

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍAS AGRARIAS

**UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
(CAMPUS DE PALENCIA)**

CURSO 2011-2012

DESARROLLO Y CARÁCTERIZACIÓN DE UNA NUEVA BEBIDA DE AVENA

**Máster de Calidad, Desarrollo e Innovación
de alimentos.**



Autor: Patricia Rojas

Tutor: Manuel Pallarés

INDICE

RESUMEN	pág. 1
INTRODUCCIÓN.....	pág. 2
MATERIALES Y MÉTODOS.....	pág. 9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	pág. 13
CONCLUSIONES.....	pág. 25
BIBLIOGRAFÍA.....	pág. 27

RESUMEN

En los últimos años han aumentado las enfermedades relacionadas con el tabaquismo, el estilo de vida sedentario, dietas altamente energéticas o no equilibradas. El sector de las bebidas es uno de los más preocupados por las necesidades del consumidor y por la búsqueda de nuevos mercados. Esto unido al aumento del consumo de alimentos funcionales hace pensar en una bebida como alimento para mejorar la dieta. Los extractos vegetales se están utilizando actualmente como alternativa los productos lácteos por la aceptación de los consumidores. Los cereales, en concreto la avena, parecen una alternativa viable para el desarrollo de una bebida debido a su alto contenido en fibras solubles (β -glucanos) e insolubles, por lo tanto se desarrolló una bebida a base de avena utilizando agua o leche como disolvente. Se estudió el efecto de disolvente, de cantidades de avena (3% o 5% de copos de avena) así como las variables del procesado (5 o 10 minutos, temperatura de 72 °C y 95 °C) sobre parámetros físico-químicos como pH, acidez, color, viscosidad y extracto seco. Se estudiaron además las propiedades viscosas y se estimó la vida útil de la bebida almacenada a 4°C. El disolvente resultó ser el factor más significativo en la caracterización de las medidas. Se demostró además que el aumento de copos de avena, así como la intensidad del procesado (tiempo y temperatura) aumentaba la extracción incrementando parámetros como la viscosidad y extracto seco. Se observó que las bebidas no sufrían gelatinización del almidón después del procesado y que la vida útil de las mismas será de entre 13 y 15 días.

Palabras clave: avena, bebida, pH, acidez, color, viscosidad, rva.

ABSTRACT

In the last years diseases related to smoking, exercise, inappropriate diet quality and energy intake have increased. Beverage business is one of the most worried about consumer needs and for changing the marketplace. Due to the increase of consumption of functional foods we have thought in a beverage like a healthier food. Actually, vegetal extracts are been used as an alternative to dairy because consumers acceptance. Cereals, oat in concrete, seem to be an alternative to develop a drink due to high content in soluble (β -glucans) and insoluble dietary fibre. So, an oat-based beverage has been developed using water or milk like solvent. Effect of solvent, oat quantity (3% or 5% oat flakes), just as process variables (5 or 10 minutes, temperature 72°C or 95 °C) have been studied. Parameters like pH, acidity, colour, viscosity and dried extract were measured. Pasting properties were studied too. Shelf life was estimated about drinks 4°C stored. Solvent was the most significant factor. An increase of quantity of oat flakes and process parameters shown to increase extraction and parameters like viscosity and dried extract. Beverages don't suffer gelatinization with warming after process and shelf life is about 13-15 days.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la prevalencia de los problemas de salud pública relacionados con el estilo de vida sedentario ha sido ampliamente discutida en los países desarrollados. La obesidad, diabetes tipo II y síndrome metabólico se han convertido en los problemas de salud más comunes que requieren muchos recursos de los servicios de salud pública (de Jong et al. 2003). Los factores relacionados con el estilo de vida como el ejercicio físico, tabaquismo, una dieta inapropiada en la calidad así como en la ingesta diaria de energía, muy altos en comparación con el consumo de energía, unidos a los factores hereditarios, son los factores de riesgo clave en estas enfermedades. Adicionalmente, como la esperanza de vida ha aumentado, el bienestar de la población envejecida es otro de los objetivos.

De este modo, la dieta es uno de los factores que pueden ser mejorados para disminuir los factores de riesgo de enfermedades relacionadas con la alimentación. Básicamente, los consumidores Europeos saben lo que los elementos pertenecientes a una dieta saludable, más frutas y verduras, menos grasas, dieta equilibrada y variada, así como las recomendaciones de los nutricionistas puede hacer variar los factores de riesgo (Menrad, 2003). Pero las tasas crecientes de morbilidad y de desórdenes alimenticios indican, que en la práctica, la población no sigue esas recomendaciones (Margetts et al. 1997).

El papel de los gobiernos es proporcionar objetivos nutricionales, pero la educación o las campañas informativas no son necesariamente efectivas en la mejora de los hábitos dietéticos. Por otro lado, será responsabilidad de la industria alimenticia proporcionar productos apropiados para los consumidores y así como comunicar sus beneficios. El desafío de los consumidores será construir una dieta con los productos disponibles en el mercado. (Bhaskaran et al. 2002)

Entre todos los componentes de la dieta, se ha investigado la importancia de la fibra en numerosos estudios. La ingesta de fibra ha sido relacionada con la reducción del riesgo de muchas enfermedades como cáncer de colon, enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo II (Lyly, 2006). Por lo tanto, puede ser considerada como uno de los componentes más importantes para promover una dieta saludable.

Sin embargo, la ingesta de fibra no es la adecuada en muchos de los países desarrollados y se está investigando en nuevas vías para mejorar su consumo. Los hábitos de los consumidores han cambiado y el consumo de alimentos procesados ha aumentado. La disminución de la ingesta de fibra puede ser debido a esto, ya que los alimentos pre-cocinados y procesados contribuyen significativamente a la ingesta de energía. Al mismo tiempo, el consumo de fuentes de fibra tradicionales está

disminuyendo. Por lo tanto, una de las posibilidades es desarrollar alimentos ricos en fibra en alimentos que tradicionalmente no eran fuente de fibra en la dieta como las bebidas (Sloan, 2001).

El negocio de las bebidas está tomando forma y tienen un potencial tremendo para futuros desarrollos. La industria de bebidas está centrada en los deseos del consumidor (Osborn et al. 2003). Tanto los consumidores como la industria están buscando alternativas para cambiar el mercado. Recientemente, dentro de las bebidas, se ha creado una nueva categoría, un nuevo negocio a través de nuevos productos innovadores. Además de las clases existentes como bebidas alcohólicas, refrescos, zumos y lácteos han aparecido nuevas terminologías como leches de sabores, bebidas energéticas, bebidas sustitutivas de comidas, productos dietéticos y bebidas funcionales se están haciendo populares dentro del mercado de las bebidas. Las bebidas de soja, de almendra, de arroz están ayudando a llenar el vacío entre leche y cereales. Todas estas categorías están disponibles en supermercados, restaurantes, máquinas expendedoras, etc.

La salud ha demostrado ser uno de los factores con más influencia dentro de las ventas de bebidas. El deseo de una buena salud y la preocupación por el consumo de refrescos ha llevado a los consumidores a los zumos y bebidas a base de zumos. Alternativas saludables como combinaciones de zumo/soja, zumo/fruta/lácteos, zumos/bebidas fortificadas han demostrado un gran aumento de consumo. El crecimiento del consumo de alimentos funcionales/ nutracéuticos ha sido atribuidos a diferentes factores como el interés de tener buena salud, aumento de la información entre dieta y salud, cambios en la legislación que afecta a las etiquetas y alegaciones nutricionales y al envejecimiento de la población.

Teniendo en cuenta el escenario actual y la importancia de los productos saludables, hacen pensar que las bebidas son una de las categorías que más llaman la atención del consumidor.

Los extractos vegetales pueden ser utilizados como sustitutos de la leche de vaca, representando una alternativa viable debido tanto a sus valores nutricionales como a su bajo coste de producción. (Soares et al. 2010). La malta, el trigo la cebada, avena o arroz también tienen el potencial innovador de las bebidas sin fermentar. Por lo tanto las bebidas de cereales hechas de trigo, cebada, avena o arroz ofrecen un perfil de sabor distinto pero agradable, combinado con elementos nutricionales de alta calidad, incluyendo fibra, oligosacáridos y micronutrientes.

