos enzimáticos y microbianos durante la fermentación de estas masas. Dichos compuestos pertenecen a diferentes clases químicas como aldehídos, ácidos, alcoholes, cetonas, ésteres y pirazinas. Con respecto a los sabores y olores provenientes de las materias primas, estos son insignificantes cuando son comparados con los generados durante el proceso de fermentación; sin embargo, existen otros compuestos aromáticos y de sabor que se producen a partir de los procesos de oxidación de lípidos y reacciones de Maillard (Pétel *et al.*, 2017).

En general, hay dos categorías de compuestos de sabor y aroma que se producen durante la fermentación ácido láctica de las ma-

sas madre; la primera contempla compuestos no volátiles, como los ácidos orgánicos (ácido láctico, ácido acético, ácido feniláctico y ácido fenilacético) que se forman gracias a la acción de las BAL; y los compuestos volátiles que incluyen alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y compuestos azufrados, que se forman durante las etapas de fermentación y horneado del pan (Chavan y Chavan, 2011; Pétel *et al.*, 2017). Es importante mencionar que la generación de los compuestos aromáticos y de sabor está estrechamente relacionada a factores como el tipo de BAL, la temperatura, el pH y el contenido de humedad, ya que estos influyen de manera directa en la actividad metabólica de los microorganismos, y por consecuencia afectan la concentración final de los compuestos aromáticos y de sabor (Chavan y Chavan, 2011).

Siepmann *et al.* (2019) observaron que al cambiar la temperatura de fermentación (de 28 a 35 °C) en masas madre adicionadas con *Lb. brevis* y *Lb. plantarum*, los panes adicionados con las masas fermentadas a 35 °C presentaban la formación de furfurales, compuestos asociados con aromas almendrados. Por otra parte, los panes elaborados con la masa madre fermentada a 28 °C no presentaron la formación de estos compuestos, lo cual demuestra que la temperatura de fermentación en la masa madre es importante para la formación de compuestos volátiles que repercuten en el sabor y aroma del pan. De igual forma, comprobaron que el tipo de BAL influye significativamente en la generación de sabores y olores finales en el pan; estos investigadores evidenciaron que masas madre fermentadas con *Lb. reuteri*, *Lb. plantarum* y *Lb. amylovorus* generaban una mayor diversidad de compuestos de sabor y olor en el pan, en comparación con los panes adicionados con masas madre fermentadas con *Lb. brevis* y *Lb. plantarum*. Finalmente, Siepmann *et al.* (2019) determinaron que tanto el cultivo iniciador como la temperatura de fermentación de la masa madre ejercen un efecto significativo sobre el aroma y sabor final del pan.

Por otra parte, existen diversas investigaciones en las cuales se han llevado a cabo diferentes análisis sensoriales para conocer la aceptabilidad de distintos tipos de panes adicionados con masas madre. En general, se ha observado que la adición de 20 a 30 % de masa madre a la formulación del pan aumenta la aceptabilidad tanto de textura como de sabor, en comparación con panes elaborados únicamente con levadura. Estos resultados demuestran que los compuestos aromáticos formados durante el proceso de fermentación de las masas madre ayudan a mejorar la aceptabilidad sensorial de los productos de panadería (Park *et al.*, 2006; Rizzello *et al.*, 2010; Cizeikiene *et al.*, 2013; Samapundo *et al.*, 2017).

### 3.3. Vida útil

Se ha demostrado que las BAL, durante el proceso de fermentación ácido láctica, producen compuestos bioactivos con capacidad antimicrobiana. Se han reportado sustancias como ácidos grasos de cadena corta, compuestos peptídicos, diacetilo, peróxido de hidrógeno y ácidos orgánicos con potencial para la inhibición tanto de bacterias patógenas como de mohos importantes en los alimentos (Coda *et al.*, 2008; Luz *et al.*, 2017; Muhialdin *et al.*, 2018; Rizzello *et al.*, 2011; Schmidt *et al.*, 2018; Shehata *et al.*, 2019; Arrijoja-Bretón *et al.*, 2020). Algunos de estos compuestos se han identificado y aislado en las masas madre, lo que ha dado pie a diversas investigaciones sobre la capacidad que puede presentar la adición de masas madre contra el crecimiento de mohos en el pan, lo cual extendería la vida útil del producto.

