



# **Aplicación de altas presiones hidrostáticas en el desarrollo de un producto panificable con bajo índice glucémico y alta capacidad antioxidante**

**Trabajo Fin de Grado**

Curso: 2019/2020

**Alumna:** Marina Fernández Ruano

**Tutora:** Beatriz de Mateo Silleras

**Cotutora:** Ana Belén Martín Diana

**Grado en Nutrición Humana y Dietética**  
Facultad de Medicina (Valladolid)  
Universidad de Valladolid



# AGRADECIMIENTOS

---

Quisiera dedicar este apartado en agradecimiento a todas las personas que han ayudado en el proceso de elaboración de este proyecto, ya que, sin su ayuda, y más en las condiciones de este año debido a la pandemia por COVID-19, habría sido imposible llevarlo a cabo.

En primer lugar, quiero dar las gracias a la Universidad de Valladolid, por la oportunidad de realizar este trabajo unido a estas practicas nuevas en mi carrera y el desarrollo de un proyecto muy bonito e innovador.

En segundo lugar, dentro del área de Nutrición y Bromatología de la Facultad de Medicina de Valladolid, a mi tutora, Beatriz de Mateo Silleras, y a Paz Redondo del Río, por todo el apoyo y ayuda prestada durante todos estos meses.

A los supervisores de mi proyecto en el Instituto Tecnológico Agrónomo de Castilla y León, Ana Belén Martín y Daniel Rico, así como a todos lo compañeros de la Planta de Productos y Procesos Alimentarios Innovadores, por la amabilidad y todas las ayudas prestadas.

Este trabajo forma parte de un proyecto financiado por la Unión Europea: FEADER Biodough (PEP 2017-807).

Y, por último, a todos mis amigos y familiares que me han ayudado, apoyado y animado a terminar este trabajo, venciendo toda la incertidumbre provocada por la situación vivida durante estos meses.

# ÍNDICE

---

<b>Abreviaturas .....</b>	<b>4</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>5</b>
<b>1.Introducción .....</b>	<b>6</b>
1.1. Altas presiones hidrostáticas .....	6
1.2. Efecto de las altas presiones sobre los alimentos.....	9
1.2.1. Efecto en la conservación de los alimentos .....	9
Efectos sobre la actividad enzimática.....	9
Efectos sobre los microorganismos .....	10
Efectos sobre las esporas bacterianas .....	10
Efectos sobre virus y parásitos .....	10
1.2.2. Efecto en el valor nutritivo .....	11
Efectos sobre el agua .....	11
Efectos sobre las proteínas.....	11
Efectos sobre los lípidos .....	11
Efectos sobre los HCO.....	12
Efectos sobre las vitaminas.....	12
Efectos sobre los no nutrientes .....	12
1.2.3. Efecto en la calidad sensorial .....	12
1.3. Aplicación de las altas presiones en la industria alimentaria.....	13
1.3.1. Mejora de la conservación de los productos .....	13
1.3.2. Transformación de los alimentos .....	13
Aplicación sobre frutas, vegetales y leguminosas .....	14
Aplicación sobre carnes.....	14
Aplicación sobre ovoproductos .....	14
Aplicación sobre lácteos y derivados .....	15
Aplicación sobre pescados .....	15
1.3.3. Mejora de la congelación y descongelación de productos .....	15
1.4. La avena .....	16
La avena como ingrediente funcional .....	17

<b>2. Justificación</b>	<b>19</b>
<b>3. Objetivos</b>	<b>20</b>
3.1. Objetivo general	20
3.2. Objetivos específicos	20
<b>4. Material y métodos</b>	<b>21</b>
4.1. Materia prima	21
4.2. Tratamiento de altas presiones	21
Diseño experimental	21
4.3. Elaboración de las magdalenas	23
Ingredientes de las magdalenas	23
Formulación	23
Receta	23
Secado y triturado	24
Desgrasado de las muestras	24
4.4. Análisis de las magdalenas	25
Determinación de la humedad de la harina	25
Contenido de almidón	25
Índice glucémico	26
Capacidad antioxidante	27
4.5. Análisis estadístico	28
<b>5. Resultados y discusión</b>	<b>29</b>
5.1. Contenido en almidón	30
5.2. Índice glucémico	32
5.3. Capacidad antioxidante	36
5.4. Función de deseabilidad	39
<b>6. Conclusiones</b>	<b>42</b>
<b>7. Bibliografía</b>	<b>43</b>

# ABREVIATURAS

---

- AA + AMG:**  $\alpha$ -amilasa + amilogucosidasa
- ABTS:** 2,2'-azinobis-(3etilbenzotiazolin)-6-sulfonato sal diamónica
- ANOVA:** análisis de la varianza
- APH:** altas presiones hidrostáticas
- DSMO:** dimetilsulfóxido
- ECNT:** enfermedad crónica no transmisible
- EtOH:** alcohol etílico
- GOPOD:** reactivo de glucosa-oxidasa/peroxidasa
- H:** humedad
- IG:** índice glucémico
- IH:** índice de hidrólisis
- K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>:** persulfato potásico
- OMS:** Organización Mundial de la Salud
- P:** presión
- PET:** tereftalato de polietileno
- pGI:** índice glucémico predecible
- RDS:** almidón de rápida digestión
- RS:** almidón resistente
- RSM:** metodología de superficie respuesta
- SDS:** almidón de lenta digestión

## RESUMEN

---

Las altas presiones hidrostáticas son una tecnología de gran auge en el ámbito alimentario en la actualidad. Se basa en la aplicación de presiones de entre 100 y 600 MPa sin apenas variaciones térmicas. Mediante esta tecnología se consigue mejorar las características de los productos alimenticios sobre los que se aplica, ya que tiene efectos positivos sobre la conservación de dichos productos, su valor nutritivo y su calidad sensorial.

El objetivo de este trabajo fue el desarrollo de un producto panificable tipo magdalena con propiedades saludables para los consumidores. Para ello se aplicó la tecnología de presurización para la obtención de un producto con bajo índice glucémico y elevada capacidad antioxidante. El diseño de superficie de respuesta (RSM) permitió optimizar las condiciones de presión y humedad para la obtención de una masa con altas propiedades antioxidantes y bajo índice glucémico.

Se prepararon muestras de harina integral de avena con distintos grados de humedad (30-60%), que fueron sometidas a presiones de entre 1000 y 6000 atm. Posteriormente se elaboraron magdalenas con las distintas muestras de harina tratadas y una muestra control de harina sin tratar. Se determinó la humedad, el contenido en almidón, el índice glucémico y la capacidad antioxidante de las magdalenas.

La presión redujo la gelatinización del almidón y, posiblemente, favoreció la generación de almidón resistente, ya que el contenido de almidón de las harinas con elevado porcentaje de humedad aumentó a bajas presiones, pero se redujo con presiones elevadas. Las altas presiones redujeron el índice glucémico, especialmente a valores reducidos de humedad. La mayor capacidad antioxidante se obtuvo para valores intermedios de presión y humedad.