Los cereales son un conjunto de granos comestibles de la gran familia de las herbáceas y pertenecientes al grupo de las monocotiledóneas, bautizadas botánicamente como Gramineae. Además del trigo, del cual existen miles de tipos y variedades del género *Triticum*, son también muy importantes el arroz, el maíz, la cebada, la avena, el centeno, el sorgo el mijo y el triticale, mezcla de trigo y centeno. Los cereales se conocen después de largo tiempo, ya que aportan al hombre principios nutritivos que no se pueden desdeñar tales como: glúcidos en gran cantidad, sustancias proteicas y minerales. En muchos países el 70% o más de la energía de la dieta se obtiene a partir de los cereales, y a nivel global la dependencia es mucho mayor de lo que reportan las estadísticas. El interés creciente que ha despertado entre los consumidores los beneficios para la salud derivados de una dieta rica en fibra, ha enfatizado la importancia de desarrollar productos enriquecidos en fibra. Los cereales contienen ingredientes biológicamente activos y contribuyen al 50% de la ingesta de fibra en los países occidentales. (Gupta et al. 2010).

La avena (*Avena Sativa*) posee propiedades nutricionales equilibradas en términos de fibra (β -glucanos, arabinosa y celulosa), proteínas, ácidos grasos, vitaminas y minerales. (Muñoz-Insa et al. 2011). Durante la Edad Media, la avena era considerada el cereal más importante pero a lo largo de los siglos fue perdiendo popularidad y fue desplazada por otros cereales. Sin embargo, se ha observado un aumento de la popularidad de la avena debido a sus propiedades saludables. Para el colectivo celiaco, la avena resulta ser un cereal interesante. Existen estudios que han demostrado que la mayoría de los celíacos pueden tolerar la avena aunque sigue habiendo un 5% que rechaza las prolaminas de la misma. (Adams, 2008).

El componente mayoritario de la avena son los carbohidratos, particularmente el almidón. El siguiente constituyente, cuantitativamente hablando es la fibra (Dendy et al. 2008). Al contrario que en la mayoría de los cereales, la cascarilla representa un gran contenido del grano de avena. Debido a la gran cantidad de fibra cruda que contiene la cascarilla, la avena entera o descascarillada tiene menor digestibilidad que otros cereales y por lo tanto el contenido de energía metabolizable es menor. (Welch, 1995). Los alimentos vegetales tienen gran cantidad de antioxidantes. Al contrario de lo que ocurre en otros cereales como trigo o arroz, la avena suele ser consumida en grano entero, esto hace que la mayor parte de la porción rica en antioxidantes sea retenida. (Peterson, 2000).

Otro de los efectos beneficiosos de la avena es debido a su alto porcentaje de carbohidratos complejos, que son los pueden reducir el riesgo de ciertos cánceres y estreñimiento y además de promover el equilibrio de ácidos grasos. El ingrediente

reductor de colesterol en la avena es la fibra soluble. Ésta disminuye la absorción de azúcar desde el intestino al torrente sanguíneo. Además aumenta la sensibilidad de la célula a la insulina. Debido a estos beneficios, es de gran interés aumentar el consumo de productos de avena que contengan fibra soluble e insoluble (Sumangala et al. 2005). Según (Mannerstedt-Fogelfors, 2001) los β -glucanos (fibra soluble) constituyen en torno al 3.0-6.4% de la fracción soluble en la avena. Si se compara con la cebada, el contenido de β -glucanos es menor pero la fracción soluble es mayor lo cual es importante para el caso de la fabricación de una bebida de avena. La matriz parece ser un factor importante en la efectividad de los beneficios de los β -glucanos y el efecto hipocolesterolemiante parece ser mayor cuando los β -glucanos son consumidos como bebida (Kivelä, et al. 2009) por lo tanto, las bebidas a base de avena han adquirido un interés creciente en el mercado actual. (Zhang et al.2007).

La leche es un alimento básico que tiene la función primordial de satisfacer los requerimientos nutricionales del recién nacido. Y lo consigue gracias a su mezcla en equilibrio de proteínas, grasa, carbohidratos, sales y otros componentes menores dispersos en agua. Nutricionalmente presenta una amplia gama de nutrientes (de los que sólo el hierro está a niveles deficitarios) y un alto aporte nutricional en relación con el contenido en calorías; hay buen balance entre los constituyentes mayoritarios: grasa, proteínas y carbohidratos. Los productos lácteos derivados pueden cubrir tanto diferentes hábitos de consumo como muy distintos usos de interés nutricional. La leche de vaca contiene de 3-3,5 por ciento de proteínas, distribuida en caseínas, proteínas solubles o seroproteínas y sustancias nitrogenadas no proteicas. Son capaces de cubrir las necesidades de aminoácidos del hombre y presentan alta digestibilidad y valor biológico. Además del papel nutricional, se ha descrito su papel potencial como factor y modulador del crecimiento. Los lípidos figuran entre los constituyentes más importantes de la leche por sus aspectos económicos y nutritivos y por las características físicas y organolépticas que se deben a ellos. La leche entera de vaca se comercializa con un 3,5 por ciento de grasa, lo cual supone alrededor del 50 por ciento de la energía suministrada. Los componentes fundamentales de la materia grasa son los ácidos grasos, ya que representan el 90 por ciento de la masa de los glicéridos. La lactosa es el único azúcar que se encuentra en la leche en cantidad importante (4,5 por ciento) y actúa principalmente como fuente de energía. Se ha observado un efecto estimulante de la lactosa en la absorción de calcio y otros elementos minerales de la leche. Además, la leche de vaca contiene alrededor de 1 por ciento de sales. Destacan calcio y fósforo. El calcio es un macronutriente de interés, ya que está implicado en muchas funciones vitales por su alta

biodisponibilidad así como por la ausencia en la leche de factores inhibidores de su absorción. También es fuente importante de vitaminas para niños y adultos. La ingesta recomendada de vitaminas del grupo B (B1, B2 y B12) y un porcentaje importante de las A, C y ácido pantoténico se cubre con el consumo de un litro de leche (Lönnerdal, 2003).

Debido a los conocidos beneficios de la avena, sin olvidar las propiedades nutricionales de la leche de vaca, el objetivo del presente estudio será el desarrollo de una bebida a base de avena utilizando agua o avena como disolvente. Se combinarán además diferentes porcentajes de avena así como temperaturas y tiempo de procesado, además de calcular el tiempo de vida útil de dicha bebida. Además se caracterizará físico-químicamente mediante las medias de pH, acidez, color, viscosidad y extracto seco. También se observará la variación de la viscosidad con la temperatura con el objetivo de comprobar la gelatinización del almidón así como la evolución del pH y color a lo largo del tiempo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materias Primas

La avena (*Avena Sativa*) se consiguió en un mercado local en forma de copos. Se utilizó sacarosa de la marca Acor, Valladolid, España y leche entera de la marca Hacendado, Valencia, España. Además se utilizó agua mineral de la marca Día, Madrid, España.

Otros reactivos utilizados como NaOH, HCl solución volumétrica 1M, fenolftaleína, tampón pH 4 y 7 fueron de la marca Panreac, Barcelona, España.

2.2. Preparación de la bebida

Se añaden copos de avena al agua mineral o leche entera, previamente calentados a la temperatura de ensayo, en diferentes concentraciones 3.0 y 5.0% (p/v). Se añade además sacarosa al 1,5% (p/v). Se eligen estos porcentajes de avena y sacarosa basándonos tanto en estudios previos (Angelov et al. 2005, Angelov et al. 2006) como en pruebas previas realizadas antes de estos experimentos. Las pruebas se realizaron manteniendo las mezclas a las temperaturas de 72 y 95 °C durante 5 y 10 minutos. Para calentar el agua o leche a 72 °C y 95 °C se utilizó un microondas MW3 de la marca Fagor, Guipúzcoa, España). Para mantener las bebidas a las temperaturas seleccionadas se utilizaron baños termostáticos. Se filtró y enfrió las bebidas a 20°C y se almacenó a 4°C. Como se puede ver en la tabla 1, todos los ensayos por duplicado y aleatoriamente.

2.3. Métodos de análisis

Las bebidas se atemperaron a 20°C. Las medidas se realizaron en un periodo de tiempo de 3 ± 1 horas excepto el extracto seco y RVA que se realizaron entre las 24-48 h siguientes. En el transcurso de tiempo entre la elaboración de la bebida y la determinación de los diferentes parámetros, las bebidas se mantuvieron a 20°C excepto en el caso de los análisis de extracto seco y RVA, en cuyo caso se mantuvieron refrigeradas y luego se atemperaron antes de los análisis. Para el estudio de vida útil las medidas se realizaron en los días 2, 8, 10 y 14.

2.3.1. Determinación de pH

La determinación de pH se llevó a cabo con un pHmetro pH 2000 de Crison Instruments, S.A, Barcelona, España, a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. La medida del pH se realizó por duplicado. La calibración de pHmetro fue diaria y se realizó con tampón pH 4 y 7.