Asimismo, se han realizado investigaciones sobre la capacidad que presenta la masa madre, como aditivo, para extender la vida útil de los productos de panadería. En la tabla I se muestran algunos ejemplos de los estudios llevados a cabo en los últimos años. En general se ha demostrado que la adición de 20 % (p/p) de masa madre a la formulación del pan aumenta seis días en promedio la vida útil del producto. Mientras, Garofalo *et al.* (2012) observaron que la adición de 30 % (p/p) de masa madre

en la formulación del pan aumentaba de manera considerable la vida de anaquel del producto, alcanzando mejoras de 19 a 21 días (tabla II). Por otra parte, el tipo de BAL responsable de la fermentación de la masa madre afecta la efectividad en el aumento de la vida útil del pan. Como se puede observar en la tabla II, las masas madre fermentadas con *Lb. amylovorus*, *Lb. rossiae* y una mezcla de *Lb. rossiae* y *Lb. paralimentarius* presentaron la mayor capacidad de aumento de la vida útil del producto final.

Además del crecimiento de mohos, el fenómeno del envejecimiento del pan (retrogradación del almidón y pérdida de humedad) es uno de los factores determinantes para la vida útil de este tipo de productos. Torrieri *et al.* (2014) advirtieron que la adición de 30 % de masa madre fermentada con BAL formadoras de exopolisacáridos a la formulación del pan ayudaba a disminuir la velocidad de pérdida de humedad del producto con el ambiente y tenía un efecto sobre la cinética de retrogradación del almidón. Los investigadores atribuyeron estos resultados a la producción de ácidos orgánicos, la hidrólisis bacteriana (por las BAL) de las moléculas de almidón y la proteólisis de las subunidades de gluten. Finalmente, concluyeron que la adición de masas madre a la formulación del pan podría ser una alternativa para elaborar productos de panadería libres de aditivos sintéticos.

**Tabla II.** Resultados de mejora de la vida útil del pan observados con la adición de masas madre fermentadas por distintos tipos de bacterias ácido lácticas (BAL)

BAL en masa madre	% Adición de masa madre (p/p)	*Mejora en la vida útil	Referencia
<i>Lb. plantarum</i>	20	2 días	Ryan, Dal Bello y Arendt (2008); Ryan <i>et al.</i> (2011)
<i>Lb. sanfranciscensis</i>	20	2 días	
<i>Lb. amylovorus</i>	20	9 días	
<i>Lb. sakei</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> y <i>Pediococcus pentosaceus</i>	20	6 días	Cizeikiene <i>et al.</i> (2013)
<i>Lb. plantarum</i>	20	1 día	Luz <i>et al.</i> (2019)
<i>Lb. bulgaricus</i>	20	2 días	
<i>Lb. plantarum</i> , <i>L. reuteri</i> y <i>Lb. brevis</i>	30	6 días	Gerez <i>et al.</i> (2009)
<i>Lb. rossiae</i>	30	21 días	Garofalo <i>et al.</i> (2012)
<i>Lb. paralimentarius</i>		8 días	
<i>Lb. rossiae</i> y <i>Lb. paralimentarius</i>		19 días	

\* En comparación con panes control que no presentaban la adición de algún agente antimicrobiano.

#### 4. Propiedades de extractos de compuestos bioactivos de masa madre

Los estudios sobre extractos obtenidos a partir de las masas madre se centran en el análisis de la capacidad bioactiva que presentan principalmente los compuestos peptídicos y los ácidos orgánicos formados a partir de la fermentación de BAL en las masas. La obtención de estos extractos y sus distintas fracciones se lleva a cabo a partir del método Osborne (1907) y una separación física por medio de centrifugación; la separación e identificación de los compuestos presentes en dichos extractos comúnmente se obtiene por medio de distintas técnicas instrumentales basadas en la cromatografía (Rizzello *et al.*, 2011; Luz *et al.*, 2019).