La metodología RSM indicó que las condiciones de presión y humedad óptimas para la obtención de una masa con altas propiedades antioxidantes y bajo índice glucémico fueron 3182 atm y 30% de humedad. Con estas condiciones se podría obtener un producto con un índice glucémico bajo (IG de 46,7), un adecuado contenido en almidón (11,09%) y una capacidad antioxidante elevada (1729,5  $\mu\text{mol eq. Trolox}/100 \text{ g}$ ), lo que lo haría apto para ser incluido en una dieta equilibrada y saludable. Además, el producto obtenido podría ser un alimento funcional, por su capacidad antioxidante, perfil lipídico y contenido en beta-glucanos.

Puesto que la tecnología es industrial, este proceso podría ser transferido a la industria agroalimentaria con objeto de desarrollar alimentos funcionales.

# 1. INTRODUCCIÓN

---

## 1.1. ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS

La tecnología de las altas presiones hidrostáticas (APH) consiste en la aplicación de presiones de entre 100 y 600 MPa en quipos industriales, pudiéndose alcanzar hasta 1000 MPa cuando se trata de prototipos, e incluso aplicando altas temperaturas en alguno de ellos. Esta tecnología permite aumentar la vida útil de los productos tratados, ya que produce un efecto higienizante y, por tanto, reduce la carga microbiológica. Aunque su desarrollo surgió como un método de conservación, actualmente también se emplea para el diseño de nuevos productos y para la optimización de procesos convencionales habituales de la industria alimentaria.

Las altas presiones hidrostáticas son un sistema conocido desde hace más de tres décadas. En sus inicios fue utilizado en la industria del metal y la cerámica, donde se aplicaron presiones desde 100 MPa, combinadas con temperaturas de hasta 1000°C (Hoover, 1989). En el campo de la alimentación la utilización de esta tecnología comenzó a finales del siglo XIX: en 1899 el equipo de Bert H. Hite demostró los efectos de las altas presiones en la conservación de productos cárnicos, leche y frutas (Buzrul, 2012), por su capacidad de reducir la carga microbiana, fundamentalmente. Desde entonces esta tecnología se ha desarrollado mucho en la industria alimentaria, dada su utilidad para la conservación y transformación de los productos alimenticios, sin alterar sus características químicas. Por tanto, la aplicación de APH permite combinar la calidad y la seguridad de los productos sobre los que se aplica (Menéndez Montes, 2009).

Se puede considerar a las APH como un método de pasteurización en frío, ya que, como se ha comentado, se basa en la aplicación de presiones de entre 100 y 600 MPa sin apenas variaciones térmicas, empleando un medio de transmisión, que normalmente es el agua. Los efectos de las APH se basan en dos principios físicos (Cheftel, 1991):

- *Principio isostático o teorema de Pascal*: la presión se aplica de manera isostática e instantánea en todos los puntos del producto. De esta forma se evita la deformación del producto.
- *Teorema de Le Chateleir*: las altas presiones favorecen las reacciones que implican una disminución del volumen e inhibe aquellas que hacen que el volumen aumente.

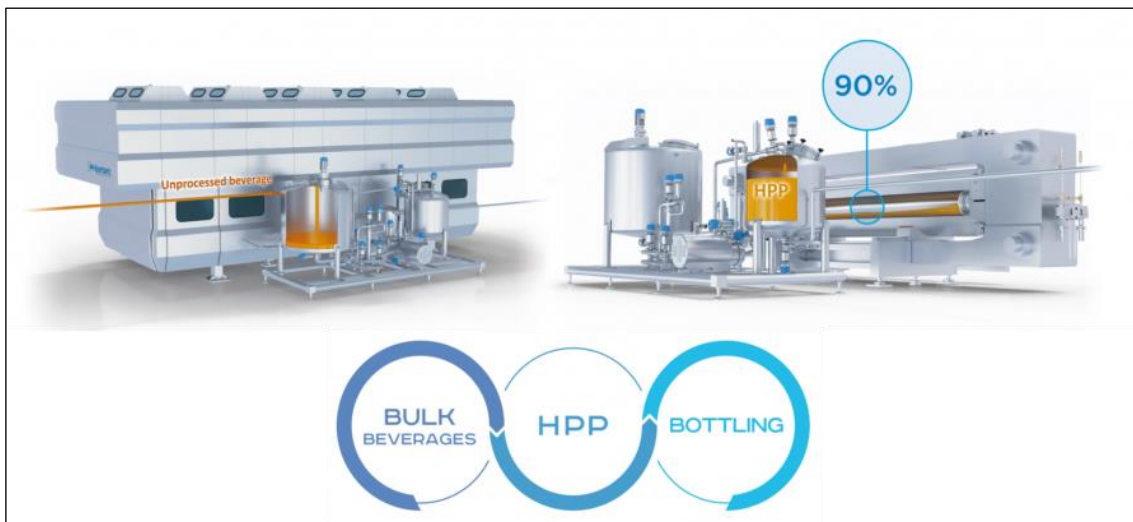
Gracias a estos principios se consigue la pasteurización de los productos alimentarios sobre los que se aplica, sin deformación, evitando la pérdida de nutrientes y la alteración de los pigmentos naturales. Además, mejora la funcionalidad de los productos, por lo que se puede afirmar que permite la obtención de productos de mejor calidad (Pérez Urtasun, 2012).

Estos factores han propiciado que en los últimos 15 años el uso de esta tecnología haya aumentado de manera constante, de forma que actualmente se encuentran en el mercado numerosos productos obtenidos con dicha metodología (Buzrul, 2012). Durante los últimos años, además de utilizarse con el fin de higienizar alimentos, se está empleando para mejorar las propiedades tecnofuncionales o saludables de una gran gama de alimentos.



Para aplicar APH se utilizan equipos de altas presiones que constan de una cámara de presión (con su correspondiente cierre), rodeada por un sistema de generación de presión de la cámara (flujo transmisor, que es agua potable) y un sistema de control de la presión. (Muntean, 2016).