Tabla 1.

Identificación de las bebidas realizadas con su contenido de avena, disolvente utilizado y tiempo y temperatura a las que fueron sometidas.

experimento	% avena	disolvente	tiempo	temperatura
1	3	AGUA	5	72
2	3	AGUA	10	72
3	5	AGUA	5	72
4	5	AGUA	10	72
5	3	AGUA	5	95
6	3	AGUA	10	95
7	5	AGUA	5	95
8	5	AGUA	10	95
9	3	LECHE	5	72
10	3	LECHE	10	72
11	5	LECHE	5	72
12	5	LECHE	10	72
13	3	LECHE	5	95
14	3	LECHE	10	95
15	5	LECHE	5	95
16	5	LECHE	10	95
17	3	AGUA	5	72
18	3	AGUA	10	72
19	5	AGUA	5	72
20	5	AGUA	10	72
21	3	AGUA	5	95
22	3	AGUA	10	95
23	5	AGUA	5	95
24	5	AGUA	10	95
25	3	LECHE	5	72
26	3	LECHE	10	72
27	5	LECHE	5	72
28	5	LECHE	10	72
29	3	LECHE	5	95
30	3	LECHE	10	95
31	5	LECHE	5	95
32	5	LECHE	10	95

2.3.2. Determinación de acidez valorable

La acidez valorable se llevó a cabo mediante la valoración de 10 ml de muestra diluidas a 50 ml con agua destilada con NaOH 0,1 N y fenolftaleína como indicador (Angelov 2005). La medida de la acidez se realizó por duplicado. La solución de NaOH 0,1 N se preparó el primer día de análisis y se tituló diariamente. La acidez fue expresada en mg/l.

2.3.3. Color

El color fue medido utilizando las coordenadas CIELAB L^* , a^* , b^* (L^* ; luminosidad, a^* ; rojo-verde, b^* ; amarillo-azul). La medida se realizó con un espectrofotómetro CN 508 i Minolta, NJ, USA., utilizando como iluminante patrón D_{65} y como observador 10° . Se colocaron 30 ml de cada muestra en placas petri de plástico para la medida del color. La medida se tomó por la parte inferior de la placa para asegurar el contacto de la muestra con la placa. Las medidas se realizaron por triplicado el primer día de análisis y por duplicado para el seguimiento.

2.3.4. Viscosidad

La viscosidad fue medida con un viscosímetro rotatorio DVII + de Brookfield, Massachusetts, USA., a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ utilizando el husillo nº 1 a una velocidad de 100 rpm. Se utilizó 250 ml de muestra para cada determinación.

2.3.5. Extracto seco

Se determinó mediante el secado de 10 g de muestra a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 h. Se utilizaron placas de acero inoxidable de 5 cm de diámetro. Las medidas se realizaron por duplicado.

2.3.6. Propiedades viscosas

Para la determinación de las propiedades viscosas se utilizó un analizador rápido de viscosidad (Rapid Visco Analyzer RVA-4) de Newport Scientific Pty Ltd., Warriewood, Australia. Para la determinación se utilizó el método estándar rva de Newport Scientific. El ciclo de calentamiento fue de 50 a 95°C en 282 s, mantenimiento a 95°C durante 150 s y posterior enfriamiento a 50°C . Cada ciclo se inició con una mezcla durante 10 s utilizando una velocidad de paddle de 960 rpm, y 160 rpm se utilizan para el resto de los análisis. (Gómez M. et al.

2007). Los análisis se llevaron a cabo utilizando 30 ml de muestra en un canister de aluminio.

2.4. Estimación de la vida útil

La vida útil de la bebida de avena se definió como el periodo de almacenamiento refrigerado (4-6°C) en el que el la variación de pH se mantiene dentro del 10% del pH de la bebida el día de su elaboración (pH_0) Se llevó un almacenamiento refrigerado durante 14 días con observaciones periódicas (días 2, 8, 10 y 14) de pH y color.

2.5. Análisis estadístico

Cada experimento fue realizado por duplicado. Los resultados representan las medias con las desviaciones estándar. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza multifactorial (ANOVA) con al menos una diferencia significativa del 95%. El análisis estadístico fue realizado con Statgraphics Plus V5.1 (Statsoft Inc., USA).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estudió el efecto de los diferentes factores (concentración de avena, disolvente, temperatura y tiempo) sobre los diferentes parámetros físico-químicos analizados. Como se puede ver en la tabla 2, el único factor que tiene efecto significativo sobre todos los parámetros es el disolvente. La cantidad de avena utilizada lo tiene sobre las componentes de color, viscosidad y extracto seco. El factor tiempo resulta ser estadísticamente significativo tanto para la viscosidad como para el extracto seco y la temperatura tiene efecto sobre viscosidad, extracto seco y acidez.

Tabla 2.

Efectos significativos de primer orden sobre los parámetros de la bebida de avena.

Parámetros	Media	Nivel ^a	Disolvente	% avena	tiempo	Temperatura
pH	6,58	1	6,75**			
		-1	6,41**			
acidez	8,50	1	1,44***			8,90**
		-1	15,57***			8,10**
L*	65,60	1	42,86***	66,72***		
		-1	88,35***	64,48***		
a*	-1,05	1	-0,62***	-1,13*		
		-1	-1,48***	-0,97*		
b*	2,44	1	-3,29***	2,67*		2,20*
		-1	8,18***	2,21*		2,68*
viscosidad	16,7	1	14,2***	18,0***	17,6**	18,8***
		-1	19,1***	15,3***	15,7**	14,6***
extracto seco	8,1357	1	2,6331***	8,4230*	8,3695*	8,3595*
		-1	13,6383***	7,8484*	7,9019*	7,9119*

^a Los niveles (1, -1) de los factores son; para el disolvente, agua (1), leche (-1); para el % de avena, 5% (1), 3% (-1); para el tiempo de cocción, 10 minutos (1), 5 minutos (-1) y para la temperatura de cocción 95°C (1), 72°C (-1).

* p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

3.1. Efecto del disolvente

Para la preparación de las bebidas se eligieron el agua y la leche como disolventes. El agua se escogió por ser el disolvente universal y la leche tanto por su aceptación organoléptica así como por sus propiedades nutricionales.

La variación del disolvente resulta ser estadísticamente significativa en todas las variables independientes.

El pH se ve afectado por el disolvente utilizado, siendo mayor el pH medio en el caso del agua (6,745^b) que para la leche (6,4075^a). Esto es debido que los pH de los disolventes ya son diferentes de partida. Al igual que en el caso del pH, la

acidez presenta diferencias estadísticamente significativas con la variación del disolvente. La acidez y el pH y acidez son medidas relacionadas. El pH representa el logaritmo negativo de la concentración de iones hidronio libres en solución ($\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$) y la acidez indica el contenido de ácidos libres (mg/l). Con las medidas de pH se observa que la leche es más ácida que el agua y por lo tanto la acidez será mayor ($15,5738^b$ mg/l para la leche y $1,43688^a$ mg/l para el agua).

Las componentes del color CIELAB L^* , a^* , b^* (L^* ; blancura, a^* ; rojo-verde, b^* ; amarillo-azul) se analizaron por separado. El disolvente afecta significativamente a todas ellas, agua ($42,855^a$, $-0,62^b$, $-3,2887^a$) y leche ($88,3481^b$, $-47,938^a$, $8,16812^b$). Se representan gráficamente las medias de las componentes a^* , b^* de las bebidas realizadas con agua y con leche en la figura 1. La representación de las componentes a^* y b^* de las medias de las bebidas a base de leche están en el 4º cuadrante, el color estaría entre amarillo y verde por lo tanto azul y en el caso de las realizadas con agua en el 3º cuadrante entre azul y verde. Para entender esto además hay que tener en cuenta las componentes de blancura. Para las bebidas a base de leche la componente L^* es muy alta ($88,3481^b$), por lo tanto son prácticamente blancas. En el caso de las bebidas realizadas con agua, la media de la componente L^* es $42,855^a$, las bebidas no son tan blancas.