Con respecto a los compuestos peptídicos, las peptidasas de las bacterias ácido lácticas presentes en la masa madre participan en la proteólisis secundaria (figura 2) al liberar aminoácidos libres, que a su vez son sometidos a diversas reacciones catabólicas por los mismos microorganismos. Estos compuestos peptídicos, que generalmente aumentan durante la fermentación ácido láctica, son fragmentos de proteínas nativas con secuencias de aminoácidos que pueden tener un impacto positivo como agentes antimicrobianos, antioxidantes y antiinflamatorios (Coda *et al.*, 2008, 2012; Malaguti *et al.*, 2014; Li y Yu, 2015; Zou *et al.*, 2016; Galli *et al.*, 2018).

De igual forma, los ácidos orgánicos identificados y aislados en los extractos de las masas madre presentan propiedades bioactivas, sobre todo funcionando como agentes antimicrobianos en contra de bacterias patógenas importantes en alimentos y mohos característicos del deterioro de los productos de panadería. Esta propiedad genera que los extractos puedan ser utilizados como conservadores «naturales» en el desarrollo de productos libres de aditivos sintéticos o de etiqueta limpia, y de esta manera satisfacer las demandas de los consumidores (Cizeikiene *et al.*, 2013; Demirbaş *et al.*, 2017; Luz *et al.*, 2017; Schmidt *et al.*, 2018).

##### 4.1. Compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas

Como se mencionó anteriormente, los ácidos orgánicos y compuestos peptídicos formados durante la fermentación ácido láctica de las masas madre han demostrado tener una capaci-

dad antimicrobiana cuando son utilizados como compuestos puros, de manera individual o conjunta, en estudios *in vitro* (Ryan *et al.*, 2008; Cizeikiene *et al.*, 2013; Muhialdin *et al.*, 2018; Shehata *et al.*, 2019; Garnier *et al.*, 2020). Por esta razón, se han realizado diversas investigaciones sobre la capacidad antifúngica que presentan, no solo los compuestos puros, sino los extractos acuosos obtenidos a partir de masas madre sobre las especies de mohos representativos del deterioro del pan; en la tabla III se muestran los compuestos bioactivos identificados en los extractos de masas madre que han presentado una actividad antifúngica *in vitro* contra algunos mohos.

Ácidos orgánicos como el ácido láctico, acético y feniláctico identificados en masas madre fermentadas con *Lb. reuteri*, *Lb. plantarum* y *Lb. brevis* presentaron un efecto antifúngico significativo disminuyendo el crecimiento radial de mohos como *Fusarium graminearum* y *Aspergillus niger* (tabla III). A su vez, al ser incorporadas estas masas madre a la formulación del pan, ayudaron a aumentar la vida de anaquel del producto en siete días con respecto a panes control (Gerez *et al.*, 2009). De igual forma, Axel *et al.* (2016) y Luz *et al.* (2019) identificaron otro tipo de ácidos orgánicos, los cuales inhibían el crecimiento de mohos en la superficie del pan y de esta manera incrementaban la vida de anaquel del producto (tabla III).

Por otra parte, han sido reconocidos algunos compuestos peptídicos en masas madre fermentadas con BAL (tabla III); estos han presentado la capacidad para inhibir el crecimiento de mohos como *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium polonicum* y *Penicillium paneum* en rebanadas de pan. Además, se ha demostrado la capacidad de los compuestos peptídicos para aumentar hasta siete días la vida de anaquel en productos de panadería (Coda *et al.*, 2011; Rizzello *et al.*, 2011).