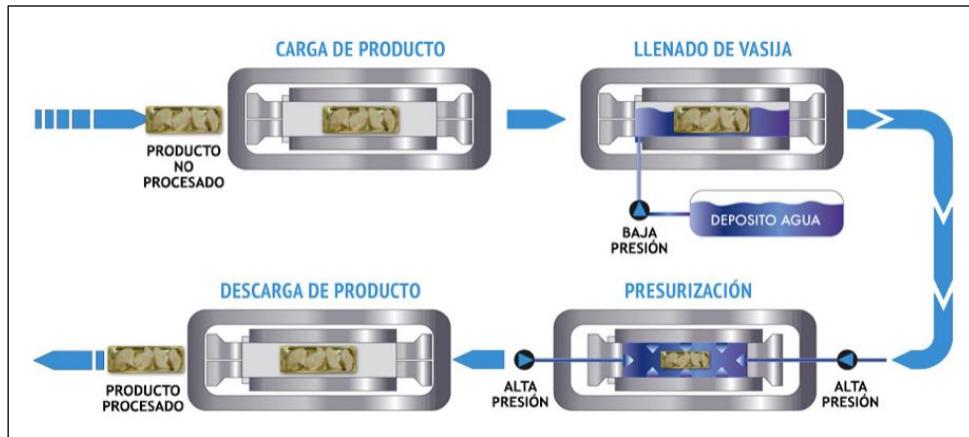
Para la aplicación de la presión deseada sobre el producto se necesita un medio de transmisión. Este medio es agua potable con una pequeña cantidad de aceite que ayuda tanto a la lubricación de la maquinaria, como a evitar la corrosión del acero que la constituye (Tellez-Luis, 2001). En la cámara se colocan los productos envasados en plástico flexible (normalmente tereftalato de polietileno o PET). La presión se aplica, como ya se ha comentado, de manera uniforme y en todas las direcciones, durante un tiempo, de forma que el producto no se deforma durante el tratamiento (Buzrul, 2012). Sin embargo, en la actualidad algunas compañías como Hiperbaric han desarrollado modelos industriales que no requieren envasado, lo que permite trabajar con líquidos y su posterior envasado aséptico en botellas u otros formados, lo que sin duda será una gran ventaja para el futuro (Figura 1).



**Figura 1.** Hiperbaric 525 y 1050: prototipos para la aplicación de altas presiones sin envasado.

En función del producto sobre el que se apliquen las APH existen dos métodos diferentes:

- **Discontinuo:** se emplea con productos líquidos o sólidos ya envasados. Es el método más utilizado en la industria alimentaria. El envase debe ser de un material flexible e impermeable y que, además, sea capaz de soportar reducciones de volumen de en torno al 15% durante la aplicación del tratamiento, y volver a su tamaño original una vez terminado el proceso (Pradas Baena, 2016). El producto ya envasado se introduce en un cilindro; cuando están en la cámara, ésta se llena de agua hasta alcanzar la presión deseada y se mantiene durante el tiempo requerido. A continuación, se procede a la descompresión mediante la salida del agua de la cámara (Bellaterra, 2004) (Figuras 2 y 3).

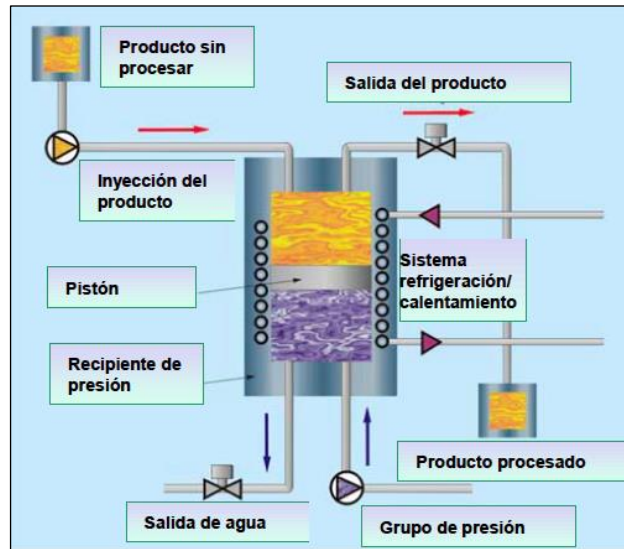


**Figura 2.** Esquema de funcionamiento de una unidad de APH para un producto envasado. (Fuente: [www.hiperbaric.com](http://www.hiperbaric.com)).



**Figura 3.** Modelo 135 L para aplicación de altas presiones sobre productos envasados.

- Semicontinuo: se utiliza con productos líquidos a granel. En este caso, el producto se introduce directamente en la cámara, evitando al máximo la presencia de aire. El alimento líquido a tratar debe tener la capacidad de poder ser bombeado (Pradas Baena, 2016). Además, puesto que el alimento está en contacto directo con el acero de la cámara, éste no debe ser corrosivo y debe ser apto para estar en contacto con alimentos. Una vez que la cámara está llena, se aumenta la presión del agua, que se encuentra en un recipiente anexo y unido a la cámara que contiene el líquido mediante un pistón. El pistón transmite la presión del agua al líquido de la cámara. Una vez terminado el procesado el alimento sale al exterior mediante una válvula aséptica de alta presión (Bellaterra, 2004) (Figura 4).



**Figura 4.** Esquema de funcionamiento de una unidad de APH para un producto líquido. (Fuente: Pradas Barna, 2016).

## 1.2. EFECTO DE LAS ALTAS PRESIONES SOBRE LOS ALIMENTOS

Aunque, en general, las APH producen la inactivación de microorganismos y cambios en el volumen del alimento tratado y en la estructura del almidón y de las proteínas, los efectos de las APH sobre los alimentos y sus componentes dependen de la presión aplicada (Tabla 1). Además, estos efectos también dependen del alimento.

Presión (MPa)	Efectos
>200	Influencia sobre la cinética enzimática. Modificación de las propiedades físicas de las proteínas. Alteración de la membrana de los microorganismos.
>300	Inactivación enzimática irreversible. Muerte de los microorganismos.
>400	Gelificación del almidón. Desnaturalización de proteínas.
>500	Muerte de las esporas bacterianas. Inactivación de las enzimas.

**Tabla 1.** Efectos de las altas presiones hidrostáticas sobre los alimentos, en función de la presión aplicada. (Tomado de Raventós, 2010).

### 1.2.1. Efecto sobre la conservación de los alimentos

#### Efectos sobre la actividad enzimática

Los efectos de las APH sobre la actividad enzimática se deben a dos circunstancias: la inhibición de la actividad de las enzimas por la alteración de su estructura proteica

(desnaturalización) o mediante cambios en la cinética enzimática; por ejemplo, afectando a la interacción enzima-sustrato (Balny y Malson, 1993).

Por el contrario, en función de la presión alcanzada, también se puede producir la activación de las enzimas. Para evitarlo, se deben alcanzar presiones por encima de 300 MPa (Tellez-Luis, 2001).

#### Efectos sobre los microorganismos

Mediante la tecnología de las APH se consigue la inactivación de la actividad y reproducción de los microorganismos. Es importante tener en cuenta que estos efectos también dependen de otros factores, como la presión aplicada durante un tiempo determinado y la composición del propio alimento (Sangronis, 1997). Estos efectos sobre los microorganismos se pueden producir por distintas causas:

- *Alteraciones morfológicas*: la presión afecta especialmente a las vacuolas gaseosas produciendo su alargamiento y la separación de la pared y la membrana celular; también puede producir la contracción de la pared celular, formándose poros (Raventós, 2010).
- *Alteraciones del material genético*: las APH provocan una disminución de la síntesis del ADN, puesto que afecta a las enzimas implicadas en su replicación y transcripción (Cheftel, 1992). Este proceso comienza a producirse a presiones inferiores a 300 MPa; a partir de esta presión se produce la desnaturalización de las proteínas y, por tanto, la pérdida de la estructura del ADN de forma irreversible (Pothankamury, 1995).