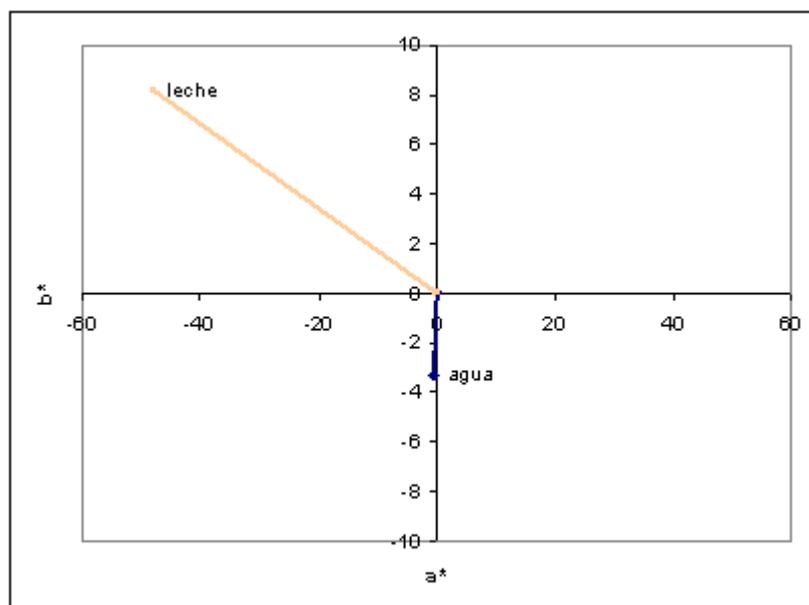


Fig.1. Representación de las coordenadas medias a^* y b^* de las bebidas realizadas con agua y con leche.

La viscosidad también se ve afectada significativamente por el disolvente, siendo la viscosidad mayor en el caso de las bebidas elaboradas con leche $19,075^b$ cp. vs $14,2313^a$ cp. las elaboradas con agua. La utilización de agua o leche para la

elaboración de las bebidas también tiene influencia en el extracto seco siendo mayor, al igual que ocurría con la viscosidad, para la leche (13,6383^b %) que para el agua (2,63306^a %). Al igual que en el caso del pH, esto viene determinado por la viscosidad y el extracto seco de los disolventes de partida ya que la leche presenta una viscosidad y extracto seco superiores a los del agua.

3.2. Efecto de la concentración de avena.

Se añadieron copos de avena al 3% y 5% con el objetivo de proporcionar a la bebida tanto el sabor como las propiedades saludables derivadas de la misma. A pesar de ser uno de los factores que más importantes se consideraron a la hora de la elaboración de la bebida, no tiene influencia estadísticamente significativa en variables como el pH o la acidez que, como anteriormente se ha discutido, son determinadas por el disolvente. Esto se puede deber a que la cantidad o naturaleza de sustancias extraídas no es suficiente como para variar significativamente el pH de los disolventes.

Sin embargo, la concentración de avena marca diferencias estadísticamente significativas en las tres componentes del color. La componente de blancura L* aumenta (se vuelve más blanca la bebida) al aumentar la concentración de copos de avena (66,7244^b para el 5% y 63,4877^a para el 3%). La componente a* disminuye ligeramente (-0,9725^b vs. -1,12688^a) al aumentar la concentración, la bebida toma tonos más verdosos y la componente b* aumenta al aumentar la concentración, las bebidas se vuelven más amarillentas (2,20875^a para el 3% vs. 2,67062^b para el 5%).

La viscosidad y el extracto seco también se ven afectados por la concentración de copos de avena. Al aumentar la concentración, aumentan la viscosidad (3%; 15,2937^a cp., 5%, 18,0125^b cp.) y extracto seco (3%, 7,84844^a %, 8,42296^b %). Esto indica que cuantos más copos de avena se utilizan en la elaboración, más extracto pasa a las bebidas viéndose afectados por lo tanto viscosidad y extracto seco. Además podemos concluir que los extractos que pasan no son en su mayoría termolábiles, ya que si esto ocurriese se vería afectada la viscosidad pero a la hora de la determinación del extracto seco se volatilizarían. Según los datos obtenidos, el porcentaje de copos de avena utilizados también afecta al color, por lo tanto el extracto debe ser coloreado y es esto lo que hace que se produzca una modificación del color en la bebida.

Si se comparan estos datos con las variaciones de viscosidad y extracto seco debidas al disolvente, podemos concluir que para la viscosidad, las variaciones producidas por el disolvente y por la concentración de avena son muy similares. No ocurre lo mismo en el caso del extracto seco, observándose pequeñas diferencias al aumentar la cantidad de copos de avena si se comparan con las variaciones obtenidas al utilizar los diferentes disolventes (13,6383^b % leche, 2,63306^a % agua). Esto es debido a que los extractos secos de los disolventes de partida son muy diferentes y no lo son tanto las viscosidades.

3.3. Efecto del tiempo y temperatura de procesado

Para la realización de este estudio se eligieron las temperaturas de 72°C y 95°C y los tiempos de 5 y 10 minutos partiendo de investigaciones previas (Angelov et al. 2005, Angelov et al. 2006, Rustom et al. 1996) así como de pruebas realizadas con anterioridad.

Se ha podido observar que la temperatura tiene efectos estadísticamente significativos en la acidez. Es mayor para las bebidas elaboradas a 95°C (8,9025^b) que a 72°C (8,10813^a). La temperatura también produce un efecto estadísticamente significativo en la variación del la componente b* de las bebidas, ocasionando un aumento de la misma al aumentar la temperatura, a 72°C -2,6775^b y a 95°C -2,20187^a. La bebida, se vuelve más amarillenta al aumentar la temperatura de procesado.

El aumento de la intensidad del procesado, más tiempo y más temperatura, afecta significativamente a la viscosidad y extracto seco de las disoluciones. Al aumentar la temperatura, aumenta la viscosidad (72°C; 14,5563^a cp., 95°C; 18,75^b cp.) al igual que ocurre con el tiempo de procesado (5'; 15,7188^acp, 10'; 17,5875^bcp). Un efecto en el mismo sentido se produce para el extracto seco (5'; 7,90185^a%, 10'; 8,36945^b %) y (72°C; 7,91189^a %, 95°C; 8,35951^b%). Por lo tanto el aumento en las variables de procesado hace que la extracción aumente. Este es un efecto que cabía esperar ya que la capacidad extractora de los disolventes aumenta con la temperatura y con el tiempo de contacto. Con la extracción, los β-glucanos de la avena son extraídos ya que son fibra soluble. Éstos provocan un efecto espesante (Berski W. et al. 2011) si bien por diferentes efectos hidrotérmicos o enzimáticos, los β-glucanos pueden despolimerizarse y perder parte de su eficacia. (Dongowski G. et al. 2005). Además se espera la extracción de sustancias minerales (presentes en el salvado y germen principalmente) además de vitaminas

hidrosolubles. Dichas sustancias también contribuyen al aumento de viscosidad y extracto seco.

Tabla 3.

Efectos significativos de segundo orden sobre los parámetros de la bebida de avena.

Parámetros	Nivel ^a	avena- disolvente	avena- tiempo	avena- temperatura	disolvente- tiempo	disolvente- temperatura	tiempo- temperatura
pH	1 1						
	1 -1						
	-1 1						
	-1 -1						
acidez	1 1					1,51*	9,65***
	1 -1					1,36*	7,79***
	-1 1					16,29*	8,15***
	-1 -1					14,86*	8,43***
L*	1 1	45,37***					
	1 -1	88,08***					
	-1 1	40,34***					
	-1 -1	88,62***					
a*	1 1	-0,89***			-0,72*	-0,70*	
	1 -1	-0,35***			-0,52*	-0,54*	
	-1 1	-1,36***			-1,44*	-1,37*	
	-1 -1	-1,60***			-1,52*	-1,59*	
b*	1 1			2,21*			
	1 -1			3,13*			
	-1 1			2,19*			
	-1 -1			2,22*			
viscosidad	1 1						
	1 -1						
	-1 1						
	-1 -1						
extracto seco	1 1						
	1 -1						
	-1 1						
	-1 -1						

^a Los niveles (1, -1) de los factores son; para el disolvente, agua (1), leche (-1); para el % de avena, 5% (1), 3% (-1); para el tiempo de cocción, 10 minutos (1), 5 minutos (-1) y para la temperatura de cocción 95°C (1), 72°C (-1).

* p<0,05, ** p<0,01, *** p< 0,001

3.4. Efecto del las interacciones

Las interacciones estadísticamente significativas se señalan en la tabla 3. La disminución de la acidez que se produce al aumentar la temperatura es mayor para las bebidas con leche que para las de agua. La acidez sufre además un efecto

antagónico, a 95°C aumenta con el tiempo, mientras que a 72°C disminuye. En el caso de la leche la disminución de la luminosidad y el incremento de a^* que se produce al incrementar el contenido de avena es mucho mayor que en el caso del agua. La disminución de a^* que ocurre al aumentar el tiempo es mucho mayor en el caso de las bebidas realizadas con agua, que en las realizadas con leche, sin embargo la disminución de a^* que se produce al aumentar la temperatura es solo un poco menor para las bebidas con agua que para las que llevan leche. La disminución de b^* que se produce al aumentar la temperatura es mucho mayor para bebidas con un 5% de avena, que para las bebidas con el 3% de copos de avena.