Asimismo, han sido aisladas bacteriocinas producidas por las BAL a partir de los extractos acuosos de masas madre. Una de las bacteriocinas distinguidas en estas masas es la reuteriicina, la cual es producida por la BAL *Lactobacillus reuteri* LTH2584; este compuesto ha demostrado tener una capacidad antibacteriana importante contra bacterias como *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* (Höltzel *et al.*, 2000). Otras bacteriocinas aisladas en extractos acuosos de masas madre con capacidad antibacteriana son la bavaricina A producida por *Lb. bavaricus* M1401, la plantaricina

**Tabla III.** Compuestos bioactivos identificados en masas madre fermentadas con distintas bacterias ácido lácticas (BAL) y su efecto contra mohos representativos del deterioro del pan

BAL identificada	Compuestos bioactivos identificados	Efecto antimicrobiano contra	Principales observaciones	Referencia
<i>Lb. reuteri</i> , <i>Lb. plantarum</i> y <i>Lb. brevis</i>	Ácido láctico, ácido acético y ácido feniláctico	<i>Fusarium graminearum</i> y <i>Aspergillus niger</i>	Inhibición en el crecimiento radial (>70 %) de <i>F. graminearum</i> y disminución (>40 %) del crecimiento radial de <i>A. niger</i> . Aumento de la vida de anaquel en panes adicionados con masa madre de 2-3 días con respecto a pan control.	Gerez <i>et al.</i> (2009)
<i>Lb. plantarum</i>	Secuencia de péptidos: SAFEFADHKGAYS, AAHFGSIFWNV GMKR, AEGEVILEDVQPSSVQS, y PPDVLTKLTAVPAAQQLDEADGHPR.	<i>Penicillium roqueforti</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i> y <i>Penicillium polonicum</i>	Aumento de la vida de anaquel del pan de siete días con respecto al control. Inhibición de crecimiento radial de los mohos entre 50-60 % en ensayos <i>in vitro</i> .	Coda <i>et al.</i> (2011)
<i>Lb. plantarum</i> y <i>Lb. rossiae</i> LB5	Compuestos peptídicos: Temporiina-Sha Temporina-1Gc Expansin-B4 (Q94LR4) Ácidos orgánicos: • Ácido láctico • Ácido fórmico • Ácido acético • Ácido feniláctico	<i>Penicillium roqueforti</i> , <i>Penicillium paneum</i> y <i>Aspergillus parasiticus</i>	Aumento de la vida de anaquel del pan de 7-14 días con respecto al control. Actividad inhibitoria de 40-45 % en contra de los mohos <i>P. roqueforti</i> , <i>P. paneum</i> y <i>A. parasiticus</i> .	Rizzello <i>et al.</i> (2011)
<i>Lb. reuteri</i>	Ácido 4-hidroxifeniláctico, ácido 2-hidroxi-isocaproico, ácido vainillínico y ácido 3-feniláctico	Mohos del ambiente	Aumento de la vida de anaquel en rebanadas de pan de 7-8 días con respecto al control.	Axel <i>et al.</i> (2016)
<i>Lb. brevis</i>	Ácido 2-hidroxi-isocaproico y ácido vainillínico	Mohos del ambiente	Aumento de la vida de anaquel en rebanadas de pan de 5-6 días con respecto al control.	
<i>Lb. plantarum</i>	Ácido gálico, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido siríngico	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Penicillium roqueforti</i> y <i>Fusarium moniliformis</i>	Aumento de la vida de anaquel en rebanadas de pan de 3-4 días con respecto al control.	Luz <i>et al.</i> (2019)
<i>Lb. bulgaricus</i>	Ácido sinapínico y ácido DL-3-feniláctico	<i>Fusarium moniliformis</i> y <i>Penicillium expansum</i>	Aumento de la vida de anaquel en rebanadas de pan de 4-5 días con respecto al control.	