#### Efectos sobre las esporas bacterianas

Las esporas bacterianas generalmente son muy resistentes a las altas presiones hidrostáticas, aunque la resistencia depende de la fase vital en que se encuentren: en fase de crecimiento son mucho más sensibles a las APH que en la fase latente. Por ello, se deben de aplicar diferentes ciclos de presión. En un primer ciclo con presiones bajas, las esporas pueden llegar a germinar (Raventós, 2003). Una vez aplicado este primer ciclo de presión, se consiguen células vegetativas. Aun así, para conseguir inactivar estas células, es necesaria la aplicación de presiones por encima de 200 MPa.

Por otra parte, respecto a la resistencia a las APH de las bacterias, se ha observado que las bacterias Gram positivas presentan una mayor resistencia que las bacterias Gram negativas (Earnshaw, 1995).

#### Efectos sobre los virus y parásitos

En el caso de los virus, la resistencia a las altas presiones depende mucho del virus. Pero, en general, las APH dañan la capsula de los virus, impidiendo que éstos se puedan unir a las células (Raventós, 2003). Además, al aplicar esta tecnología, sus propiedades inmunogénicas permanecen intactas, con lo que la aplicación de esta técnica podría ser de gran utilidad para la obtención de vacunas.

Respecto a los parásitos, se ha demostrado que los que se suelen encontrar de forma más frecuente en carnes y pescados se inactivan con las altas presiones hidrostáticas fácilmente (Cheftel,1992).

### **1.2.2. Efecto en el valor nutritivo**

#### Efectos sobre el agua

Las altas presiones favorecen la ionización del agua (la disociación de sus moléculas), lo que provoca la liberación de protones y, por tanto, la reducción del pH. Esta acidificación podría también contribuir a la desnaturalización de las proteínas del alimento y a la inactivación microbiana (Raventós, 2003).

También se ha observado que el volumen del agua disminuye al aumentar la presión a una temperatura determinada. Esta compresión provoca un aumento de 2-3 °C por cada 100 MPa. Pero estos cambios son reversibles (Cheftel, 1995).

Por otra parte, los efectos de las altas presiones sobre el agua pueden ser beneficiosas en la industria alimentaria. El agua puede encontrarse en tres estados físicos distintos dependiendo de la temperatura y la presión. Su punto de congelación se reduce a medida que aumenta la presión. Esto hace posible que se puedan conservar alimentos a altas presiones en estado líquido, pero a temperaturas inferiores a 0 °C (sin la formación de cristales de hielo); o descongelar alimentos sin aumentar la temperatura (modificando la presión) (Raventós, 2003). También se puede conseguir una congelación ultrarrápida de los alimentos, con la consiguiente formación de cristales de hielo mucho más pequeños que, por tanto, dañen menos la estructura del alimento.

#### Efectos sobre las proteínas

Como ya se ha comentado, las APH provocan la desnaturalización de las proteínas. Una presión elevada afecta principalmente a las estructuras terciaria y cuaternaria, puesto que se modifican las interacciones intra- e intermoleculares entre aminoácidos (Pradas Baena, 2016). Estos cambios sobre la estructura de las proteínas pueden ser reversibles o irreversibles, dependiendo de otros factores, como temperatura, pH, etc. (Heremans, 1995; Cheftel 1995).

Además, cuando se aplican APH a productos con un elevado contenido en proteínas, se producen interacciones hidrofóbicas que dan lugar a la formación de geles.

#### Efectos sobre los lípidos

La temperatura de fusión de los lípidos, sobre todo de los triglicéridos, aumenta 10 °C por cada 100 MPa (Pradas Baena, 2016). Esto hace que algunos lípidos que son líquidos a temperatura ambiente puedan cristalizar si se someten a altas presiones, dando lugar, además, a cristales densos y estables. Es posible que esta sea una de las causas de la inactivación de microorganismos, puesto que las APH podrían producir cambios conformacionales en las membranas celulares por la alteración (cristalización) de los fosfolípidos que las componen (Cheftel, 1995).

Por otra parte, la desnaturalización proteica producida por las APH puede favorecer la liberación de iones metálicos, que oxidan los lípidos insaturados de los alimentos. Este proceso también se ve favorecido en mayor medida si el producto, además, contiene gran cantidad de agua (Raventós, 2010).

#### Efectos sobre los hidratos de carbono

Una de las reacciones más importantes de la industria alimentaria en la que participan los azúcares es la reacción de Maillard, que da lugar al color, aroma y sabor de muchos productos (pan, horneados, asados, etc.). Sin embargo, en ocasiones estas reacciones no son deseables, puesto que reducen el valor nutritivo de los alimentos y se pueden originar sabores y colores no deseables. Las APH inhiben la reacción de Maillard (Raventós, 2010). Tampoco afectan a los enlaces covalentes de los disacáridos. Sin embargo, este método sí afecta a los polisacáridos (a la transición sol-gel), haciendo que se formen geles distintos a los que se formarían por acción del calor (Pradas Baena, 2016).

Mediante la aplicación de altas presiones hidrostáticas sobre las masas de harina se consigue que éstas tengan una mayor elasticidad y fuerza, debido a la salida de la amilosa; es decir, por la gelatinización de almidón (Vallons, 2010). Así, las APH mejoran las características sensoriales de los productos elaborados con masas de harinas, como el volumen y la textura del pan, mejorando, por tanto, la calidad del producto final. Estos efectos se observan con presiones superiores a 350 MPa, aunque las condiciones de tiempo y presión más adecuadas son diferentes en función del cereal (De Pablos, 2017).

#### Efectos sobre las vitaminas

La aplicación de APH no afecta al contenido de vitaminas, siempre que no se empleen elevadas temperaturas (Pradas Baena, 2016).

#### Efectos sobre otros componentes no nutrientes

Se ha documentado que las altas presiones hidrostáticas no afectan al contenido de fibra alimentaria ni a los compuestos fenólicos, fitoquímicos con gran capacidad antioxidante (Barret, 2012).

### **1.2.3. Efectos sobre la calidad sensorial**

Las altas presiones se emplean fundamentalmente para la conservación de alimentos, ya que es un método seguro que produce muy pocas modificaciones de la calidad sensorial. Sin embargo, en ocasiones pueden verse alteradas algunas características organolépticas:

- Efectos sobre el color: en general, los pigmentos suelen ser bastante resistentes a las altas presiones, en especial los carotenoides y las antocianinas. Sin embargo, si no se ha producido una correcta inactivación de enzimas, se pueden observar

alteraciones en el color de alimentos tratados con APH durante el almacenamiento. La clorofila también es bastante estable; incluso se ha observado algún aumento de la coloración verdosa en algunos vegetales debido a la salida de la clorofila al espacio intercelular por una rotura de la pared celular (Pradas Baena, 2016).