3.5. Variación de la viscosidad con la temperatura

Para determinar las propiedades viscosas de las bebidas de avena se utilizó el RVA. De esta manera se consigue simular el comportamiento de las bebidas en el caso de que fuesen sometidas a un calentamiento posterior a su elaboración. Como anteriormente se ha comentado, las principales diferencias de las bebidas son debidas a la utilización de uno u otro disolvente por lo tanto se agruparán las bebidas según el disolvente utilizado para la discusión de las viscosidades.

En la figura 2.1 se representan las variaciones de la viscosidad vs al tiempo cuando se somete a las bebidas elaboradas a base de agua a un programa de temperatura. Como se comentó en materiales y métodos, las bebidas se someten a un programa de temperatura de calentamiento-enfriamiento, sin embargo, en la figura 2.1 y 2.2 sólo se representa hasta el segundo 300 que es donde se produce el máximo calentamiento. No ha resultado interesante toda la representación ya que en el enfriamiento no se produce ninguna variación de viscosidad. Como se puede observar una vez alcanzada la viscosidad máxima no vuelve a haber ningún pico de viscosidad. Esto quiere decir que el almidón que ha pasado a la bebida ya ha gelatinizado. En la figura 2.2 se realiza la misma representación pero con las bebidas de avena en las que se ha utilizado leche como disolvente. Al igual que en el caso anterior no se observa ningún pico de viscosidad que indique gelatinización del almidón. Sin embargo, y tal y como se había comprobado con la viscosidad medida a 20°C con el viscosímetro Brookfield, las bebidas de avena realizadas con leche son más viscosas que las realizadas con agua.

A la vista de estos datos podemos determinar que el almidón de la avena que se extrae a las bebidas utilizando los parámetros de procesado de este experimento ya ha gelatinizado. Esto es un hecho que cabía esperar ya que la gelatinización del

almidón se produce entre los 58 y 68°C. (BeMiller et al. 2009). El que no se produzca gelatinización del almidón cuando la bebida es sometida a un calentamiento posterior, es muy positivo a la hora de diseñar una pasteurización posterior de las bebidas, ya que según los datos obtenidos, no presentará variaciones con la temperatura.

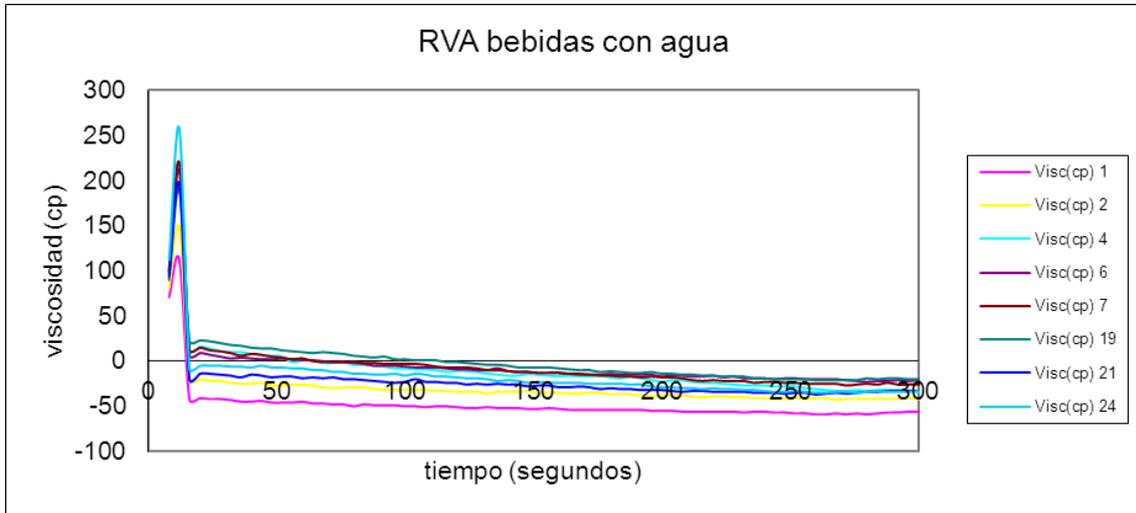


Fig. 2.1. Representación de la viscosidad vs tiempo de las bebidas realizadas con agua como disolvente sometidas a un programa de calentamiento-enfriamiento.

Visc (cp)1 corresponde a la representación de la variación de viscosidad de la bebida 1. Los niveles de los factores utilizados para la realización de estas bebidas se encuentran en la tabla 1.

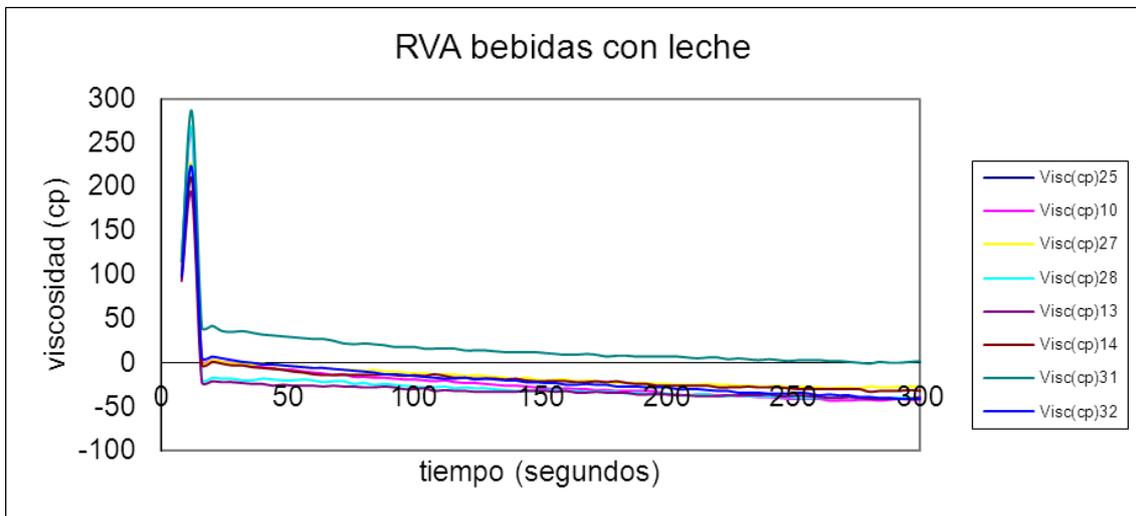


Fig. 2.2. Representación de la viscosidad vs tiempo de las bebidas realizadas con leche como disolvente sometidas a un programa de calentamiento-enfriamiento.

Visc (cp) 25 corresponde a la representación de la variación de viscosidad de la bebida 25. Los niveles de los factores utilizados para la realización de estas bebidas se encuentran en la tabla 1.

3.6. Evaluación de la vida útil

Para evaluar la vida útil de las medidas a través del pH se representó las variaciones de pH frente al tiempo de almacenamiento. En la figura 3.1 se representa la variación de pH de las bebidas elaboradas con agua. Como se puede observar, la variación de pH no sigue un patrón de comportamiento en las bebidas elaboradas con agua como disolvente.

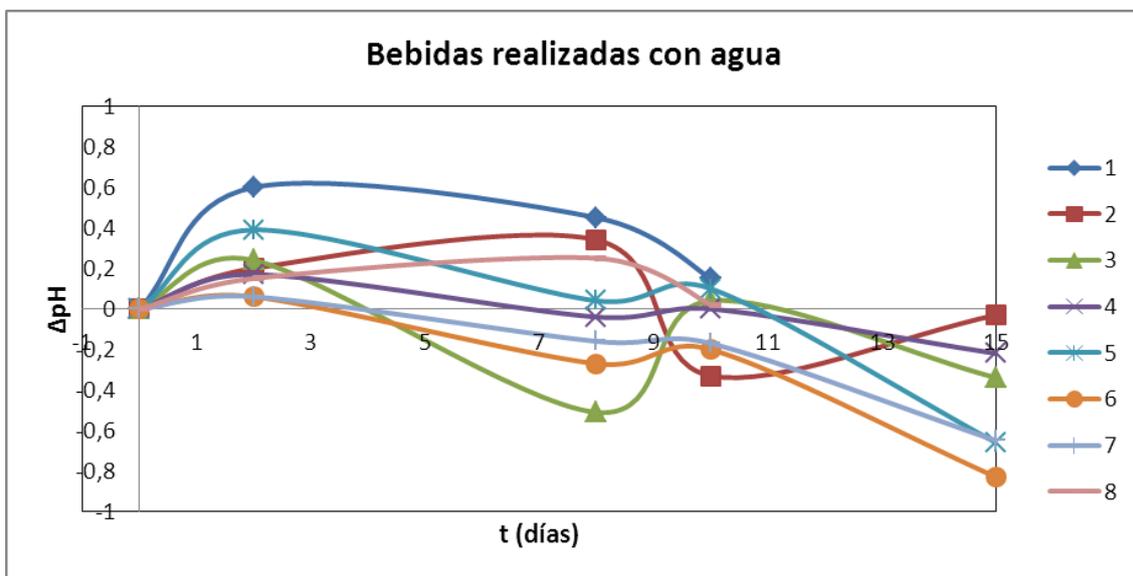


Fig. 3.1. Representación de la variación de pH vs el tiempo de almacenamiento refrigerado a 4°C de las bebidas realizadas con agua como disolvente.