ST31 producida por *Lb. plantarum*, y la BLIS C57 producida por *Lb. sanfranciscensis* C57. Si bien estas bacteriocinas no han sido aprobadas para su uso como aditivos antimicrobianos o antifúngicos, el estudio de su capacidad antimicrobiana y su seguridad en el uso en alimentos puede generar una alternativa para reemplazar el uso de sustancias antimicrobianas sintéticas como conservadores (Chavan y Chavan, 2011).

#### 4.2. Estudios sobre los efectos de los compuestos bioactivos sobre la vida útil del pan

A pesar de la existencia de diversas investigaciones sobre la capacidad antifúngica *in vitro* de compuestos bioactivos formados por las BAL aisladas de masas madre, sembradas en caldos de cultivo específicos a nivel laboratorio, son escasos los estudios sobre esta capacidad cuando son obtenidos a partir de extractos de masa madre e incorporados en el pan para analizar su vida útil (Cizeikiene *et al.*, 2013; Valerio *et al.*, 2016; Demirbaş *et al.*, 2017; Luz *et al.*, 2017; Schmidt *et al.*, 2018).

Coda *et al.* (2011) demostraron que la adición de los extractos acuosos de masas madre fermentadas con *Lb. plantarum* provocaba un aumento en tiempo de aparición de mohos en panes inoculados con *Penicillium roqueforti* y sin inocular, de siete y 21 días, respectivamente. Por otra parte, Rizello *et al.* (2011) observaron que la adición a la formulación del pan de 4 % (p/p) de extracto liofilizado obtenido de masas madre fermentadas con *Lb. rossiae* y *Lb. plantarum* inhibía el crecimiento de mohos por alrededor de 28 días de almacenamiento a temperatura ambiente. De igual manera, estos investigadores concluyeron que la actividad antifúngica del extracto se debía a la actividad sinérgica y compleja entre los ácidos orgánicos y los compuestos peptídicos formados durante la fermentación ácido láctica. Estos resultados abren la posibilidad de obtener compuestos antifúngicos a partir de los extractos de masas madre fermentadas, los cuales pueden ser elaborados con materias primas accesibles y de menor costo, y ser utilizados como antimicrobianos naturales en una gran gama de productos alimenticios.

## CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

Aunque sigue siendo un proceso tradicional, la adición de masas madre a la formulación de productos de panadería representa una opción eficaz para mejorar sus características. La utilización de estas masas como ingredientes en la formulación del pan mejora de manera significativa las características organolépticas del producto y ayuda a mantener su vida útil, disminuyendo la velocidad del proceso de envejecimiento. Estas mejoras se atribuyen principalmente a la formación de compuestos como ácidos orgánicos, compuestos peptídicos y/o exopolisacáridos durante la fermentación ácido láctica en la masa madre.

Otra ventaja atribuida al uso de las masas madre es su capacidad para prolongar la vida de anaquel del pan, debido a que los ácidos orgánicos y los compuestos peptídicos tienen una condición antimicrobiana que inhibe el crecimiento de los principales mohos que deterioran este producto. En este sentido, las investigaciones sobre el uso de los extractos que contienen los compuestos bioactivos para alargar la vida útil del pan han presentado resultados favorables; sin embargo, estos trabajos son insuficientes, por lo que complementar la información con nuevas investigaciones resulta relevante para la obtención de compuestos antimicrobianos naturales que puedan ser utilizados no solo en panadería, sino también en otros productos alimenticios.

## AGRADECIMIENTOS

R. H. Hernández Figueroa agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) —hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)— y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el financiamiento de sus estudios de posgrado y el apoyo para realizar este trabajo.