- Efectos sobre la textura: estos cambios se producen debido a las transformaciones producidas en los polímeros de las paredes celulares por distintas reacciones enzimáticas y no enzimáticas, lo que favorece la salida de las células de sus moléculas y la interacción de distintos compuestos (Pradas Baena, 2016).

Estas alteraciones dependen tanto de la presión aplicada como de las características del producto a tratar (Ruiz Escolante, 2017). En algunas ocasiones, se han aprovechado estos efectos para la transformación de algunos alimentos, como se verá posteriormente.

### **1.3. APLICACIÓN DE LAS ALTAS PRESIONES EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

Como ya se ha comentado, las altas presiones hidrostáticas se emplean en la industria alimentaria fundamentalmente para la conservación de alimentos, ya que permiten obtener alimentos seguros desde el punto de vista microbiológico, sin alterar el valor nutritivo ni, prácticamente, la calidad sensorial, puesto que no se utilizan elevadas temperaturas. De esta forma se consiguen alimentos similares a los productos frescos sin la necesidad de añadir aditivos.

Sin embargo, esta tecnología también se está utilizando más recientemente para la transformación de alimentos, aprovechando las modificaciones que sufren algunos componentes de los alimentos o los cambios en la textura, cambios positivos para el producto sin alterar sus características organolépticas ni su valor nutricional.

#### **1.3.1. Mejora de la conservación de los productos alimentarios**

Gracias a la aplicación de esta tecnología sobre los productos alimentarios, se ha conseguido alargar su tiempo de conservación manteniendo su valor nutritivo y características organolépticas y garantizando al máximo su seguridad y calidad alimentaria. Esto también aumenta las posibilidades de venta de productos al mercado exterior, puesto que los productos así tratados soportan tiempos mayores de transporte (Pradas Baena, 2016).

#### **1.3.2. Transformación de alimentos**

Las APH se han empleado en la industria alimentaria con prácticamente todos los grupos de alimentos:

### Aplicaciones en frutas, vegetales y leguminosas

Las APH no afectan al contenido en vitaminas, por lo que esta tecnología permite conservar el valor nutritivo de los vegetales, lo que no ocurre con los tratamientos térmicos (las vitaminas hidrosolubles son muy termolábiles). Sin embargo, hay que tener en cuenta que estos alimentos contienen enzimas muy resistentes, por lo que se requiere una combinación de presión con pequeños cambios de temperatura para su total inactivación (Farr, 1990).

Oey y sus colaboradores determinaron que tras la aplicación de este tipo de tecnología algunos de los componentes de los alimentos vegetales podían verse alterados o modificados, pero no los pigmentos, vitaminas y otros compuestos relacionados con propiedades sensoriales, nutricionales y biológicas (Oey, 2008). También se han realizado diversos estudios para comprobar la resistencia de los componentes fenólicos a la aplicación de las APH en purés y zumos de frutas y verduras, y se ha observado una reducción mínima de estos componentes. En el caso de los antioxidantes, se ha comprobado que no es la propia tecnología la que puede alterar su contenido, sino el almacenamiento de estos productos; de hecho, la aplicación de altas presiones junto con algún otro tratamiento puede mejorar la capacidad antioxidante de los productos tratados (Al-Juhami, 2018).

En el caso de las leguminosas, mediante el tratamiento con altas presiones se consigue la absorción de agua en un tiempo inferior, con lo que se reduce el tiempo de preparación y cocinado de estos alimentos. Además, con esta tecnología no se produce tanta cantidad de aguas residuales durante el remojo (Pradas Baena, 2016).

### Aplicación en carnes

La tecnología de las altas presiones hidrostáticas tiene un papel muy importante en este grupo de alimentos, ya que se consigue la ruptura de la membrana de los lisosomas, de modo que las proteasas salen al citoplasma, provocando la desnaturalización de las proteínas; las proteínas desnaturalizadas son más fácilmente digeribles, sin perder su valor biológico. Así, las APH mejoran la digestibilidad, y el aroma y sabor de la carne (Pradas Baena, 2016).

Las APH se han empleado en los productos cárnicos para elaborar productos cocidos, para el tratamiento de productos manipulados después de la cocción, para reducir la carga microbiana de carnes reestructuradas, y para la obtención de geles más uniformes, con mejor aspecto y textura y menos exudados (Mandava, 1994; Gustin 1997; Rubens, 1997).

### Aplicación en ovoproductos

En este caso se ha conseguido la higienización de estos productos sin llegar a desnaturalizar las proteínas del huevo, mejorando la calidad nutricional del huevo y su vida útil durante el almacenamiento en refrigeración (Ponce, 1998).



### Aplicación en lácteos y derivados

En la industria láctea las APH reducen la carga microbiológica de forma similar a la conseguida mediante la pasteurización a 72 °C durante 15 segundos (Mussa y Ramaswamy, 1997; Buffa, 2001).

Esta tecnología también presenta grandes beneficios en la industria de producción del queso: por un lado, permite utilizar leche cruda en la elaboración de quesos frescos (tratada con APH), evitando la pasteurización de dicha leche, con la consiguiente destrucción de enzimas interesantes para la obtención del queso (Fox, 2000). Por otra parte, también acelera la maduración del queso: la aplicación de APH durante un breve tiempo sobre la cuajada fresca de queso hace que se forme una microestructura similar a la del queso maduro (Pradas Baena, 2016).

### Aplicación en pescados

Las APH mantienen intactas las características físicas y organolépticas del pescado, aumentando su vida útil en refrigeración (Pradas Baena, 2016). Esta tecnología se emplea fundamentalmente para destruir la gran mayoría de los microorganismos presentes en el pescado, además del anisakis. Si, además, las APH se combinan con otros métodos de conservación, como la congelación o refrigeración, se incrementa significativamente la higienización (Cogollo Berrocal, 2015). Estos procesos son muy útiles para garantizar la seguridad de los ahumados en frío (Velázquez, 2005).

Las APH también se han utilizado para la obtención de surimi, ya que permiten conseguir un producto más liso y brillante, además de mantener el aroma a pescado, características que se suelen alterar con la aplicación de calor (Denda y Hayashi; 1992, Yoshika, 1992).

Por último, esta tecnología también se ha aplicado para mejorar la apertura de las ostras con menor esfuerzo (Pradas Baena, 2016).