1 representa a la media de la variación de pH sufrida por la bebida 1 y su duplicado (17). Así ocurre con el resto. Ver tabla 1.

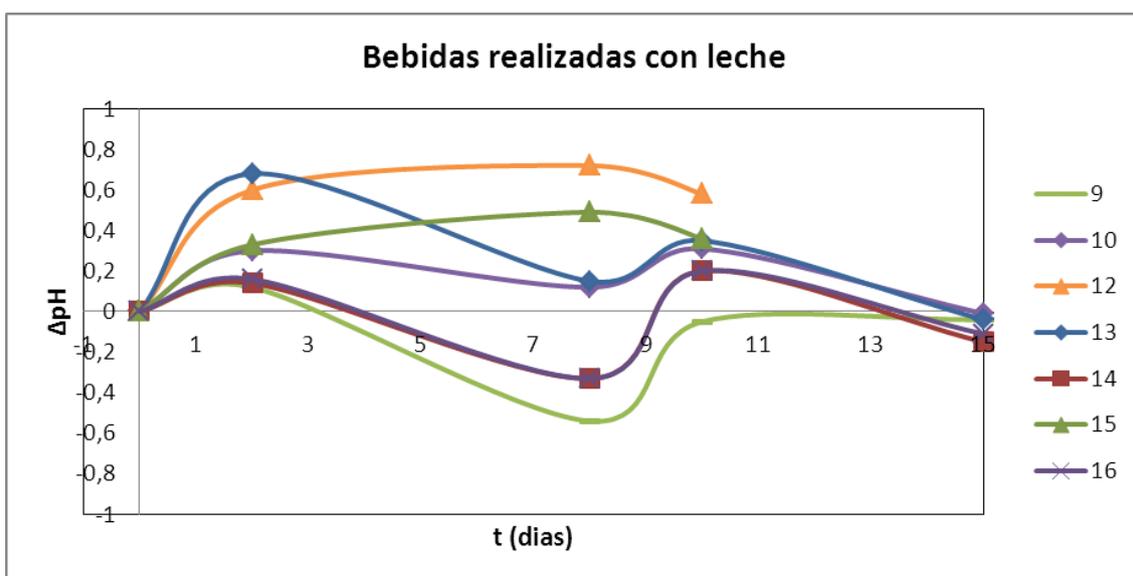


Fig. 3.2. Representación de la variación de pH vs el tiempo de almacenamiento refrigerado a 4°C de las bebidas realizadas con leche como disolvente.

9 representa a la media de la variación de pH sufrida por la bebida 9 y su duplicado (25). Así ocurre con el resto. Ver tabla 1.

Sin embargo, en todos los casos se produce un aumento de pH en torno al día 2 para luego ir disminuyendo hasta el pH inicial, y en torno al día 13 todos los pH están por debajo del pH inicial. En el caso de las bebidas elaboradas con leche (Fig. 3.2) también se produce un aumento de pH los primeros días para luego disminuir pero en este caso no se observa una disminución de pH de todas las bebidas hasta después del día 15. A pesar de esto, se comprobó que el día 15 las bebidas ya no eran organolépticamente correctas.

Para evaluar las variaciones del color a lo largo del tiempo se representan las componentes L^* , a^* , b^* de las bebidas realizadas a partir de agua y leche.

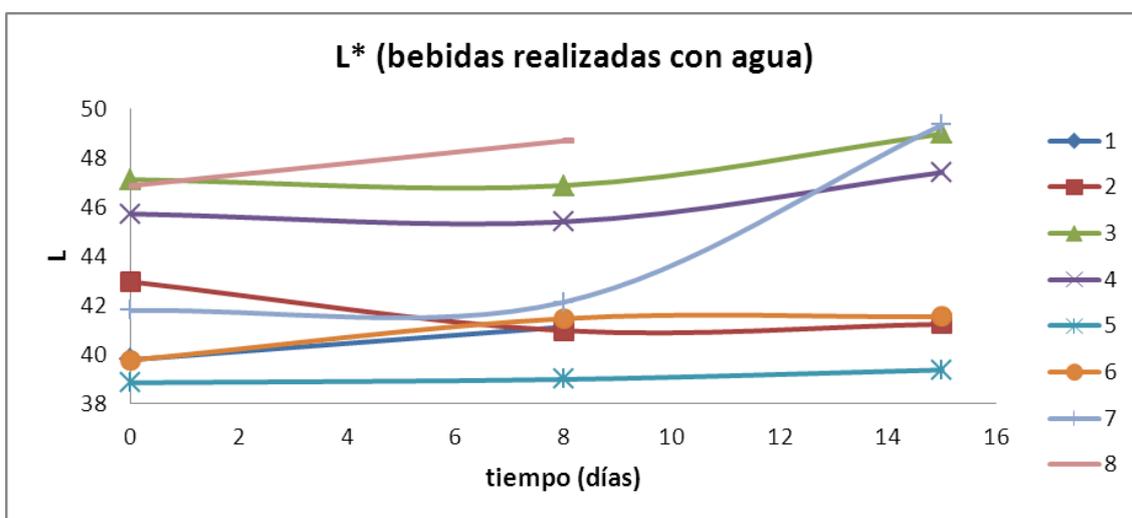


Fig. 4.A.1. Coordenada de color L^* vs el tiempo de almacenamiento refrigerado a 4°C de las bebidas realizadas con agua como disolvente.

1 representa a la media de la coordenada de color L^* a lo largo del tiempo de 1 y su duplicado (17). Así ocurre con el resto. Ver tabla 1.

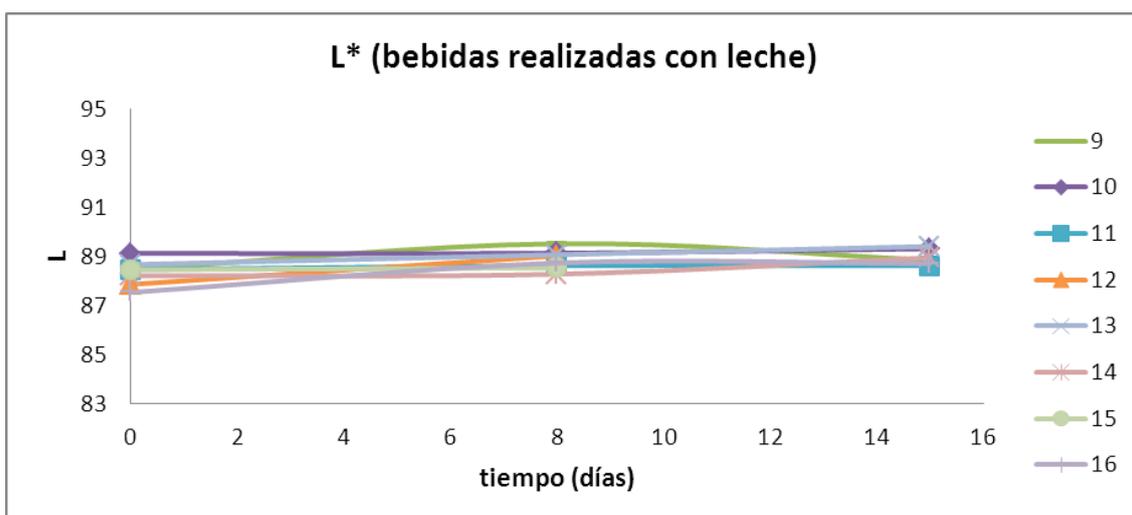


Fig. 4.A.2. Coordenada de color L^* vs el tiempo de almacenamiento refrigerado a 4°C de las bebidas realizadas con leche como disolvente. 9 representa a la media de la coordenada de color L^* a lo largo del tiempo de 9 y su duplicado (25). Así ocurre con el resto. Ver tabla 1.