## REFERENCIAS

- Arrijoa-Bretón, D., Mani-López, E., Palou, E. y López-Malo, A. (2020). Antimicrobial activity and storage stability of cell-free supernatants from lactic acid bacteria and their applications with fresh beef. *Food Control*, 115. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107286>
- Axel, C., Brosnan, B., Zannini, E., Furey, A., Coffey, A. y Arendt, E. K. (2016). Antifungal sourdough lactic acid bacteria as biopreservation tool in quinoa and rice bread. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 86-94. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.006>
- Cauvain, S. P. y Young, L. S. (2003). Water control in baking. In *Bread Making: Improving Quality*, 447-466.
- Chavan, R. S. y Chavan, S. R. (2011). Sourdough Technology-A Traditional Way for Wholesome Foods: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(3), 169-182. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00148.x>
- Cizeikiene, D., Juodeikiene, G., Paskevicius, A. y Bartkiene, E. (2013). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread. *Food Control*, 31(2), 539-545. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.12.004>
- Coda, R., Cassone, A., Rizzello, C. G., Nionelli, L., Cardinali, G. y Gobbetti, M. (2011). Antifungal activity of *Wickerhamomyces anomalus* and *Lactobacillus plantarum* during sourdough fermentation: Identification of novel compounds and long-term effect during storage of wheat bread. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(10), 3484-3492. <https://doi.org/10.1128/AEM.02669-10>
- Coda, R., Rizzello, C. G., Nigro, F., De Angelis, M., Arnault, P. y Gobbetti, M. (2008). Long-term fungal inhibitory activity of water-soluble extracts of *Phaseolus vulgaris* cv. Pinto and sourdough lactic acid bacteria during bread storage. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(23), 7391-7398. <https://doi.org/10.1128/AEM.01420-08>
- Coda, R., Rizzello, C. G., Pinto, D. y Gobbetti, M. (2012). Selected lactic acid bacteria synthesize antioxidant peptides during sourdough fermentation of cereal flours. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(4), 1087-1096. <https://doi.org/10.1128/AEM.06837-11>
- Corsetti, A. y Settanni, L. (2007). Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Research International*, 40(5), 539-558. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.11.001>
- De Vuyst, L. y Neysens, P. (2005). The sourdough microflora: Biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science and Technology*, 16(1-3), 43-56. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.012>
- Demirbaş, F., İspirli, H., Kurnaz, A. A., Yilmaz, M. T. y Dertli, E. (2017). Antimicrobial and functional properties of lactic acid bacteria isolated from sourdoughs. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 361-366. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.067>
- Di Cagno, R., De Angelis, M., Lavermicocca, P., De Vincenzi, M., Giovannini, C., Faccia, M. y Gobbetti, M. (2002). Proteolysis by sourdough lactic acid bacteria: Effects on wheat flour protein fractions and gliadin peptides involved in human cereal intolerance. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 623-633. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.2.623-633.2002>
- Galli, V., Mazzoli, L., Luti, S., Venturi, M., Guerrini, S., Paoli, P., Vincenzini, M., Granchi, L. y Pazzagli, L. (2018). Effect of selected strains of lactobacilli on the antioxidant and anti-inflammatory properties of sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 286, 55-65. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.018>
- Gänzle, M. y Ripari, V. (2016). Composition and function of sourdough microbiota: From ecological theory to bread quality. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 19-25. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.004>
- García, M. V., Bernardi, A. O. y Copetti, M. V. (2019). The fungal problem in bread production: insights of causes, consequences, and control methods. *Current Opinion in Food Science*, 29, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.06.010>
- Garnier, L., Penland, M., Thierry, A., Maillard, M. B., Jardin, J., Coton, M., Leyva Salas, M., Coton, E., Valence, F. y Mounier, J. (2020). Antifungal activity of fermented dairy ingredients: Identification of antifungal compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 322. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108574>
- Garofalo, C., Zannini, E., Aquilanti, L., Silvestri, G., Fierro, O., Picariello, G. y Clementi, F. (2012). Selection of sourdough lactobacilli with antifungal activity for use as biopreservatives in bakery products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(31), 7719-7728. <https://doi.org/10.1021/jf301173u>
- Gerez, C. L., Torino, M. I., Rollán, G. y Font de Valdez, G. (2009). Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*, 20(2), 144-148. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.03.005>
- Gobbetti, M., Rizzello, C. G., Di Cagno, R. y De Angelis, M. (2014). How the sourdough