### **1.3.3. Mejora en los procesos de congelación y descongelación de los alimentos**

El proceso de congelación de un producto bajo presión conlleva varios pasos: primero se somete el alimento a una presión constante; a continuación, se disminuye la temperatura en todo el producto; y posteriormente se modifica la presión hasta alcanzar la presión atmosférica, lo que puede producirse lentamente o de manera rápida. Con este proceso se consigue la congelación uniforme del producto, con la formación de cristales muy pequeños distribuidos de manera uniforme por todo el producto, lo que mantiene sus características sensoriales y valor nutritivo.

Por el contrario, la descongelación bajo presión se produce de manera muy rápida. Se aumenta la presión por encima de la presión atmosférica, y, cuando la presión es uniforme en todo el producto, se aumenta la temperatura por encima del punto de fusión, consiguiendo la descongelación del alimento desde el centro al exterior de forma muy rápida, con los beneficios que esto conlleva (Sanz, 2004).

## 1.4. LA AVENA

La *Avena sativa* o avena blanca es una planta de la familia de las *Gramineae* (*Poaceae*), de cultivo anual. Este cereal se cultiva especialmente en Europa y en el Norte de América; en la Península Ibérica se puede encontrar en zonas poco susceptibles de fuertes heladas (Navarra, 2007).

Desde el punto de vista del valor nutritivo de este cereal, los granos de avena enteros son una buena fuente de fibra. También aporta una cantidad considerable de carbohidratos (almidón), aunque su contenido en este nutriente es menor que en otros cereales de uso común, como el arroz o el trigo. Por el contrario, la avena es el cereal más rico en proteínas y grasas, que son altamente insaturadas (35% de ácido oleico y 39% de linoleico). En cuanto a los micronutrientes, la avena contiene fósforo, potasio, hierro, magnesio, zinc, tiamina, folatos y tocoferoles. Y también es rica en componentes no nutritivos, como ácidos fenólicos, flavonoides y fitoesteroles. Dos de estos compuestos fitoquímicos son propios de la avena: las avenantramidas y las saponinas esteroidales (Gómez, 2017).

El valor nutritivo de la avena depende en gran medida de su procesamiento: los productos refinados, como la harina, no contienen prácticamente fibra, y son más pobres en vitaminas, minerales, grasas y proteínas.

Algunos de los componentes de la avena confieren a este cereal efectos beneficiosos más allá de sus propiedades nutricionales. A este respecto, los componentes más estudiados han sido la fibra, sobre todo los  $\beta$ -glucanos, y algunos fitoquímicos, como las avenantramidas.

La fibra es uno de los componentes más abundantes en la avena; se encuentra en una cantidad de unos 5,6 g/100 g en el grano y 10,1 g/100 g en los copos de avena (Moreiras, 2017). Son de sobra conocidos los efectos beneficiosos del consumo de fibra para la prevención de enfermedades gastrointestinales, como estreñimiento (Meier, 2004), colitis ulcerosa (Meier, 2004; Roediger, 1980; Fernández-Bñares, 1999), diarrea (Meier, 2004; Zopf, 1996), diverticulitis (Aldoori, 1998) o cáncer colorrectal (Asano, 2005). Sin embargo, más recientemente se está evaluando su papel frente a algunas enfermedades crónicas no transmisibles, como la enfermedad cardiovascular, debido a la disminución en la absorción de colesterol en el intestino delgado, y a su acción quelante de las sales biliares (Escudero Álvarez, 2006), la hipertensión arterial o la diabetes. Diversos estudios han documentado el papel de la fibra dietética, sobre todo la fibra soluble, en la reducción del colesterol sanguíneo (Brown, 1999; Estruch, 2009). Este efecto hipocolesterolémico también se ha asociado específicamente a los  $\beta$ -glucanos de la avena (Keenan, 2007; Keenan, 2007). Por otra parte, una ingesta elevada de fibra dietética se ha relacionado con un descenso de la presión sanguínea, tanto diastólica como sistólica, especialmente en sujetos hipertensos (Streppel, 2005; Whelton, 2005).

Se han realizado varios trabajos que sostienen que la fibra podría tener un efecto protector frente al desarrollo de la diabetes mellitus. Los mecanismos implicados podrían ser el retraso en el vaciamiento gástrico y en la absorción de los hidratos de carbono; la acción de la insulina también podría verse afectada (Jenkins, 1994). Así, se ha documentado una disminución de la glucemia postprandial de un 21% en sujetos con un consumo de fibra al día mayor de 42,5 g (Silva, 2013); en estos pacientes también se vio reducida la hemoglobina glicosilada. Los principales efectos de la fibra sobre la glucemia se han descrito para la fibra soluble (Sánchez Almaraz, 2015).

Los  $\beta$ -glucanos son homopolisacáridos de moléculas de glucosa unidas con enlaces  $\beta$  (1-3) y  $\beta$  (1-4) que pueden presentar ramificaciones. Esta estructura hace que no sean digeribles en el intestino humano, puesto que no existen enzimas capaces de degradarla; por eso se consideran fibra soluble. En los cereales se encuentran en el endospermo, aunque no todos tienen la misma cantidad. Los cereales más ricos en  $\beta$ -glucanos son la cebada (2-20 g  $\beta$ -glucanos /100 g cebada; 65% hidrosoluble) y la avena (3-7 g  $\beta$ -glucanos /100 g avena; 82% hidrosoluble). Los  $\beta$ -glucanos forman soluciones viscosas al mezclarse con agua, de forma que retrasan el vaciamiento gástrico, mejorando la absorción de nutrientes. Se ha documentado para estos compuestos un papel hipocolesterolémico. El grupo de Ripsin (Ripsin, 1992) demostró que el consumo de entre 1,1 -7,6 g de  $\beta$ -glucanos procedentes de la avena durante periodos de consumo desde 18 días hasta 12 semanas redujo el colesterol una media de 5,9 mg/dl. Este efecto fue mayor en los pacientes hipercolesterolémicos que consumían más de 3 g  $\beta$ -glucanos/día. Estos efectos han sido confirmados en un meta-análisis (Tiwari, 2011). Los  $\beta$ -glucanos también mejoran la glucemia. Diversos estudios han concluido que el consumo de unos 4 g de  $\beta$ -glucanos de avena disminuye la glucemia e insulinemia postprandial frente a otros productos que no contienen  $\beta$ -glucanos (Granfeldt, 2007).

Las avenantramidas son metabolitos con potentes propiedades antioxidantes que únicamente se encuentran en la avena, fundamentalmente en la capa de la aleurona (Flores, 2012). Estas propiedades han sugerido un posible papel para la avena en la prevención de la inflamación arterial, desarrollo de arterioesclerosis e inhibición de la proliferación de células cancerosas en el colon (Nie, 2007).

Estos efectos fisiológicos de la avena y su papel beneficioso para la salud han favorecido el diseño y desarrollo de alimentos funcionales elaborados total o parcialmente con avena o alguno de sus componentes (Pizarro, 2014).