El las figuras 4.A.1 y 4.A.2 se representan las componentes L* de las bebidas realizadas con agua y con leche respectivamente. Como se puede observar en ambos casos, se produce un aumento de la componente de blancura a lo largo del tiempo, si bien el aumento es mucho mayor en el caso de las bebidas realizadas con agua. Además se observa que la componente L* de las bebidas realizadas con agua es muy dispersa y sin embargo todos los datos correspondientes a la componente L* de las bebidas realizadas con leche están muy próximos entre sí.

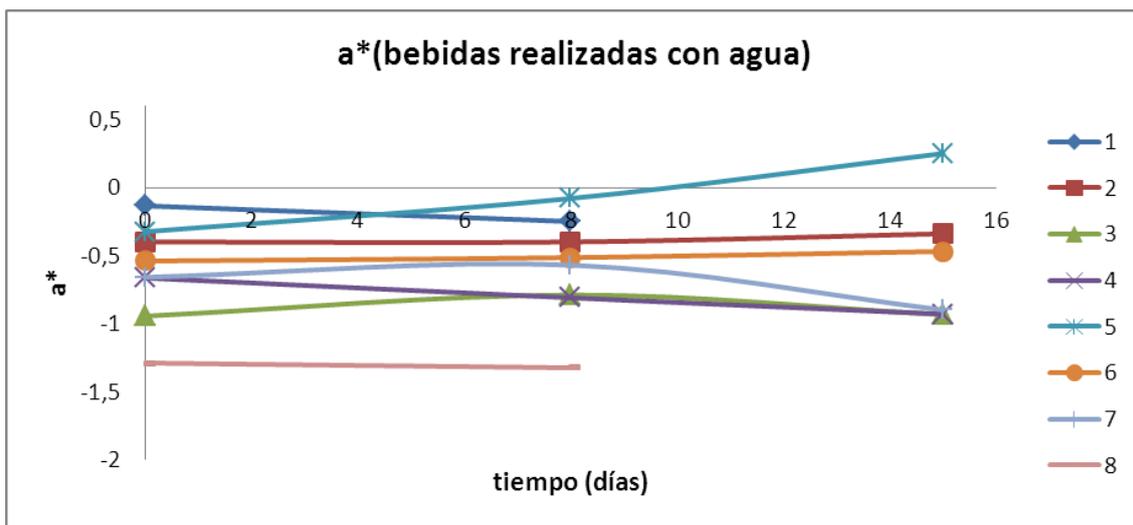


Fig. 4.B.1. Coordenada de color a^* vs el tiempo de almacenamiento refrigerado a 4°C de las bebidas realizadas con agua como disolvente. 1 representa a la media de la coordenada de color a^* a lo largo del tiempo de 1 y su duplicado (17) Así ocurre con el resto. Ver tabla 1.

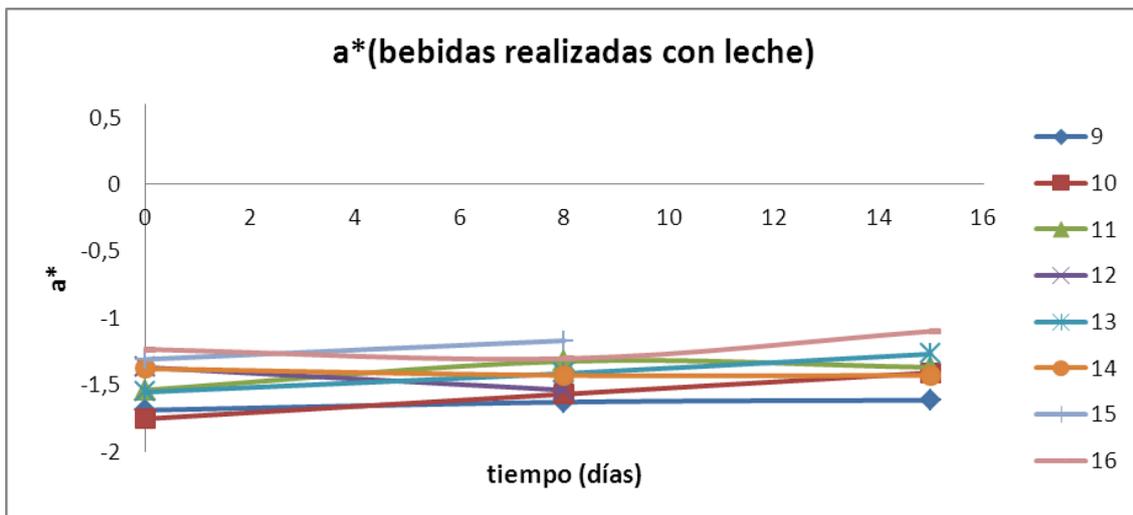


Fig. 4.B.2. Coordenada de color a^* vs el tiempo de almacenamiento refrigerado a 4°C de las bebidas realizadas con leche como disolvente.

9 representa a la media de la coordenada de color a^* a lo largo del tiempo de 9 y su duplicado (25). Así ocurre con el resto. Ver tabla 1.

Cuando analizamos las componentes a^* de las bebidas se observa que en las bebidas realizadas con agua (Figura 4.B.1) no hay una tendencia fija, en algunos casos aumenta y en otros disminuye. Sin embargo las bebidas resultantes de la elaboración con leche presentan una leve tendencia al aumento de dicha componente. Fig.4.B.2.

El análisis de las componentes b^* lleva a la conclusión de que en ninguno de los casos, bebidas realizadas con agua (Fig. 4.C.1) o bebidas realizadas con leche (Fig. 4.C.2) se observa una tendencia clara de comportamiento. Al igual que en las componentes L^* y a^* , la variabilidad de los colores de las bebidas es mayor en el caso de las bebidas a base de agua que en el caso de las realizadas con leche.



Fig. 4.C.1. Coordenada de color b^* vs el tiempo de almacenamiento refrigerado a 4°C de las bebidas realizadas con agua como disolvente. 1 representa a la media de la coordenada de color b^* a lo largo del tiempo de 1 y su duplicado (17). Así ocurre con el resto. Ver tabla 1.

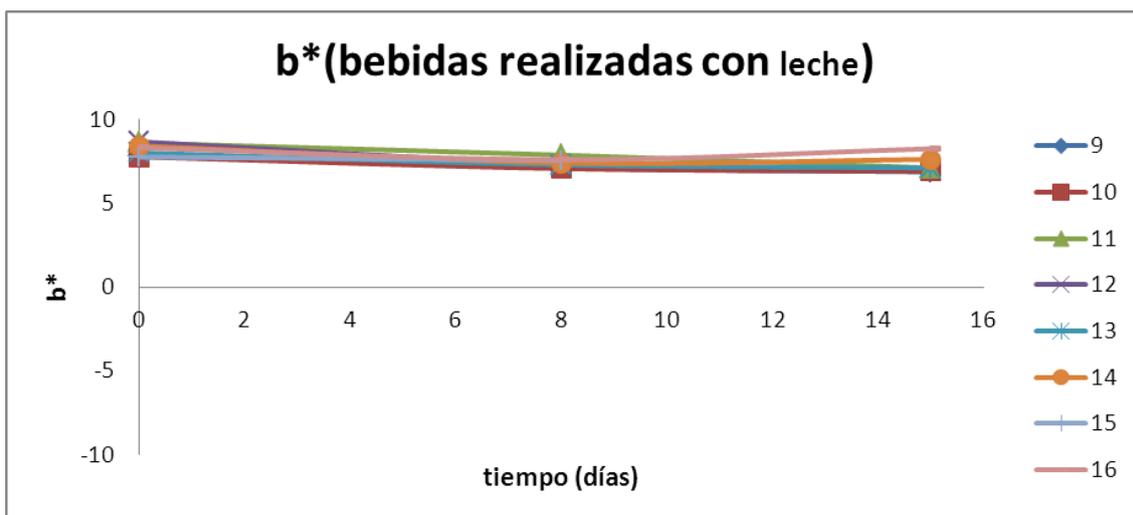


Fig. 4.C.2. Coordenada de color b^* vs el tiempo de almacenamiento refrigerado a 4°C de las bebidas realizadas con leche como disolvente. 9 representa a la media de la coordenada de color b^* a lo largo del tiempo de 9 y su duplicado (25). Así ocurre con el resto. Ver tabla 1.