- may affect the functional features of leavened baked goods. *Food Microbiology*, 37, 30-40. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.012>
- Höltzel, A., Gänzle, M. G., Nicholson, G. J., Hammes, W. P. y Jung, G. (2000). The First Low Molecular Weight Antibiotic from Lactic Acid Bacteria: Reutericyclin, a New Tetramic Acid. *Angewandte Chemie International Edition*, 39(15), 2766-2768. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20000804\)39:15<2766::AID-ANIE2766>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20000804)39:15<2766::AID-ANIE2766>3.0.CO;2-G)
- Jay, J. M. (2005). Modern Food Microbiology. *Modern Food Microbiology*.
- Jekle, M. y Becker, T. (2012). Effects of Acidification, Sodium Chloride, and Moisture Levels on Wheat Dough: II. Modeling of Bread Texture and Staling Kinetics. *Food Biophysics*, 7(3), 200-208. <https://doi.org/10.1007/s11483-012-9258-7>
- Lai, H. M. y Lin, T. C. (2007). Bakery Products: Science and Technology. In *Bakery Products: Science and Technology*. <https://doi.org/10.1002/9780470277553.ch1>
- Li, Y. y Yu, J. (2015). Research Progress in Structure-Activity Relationship of Bioactive Peptides. *Journal of Medicinal Food*, 18(2), 147-156. <https://doi.org/10.1089/jmf.2014.0028>
- Lin, X. B. y Gänzle, M. G. (2014). Quantitative high-resolution melting PCR analysis for monitoring of fermentation microbiota in sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 186, 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.010>
- Luz, C., D'Opazo, V., Mañes, J. y Meca, G. (2019). Antifungal activity and shelf life extension of loaf bread produced with sourdough fermented by *Lactobacillus* strains. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(10). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14126>
- Luz, C., Saladino, F., Luciano, F. B., Mañes, J. y Meca, G. (2017). *In vitro* antifungal activity of bioactive peptides produced by *Lactobacillus plantarum* against *Aspergillus parasiticus* and *Penicillium expansum*. *LWT - Food Science and Technology*, 81, 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.053>
- Magan, N., Arroyo, M. y Aldred, D. (2003). Mould prevention in bread. In *Bread Making: Improving Quality*, 500-514.
- Malaguti, M., Dinelli, G., Leoncini, E., Bregola, V., Bosi, S., Cicero, A. F. G. y Hrelia, S. (2014). Bioactive peptides in cereals and legumes: Agronomical, biochemical and clinical aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 21120-21135. <https://doi.org/10.3390/ijms151121120>
- Manini, F., Casiraghi, M. C., Poutanen, K., Brasca, M., Erba, D. y Plumed-Ferrer, C. (2016). Characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat bran sourdough. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 275-283. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.045>
- Minervini, F., Lattanzi, A., De Angelis, M., Di Cagno, R. y Gobbetti, M. (2012). Influence of artisan bakery- or laboratory-propagated sourdoughs on the diversity of lactic acid bacterium and yeast microbiotas. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(15), 5328-5340. <https://doi.org/10.1128/AEM.00572-12>
- Muhaladin, B. J., Hassan, Z. y Saari, N. (2018). *In vitro* antifungal activity of lactic acid bacteria low molecular peptides against spoilage fungi of bakery products. *Annals of Microbiology*, 68(9), 557-567. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1363-x>
- Nutter, J., Saiz, A. I. y Iurlina, M. O. (2019). Microstructural and conformational changes of gluten proteins in wheat-rye sourdough. *Journal of Cereal Science*, 87, 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.03.006>
- Osborne, T. B. (1907). The proteins of the wheat kernel. Carnegie Institute, Washington D. C.
- Park, Y.-H., Jung, L.-H. y Jeon, E.-R. (2006). Quality Characteristics of Bread Using Sour Dough. *Preventive Nutrition and Food Science*, 11(4), 323-327. <https://doi.org/10.3746/jfn.2006.11.4.323>
- Pétel, C., Onno, B. y Prost, C. (2017). Sourdough volatile compounds and their contribution to bread: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 59, 105-123. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.015>
- Rizzello, C. G., Cassone, A., Coda, R. y Gobbetti, M. (2011). Antifungal activity of sourdough fermented wheat germ used as an ingredient for bread making. *Food Chemistry*, 127(3), 952-959. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.063>
- Rizzello, C. G., Nionelli, L., Coda, R., Di Cagno, R. y Gobbetti, M. (2010). Use of sourdough fermented wheat germ for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of the white bread. *European Food Research and Technology*, 230(4), 645-654. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1204-7>
- Ryan, L. A. M., Dal Bello, F. y Arendt, E. K. (2008). The use of sourdough fermented by antifungal LAB to reduce the amount of calcium propionate in bread. *International Journal of Food Microbiology*, 125(3), 274-278. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.013>
- Ryan, L. A. M., Zannini, E., Dal Bello, F., Pawlowska, A., Koehler, P. y Arendt, E. K. (2011). *Lactobacillus amylovorus* DSM 19280 as a novel food-grade antifungal agent for bakery products. *International Journal of Food Microbiology*, 146(3), 276-283. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.036>
- Sakandar, H. A., Hussain, R., Kubow, S., Sadiq, F. A., Huang, W. y Imran, M. (2019).