### **La avena como ingrediente funcional**

Según el Instituto Internacional de Ciencias de la Vida en Europa (ILSI-Europe), “Un alimento puede considerarse funcional si ha demostrado satisfactoriamente que afecta de manera beneficiosa a una o más funciones del organismo, más allá de sus efectos nutricionales, de manera que es relevante tanto para mejorar el estado de salud y bienestar como para reducir alguno de los factores de riesgo de enfermedades” (Rodríguez Vicente, 2011).

En el año 2006 el Parlamento Europeo publicó el Reglamento Europeo 1924/2006, de 20 de diciembre, que entró en vigor el 1 de julio de 2007, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos, que regula los alimentos funcionales (Reglamento (CE) 1924/2006, de 20 de diciembre).

Así, para que un alimento pueda ser considerado como funcional tiene que demostrarse satisfactoriamente que, además de sus efectos nutritivos, afecta beneficiosamente a una o más funciones del organismo, de modo que mejore el estado de salud o bienestar y/o reduzca el riesgo de enfermar. En el artículo 6 del citado reglamento, la normativa establece que “Las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables deberán basarse y fundamentarse en pruebas científicas generalmente aceptadas”. Sólo se permite utilizar las declaraciones de propiedades saludables de los alimentos que hayan sido

autorizadas por la Comisión, y que hayan sido incluidas la lista de declaraciones autorizadas.

Esa lista de declaraciones permitidas se publicó en el Reglamento (UE) 432/2012 de la Comisión, de 16 de mayo de 2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños (Reglamento (UE) 432/2012, de 16 de mayo). La normativa también establece que, para poder utilizar alguna de estas alegaciones permitidas, deben cumplirse determinadas condiciones establecidas en cada caso (publicadas en el anexo del Reglamento 432/2012). Para la avena se permiten las siguientes declaraciones de propiedades saludables en referencia al papel de los  $\beta$ -glucanos (Reglamento (UE) 432/2012, de 16 de mayo):

- “El consumo de betaglucanos procedentes de la avena o cebada en una comida contribuye a reducir la subida de glucosa en sangre después de comer”. “Esta declaración sólo puede utilizarse respecto a alimentos que contienen un mínimo de 4 g de betaglucanos procedentes de avena o cebada por cada 30 g de hidratos de carbono presentes en una porción cuantificada como parte de la comida. Para que un producto pueda llevar esta declaración, se informará al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene tomando betaglucanos procedentes de avena o cebada como parte de la comida”.
- “Los betaglucanos contribuyen a mantener niveles normales de colesterol sanguíneo”. “Esta declaración puede utilizarse únicamente respecto a alimentos que contengan, como mínimo, 1 g de betaglucanos procedentes de avena, salvado de avena, cebada o salvado de cebada, o bien de mezclas de estos betaglucanos por porción cuantificada. Para que un producto pueda llevar esta declaración, se informará al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene con una ingesta diaria de 3 g de betaglucanos procedentes de avena, salvado de avena, cebada o salvado de cebada, o bien de mezclas de estos betaglucanos”.
- “La fibra del grano de avena contribuye a que aumente el volumen de las heces”. “Esta declaración sólo puede utilizarse respecto a alimentos con alto contenido de la citada fibra, de acuerdo con la declaración ALTO CONTENIDO DE FIBRA que figura en el anexo del Reglamento (CE) 1924/2006”; es decir, si el producto contiene como mínimo 6 g de fibra por 100 g ó 3 g de fibra por 100 kcal.

## 2. JUSTIFICACIÓN

---

Las altas presiones hidrostáticas son una tecnología no térmica que ha sido altamente explorada por su efecto higienizante, pero poco estudiada desde el punto de vista nutricional.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la presión y de la humedad sobre una harina de avena y analizar las propiedades nutricionales y funcionales de esta harina al ser incluida en una fórmula de un producto panificable tipo magdalena.

Es evidente que la aplicación de las altas presiones en el procesado de alimentos permite obtener productos con una mejor calidad y seguridad alimentaria. Además, desde la perspectiva dietético-nutricional, es de gran interés estudiar si con esta tecnología es posible, incluso, mejorar el perfil nutricional y las características organolépticas de los productos obtenidos. En este supuesto, la tecnología de las altas presiones permitiría obtener alimentos seguros, con perfiles nutricionales mejorados que aportarían diferentes beneficios para la salud; es decir alimentos funcionales.

Actualmente las características de nuestra dieta difieren del patrón de dieta equilibrada y saludable (modelo “Dieta Mediterránea”). La occidentalización de nuestro patrón dietético, junto con el creciente sedentarismo en nuestra sociedad, han favorecido el desarrollo y el aumento de la prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), enfermedades que condicionan una alta tasa de morbi-mortalidad en nuestro medio.

Con independencia de otras medidas dietético-nutricionales que promueven la vuelta a la dieta mediterránea, disponer de una amplia gama de alimentos funcionales constituye una buena estrategia para mejorar el estado nutricional y, en consecuencia, la salud integral de nuestra población. Por lo tanto, la creación de alimentos funcionales a partir de las altas presiones puede ser una buena alternativa para fomentar una alimentación más saludable, manteniendo siempre el valor nutritivo y las características organolépticas en productos con la máxima calidad y seguridad alimentaria.

## 3. OBJETIVOS

---

### 3.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un producto panificable con propiedades saludables y funcionales, con un bajo índice glucémico y alta capacidad antioxidante, mediante la aplicación de altas presiones hidrostáticas (APH) a muestras con distinto grado de humedad.

### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Los objetivos específicos fueron los siguientes:

- Diseñar un experimento que permita explorar simultáneamente el efecto de la presión y la humedad sobre las propiedades del producto.
- Formular un producto panificable, tipo magdalena, con harinas tratadas con distintas presiones y valores de humedad.
- Analizar la capacidad antioxidante, el contenido en almidón y el índice glucémico de distintas muestras de magdalenas, después del tratamiento con altas presiones, y evaluar las diferencias entre ellas.
- Analizar la composición nutricional y la calidad sensorial de las distintas muestras de magdalenas, después del tratamiento con altas presiones, y evaluar las diferencias entre ellas. Este objetivo no pudo ser completado por la situación sanitaria del año 2020.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1. MATERIA PRIMA

Para la elaboración de las magdalenas se empleó harina integral de avena.

Se prepararon 13 muestras de 150 g harina integral de avena con diferente grado de humedad, según refleja la Tabla 2. La harina integral de avena tenía una humedad inicial del 10,78% (16,16 g de agua en 150 g de harina).

Número de muestras	Humedad (%)	Agua (g)
3	30	23,99
7	45	44,07
3	60	64,14

*Tabla 2. Preparación de las muestras de harina con distinto grado de hidratación.*

Una de las muestras de harina con humedad del 45% se utilizó como muestra control, puesto que no fue sometida a altas presiones.