A la vista de los datos del seguimiento de pH y color se llega a la conclusión de que el valor a tener en cuenta para realizar estudios de vida útil es el pH ya que el color no experimenta diferencias a lo largo del tiempo.

Por lo tanto, a la vista de los resultados de pH y color, la vida útil para las bebidas se podría establecer como 13 días para las bebidas elaboradas con agua y 15 días para las elaboradas con leche. Sin embargo habría que realizar un estudio de crecimiento microbiológico para comprobar la caducidad de las mismas. En el caso de querer aumentar este tiempo de vida útil habría que realizar tratamientos complementarios, como por ejemplo tratamiento con pulsos eléctricos (Walking-Ribeiro et al. 2010) o tratamientos térmicos (Zhang et al. 2007).

4. CONCLUSIONES

Tras los ensayos realizados para la obtención de una bebida de avena ha quedado demostrado que el disolvente es el factor más significativo a la hora de desarrollar una nueva bebida de avena, influyendo en los parámetros físico-químicos con significación de hasta el 99,9% en muchos de los casos. Los valores de pH, acidez, color, extracto seco son radicalmente diferentes y pero no lo es tanto la viscosidad. Se ha concluido que esto se debe a que estos parámetros ya son muy diferentes en el caso de los disolventes de partida y ni la cantidad de copos de avena añadida, ni las condiciones de procesado (temperatura y tiempo) son capaces de mitigar estas diferencias iniciales. La cantidad de copos de avena no influye significativamente en pH y acidez pero sí lo hace en el color además de en la viscosidad y extracto seco. En líneas generales se puede decir que el aumento en la concentración del copos de avena produce un aumento de la componente de blancura (L^*), por lo tanto la bebida será más blanca y el aumento de copos de avena produce también un aumento en viscosidad y extracto seco. El aumento de temperatura influye significativamente en la acidez de las bebidas, produciendo un aumento de acidez. También produce un aumento de la componente a^* de color, las bebidas amarillean con el aumento de la temperatura de procesado. La influencia de la intensidad de procesado es significativa para la viscosidad y el extracto seco, produciéndose un incremento de dichos parámetros al aumentar tiempo y temperatura. Por lo tanto al aumentar la intensidad del proceso se produce un incremento de extracción de compuestos de la avena. Sin embargo la viscosidad no aumenta tanto como cabe esperar, podría ser bien por una despolimerización de los β -glucanos o por poca extracción de los mismos. Tras someter a las bebidas a un tratamiento térmico de calentamiento-enfriamiento no se observó una variación de las viscosidad a lo largo del tiempo lo cual indica que el almidón que se ha extraído ya ha pasado a las bebidas gelatinizado. La estimación de la vida útil de la bebida muestra que al cabo de 2 días las bebidas sufren un aumento de pH y que la vida útil de las mismas, establecida como el día al que vuelven a su pH inicial o inferior, es de unos 13 días para las bebidas elaboradas con agua como disolvente y de unos 15 en el caso de las bebidas elaboradas con leche. El color no se considera un parámetro importante en la estimación de la vida útil ya que no se producen grandes variaciones a lo largo de los días controlados.

Sería interesante realizar un análisis organoléptico de aceptación de las bebidas por el consumidor que no ha podido ser realizado por extensión del proyecto. También se propone para próximos estudios el análisis y caracterización de los β -glucanos para así poder establecer las mejores condiciones de extracción de los mismos así como su peso molecular. Sería interesante también ver la degradación de los mismos por el almacenamiento. Un estudio de las vitaminas y sustancias minerales ayudaría a contribuir al la caracterización nutricional de las bebidas obtenidas.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, J. (2008). Celiac disease and oats: are they gluten free? <http://www.celiac.com/articles/21612/1/The-Celiac-Disease-Oat-Conundrum/Page1.html> [accessed 05.06].
- Angelov, A., Gotcheva, V., Hristozova, T., Gargova, S. (2005). Application of pure and mixed probiotic lactic acid bacteria and yeast cultures for oat fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2134-2141.
- Angelov, A., Gotcheva, V., Kuncheva, R., Hristozova, T. (2006). Development of a new oat-based probiotic drink. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 75–80.
- Bhaskaran, S., & Hardley, F. (2002). Buyer's beliefs, attitudes and behavior: Foods with therapeutic claims. *Journal of Consumer Marketing*, 19, 591–606.
- Berski, W., Ptaszek, A., Ptaszek, P., Ziobro, R., Kowalski, G., Grzesik, M., Achremowiz, B. Pasting and rheological properties of oat starch and its derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 83, 665–671.
- de Jong, N., Ocké, M. C., Branderhorst, H. A. C., & Friele, R. (2003). Demographic and lifestyle characteristics of functional food consumers and dietary supplement users. *British Journal of Nutrition*, 89, 273–281.
- Dendy, D.A., Dobraszczyk, J., (2004). Cereales y productos derivados. Química y tecnología. ACRIBIA SA, Huesca, Spain.
- Dongowski, G., Drzikova B., Senge B., Blochwitz R., Gebhardt E., Habel A. (2005) *Food Chemistry*, 93, 275-291.
- Gómez, M., Oliete, B., Rosell, C.M., Pando, V., Fernández, E. (2007) Studies on cake quality made of wheatchickpea flour blends. *LWT Food Science and Technology*, 41, 1701-1709.
- Gupta, S., Cox, S., Abu-Ghannam, N. (2010). Process Optimization for the Development of a Functional Beverage Based on Lactic Acid Fermentation of Oats. *Biochemical Engineering Journal*, 52, 99-204.
- Fenema, O.R. (1982). *Introducción a la ciencia de los alimentos*. Ed. Reverté SA, Madrid, España.
- Kivelä R., Nyström L., Salovaara H., Sontag-Strohm T. (2009). Role of oxidative cleavage and acid hydrolysis of oat beta-glucan in modeled beverage conditions. *Journal of Cereal Science*, 50, 190-197.
- Lönnerdal, B. (2003). Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77, 1537s-1543s.
- Lyly, M. (2006). Added β -glucan as a source of fibre for consumers. VTT Publications, 594, 96 p. + app. 50 p.

- Margetts, B. M., Martinez, J. A., Saba, A., Holm, L., & Kearney, M. (1997). Definitions of 'healthy' eating: A pan-EU survey of consumer attitudes to food nutrition and health. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51, S23–S29.
- Mannerstedt-Fogelfors, B. (2001). Antioxidants and lipids in oat cultivars as affected by environmental factors. Swedish Univ of Agric Sci (Sveriges lantbruksuniv), Uppsala, Sweden.
- Menrad, K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56, 181–188.
- Muñoz-Insa, A., Gastl M., Zarnkow M., Becker T. (2011) Optimization of the malting process of oat (*Avena sativa* L.) as a raw material for fermented beverages. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9, 510-523.
- Osborn, H.T., Shewfelt, R.L., and Akoh, C.C. 2003. Sensory evaluation of a nutritional beverage containing canola oil/caprylic acid structural lipid. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 80,357-360.
- Peterson, D.M. (2000) .Oat Antioxidants. *Journal of Cereal Science*, 33,115–129.
- Rustom, I.Y. S., López Leiva, M.H., Nair, B.M. (1996). *Food Chemistry*, 56, 45-53.
- Sloan, A. E. (2001). Growing demand for dietary fibre. *Functional Foods & Nutraceuticals* (September–October), 12–13.
- Soares, M. S. et al. (2010). Bebidas saborizadas obtidas de extratos de quirera de arroz, de arroz integral e de soja. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, 34, 407-413.
- Sumgala, G., Lanwie, Z., Ming-Kuei, H., Xin, Z., Mingruo, G. (2005). Oat-based Symbiotic Beverage Fermented by *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *casei*, and *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Food Science*, 70, 216-223.
- BeMiller, J., Whistler, R. (2009). *Starch: chemistry and technology*. Ed. Elsevier, London, UK.
- Walking-Ribeiro, M., Noci, F., Cronin, D.A., Lyng, J.G., Morgan, D.J. (2010). Shelf life and sensory attributes of a fruit smoothie-type beverage processed with moderate heat and pulsed electric fields. *LWT Food Science and Technology*, 43, 1067-1073.
- Welch, R.W. (1995). The chemical composition of oats. In: *The oat crop: production and utilization*. Ed. Chapman & Hall, London, UK.
- Zhang, H., Önning, G., Öste, R., Gramatkovski, E., Hulthén, L. (2007) Improved iron bioavailability in an oat-based beverage: the combined effect of citric acid addition, dephytinization and iron supplementation. *European Journal of Nutrition*, 46, 95-102.