- Sourdough bread: A contemporary cereal fermented product. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(3), 1-15. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13883>
- Samapundo, S., Devlieghere, F., Vroman, A. y Eeckhout, M. (2017). Antifungal activity of fermentates and their potential to replace propionate in bread. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.043>
- Saranraj, P. y Sivasakthivelan, P. (2015). Microorganisms involved in spoilage of bread and its control measures. In *Bread and its Fortification: Nutrition and Health Benefits*, 132-149.
- Schmidt, M., Lynch, K. M., Zannini, E. y Arendt, E. K. (2018). Fundamental study on the improvement of the antifungal activity of *Lactobacillus reuteri* R29 through increased production of phenyllactic acid and reuterin. *Food Control*, 88, 139-148. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.041>
- Shehata, M. G., Badr, A. N., El Sohaimy, S. A., Asker, D. y Awad, T. S. (2019). Characterization of antifungal metabolites produced by novel lactic acid bacterium and their potential application as food biopreservatives. *Annals of Agricultural Sciences*, 64(1), 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.a0as.2019.05.002>
- Siepmann, F. B., Sousa de Almeida, B., Waszczynskyj, N. y Spier, M. R. (2019). Influence of temperature and of starter culture on biochemical characteristics and the aromatic compounds evolution on type II sourdough and wheat bread. *LWT* 108, 199-206. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.065>
- Su, X., Wu, F., Zhang, Y., Yang, N., Chen, F., Jin, Z. y Xu, X. (2019). Effect of organic acids on bread quality improvement. *Food Chemistry*, 278, 267-275. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.011>
- Torrieri, E., Pepe, O., Ventrino, V., Masi, P. y Cavella, S. (2014). Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 508-516. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.005>
- Valerio, F., Di Biase, M., Lattanzio, V. M. T. y Lavermicocca, P. (2016). Improvement of the antifungal activity of lactic acid bacteria by addition to the growth medium of phenylpyruvic acid, a precursor of phenyllactic acid. *International Journal of Food Microbiology*, 222, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.011>
- Zhao, Y., Zhang, J., Wei, Y., Ai, L., Ying, D. y Xiao, X. (2020). Improvement of Bread Quality by Adding Wheat Germ Fermented with *Lactobacillus plantarum* dy-1. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2020/9348951>
- Zou, T. Bin, He, T. P., Li, H. Bin, Tang, H. W. y Xia, E. Q. (2016). The structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins. *Molecules*, 21(1), 1-14. <https://doi.org/10.3390/molecules21010072>