### 4.2. TRATAMIENTO CON ALTAS PRESIONES

#### **Diseño experimental**

Se empleó un diseño central compuesto de dos factores (presión y humedad) para la optimización del proceso de elaboración de las magdalenas de harina de avena integral. El resultado se midió mediante la metodología de superficie de respuesta (RSM).

La metodología de superficie de respuesta es un tratamiento matemático y estadístico que se emplea para analizar una respuesta que está influida por diversas variables cuantitativas. El objetivo inicial de esta técnica es el diseño de un experimento que proporcione valores de la variable respuesta para distintos valores de los factores de los que ésta depende y estimar el modelo matemático que mejor se ajuste a los resultados obtenidos. El objetivo final es establecer los valores de los factores que optimizarían el valor de la variable respuesta. Esta técnica se emplea frecuentemente en la industria alimentaria para el diseño, desarrollo y formulación de nuevos productos, así como para mejorar los ya existentes.

La combinación de humedad de las harinas (30% hasta 60%) / presión del tratamiento al que iban a ser sometidas las muestras del estudio (1000 hasta 6000 atm) se refleja la Tabla 3.

Las 12 muestras que iban a ser sometidas a altas presiones se envasaron a vacío y se sellaron. Posteriormente fueron introducidas en un equipo de altas presiones Hiperbaric 135 L (Figura 5), a la presión correspondiente en cada caso durante 6 minutos.

Ensayo	Presión (atm)	Humedad (%)
1	6000	60
2	1000	45
3	6000	45
4	6000	30
5	3500	45
6	3500	60
7	1000	30
8	3500	45
9	1000	60
10	3500	45
11	3500	45
12	3500	30
<b>Control</b>	—	45

**Tabla 3.** *Diseño de metodología de superficie respuesta (RSM) en el que se estudian las combinaciones de humedad y presión de las 12 muestras de estudio y el control.*



**Figura 5.** *Máquina de altas presiones hidrostáticas Hiperbaric 135 L.*

A continuación, se dejaron reposar las muestras de harina antes de proceder a la preparación de las magdalenas.



### 4.3. ELABORACIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MAGDALENAS

#### Ingredientes para las magdalenas

Para la elaboración de 8 magdalenas se emplearon los siguientes ingredientes:

- 150 g de harina de avena integral
- 3 huevos
- 10 g de aceite de oliva virgen extra
- 12,1 g de levadura
- 50 g de azúcar
- 75 ml de leche, preparados a partir de leche en polvo
- Agua

#### Formulación

Antes de comenzar a mezclar los ingredientes para la elaboración de las magdalenas, se preparó la leche a partir de leche en polvo, de diferente manera para las muestras con distinta humedad, de forma que la cantidad de agua a añadir a la leche en polvo se calculó teniendo en cuenta que la humedad mínima que se debía conseguir era del 30% y que la humedad final de la magdalena en los tres tipos de muestras debía de ser la misma.

Además, se conoce que cada g de leche en polvo debe ser disuelto en 10 ml de agua. La Tabla 4 resume las cantidades de agua y leche añadidas a cada muestra:

Humedad (%)	Leche en polvo (g)	Agua (ml)
30	7,5	75
45	7,5	54,92
60	7,5	34,83

*Tabla 4. Preparación de las mezclas de leche y agua para elaborar las magdalenas.*

#### Receta

Se prepararon 13 formulaciones de magdalenas, cada una a partir de la muestra correspondiente: las 12 formulaciones correspondientes al diseño RSM y la muestra control no presurizada y con una humedad intermedia.

En cada caso, se añadieron a la muestra de harina los huevos, el aceite de oliva virgen extra, el azúcar, la levadura y la leche anteriormente preparada. Se mezclaron bien todos los ingredientes y se introdujo la mezcla en el frigorífico durante 30 minutos.

Pasado ese tiempo, se repartió cada mezcla en 8 moldes de magdalena correctamente identificados. Se introdujeron en un horno de convección con aire caliente a 180°C durante 20 minutos.

De cada lote de 8 magdalenas, se envasaron juntas 3 unidades a vacío y congelaron a -18°C hasta su procesado.

### **Secado y triturado de las magdalenas**

Una vez preparados todos los lotes de muestras, se procedió a su secado mediante la aplicación de calor, para retirar la humedad de las muestras y que ésta no interfiera en los resultados.

Para ello se empleó la mitad de las magdalenas congeladas. Éstas se lonchearon en láminas de 1 cm aproximadamente, que se extendieron sobre un papel que se colocó en las bandejas del horno. Las bandejas con las magdalenas loncheadas se introdujeron en un horno de convección a 40°C durante 40 minutos, para el secado.

A continuación, se pesaron todas las muestras.

Se tomó la misma cantidad de los tres lotes de cada tipo de muestra (misma presión y misma humedad) y se mezclaron antes de la molienda. Esta mezcla se introdujo en el molino de cocina hasta triturarlas y conseguir una harina fina.

Parar asegurar una buena eliminación de la humedad, se colocaron 10 g de cada muestra en placas de Petri por duplicado; se cerraron con Parafilm agujereado y se metieron a una incubadora de calor a 25°C durante 24 horas.

Una vez pasado ese tiempo, se introdujo el contenido de las placas de Petri en tubos de Nalgene correctamente identificados para su posterior estudio en el laboratorio.

### **Desgrasado de las muestras**

Las muestras anteriormente preparadas fueron desengrasadas para evitar que el contenido en grasa pueda alterar los resultados.

Para ello se pesaron 10 g de magdalena previamente secada y triturada. La muestra se añadió a un Erlenmeyer de 250 ml con hexano en proporción 1:5; se tapó correctamente con Parafilm, y se colocó en un agitador mecánico durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación, se filtró con un embudo Buchner para separar la mezcla desgrasada del hexano.

Se repite esta operación.

#### **4.4. ANÁLISIS DE LAS MAGDALENAS**

##### **Determinación de la humedad de la harina**

La humedad de la harina de avena (muestras de 10 g) se determinó con el analizador de humedad Sartorius MA35. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

La humedad de la harina integral de avena empleada fue del 10,78%.

##### **Contenido en almidón**

La finalidad de esta prueba consiste en convertir el almidón presente en el producto a analizar en glucosa, y, de este modo, determinar la biodisponibilidad de almidón en el alimento.

En primer lugar, se prepararon 100 mg de muestra en diferentes tubos de Nalgene. Una vez preparados, se añadió en cada uno 0,2 ml de etanol acuoso (80% v/v) para ayudar a la dispersión de la muestra. Seguidamente, se añadieron 2 ml de dimetilsulfóxido (DSMO) y se introdujeron en agua hirviendo a 100 °C durante 5 minutos. Pasado este tiempo se añadieron 3 ml de  $\alpha$ -amilasa termoestable, y se llevaron a incubar en un baño de agua hirviendo a 95°C durante 12 minutos con agitaciones de 4 minutos de forma periódica, para ayudar a la solubilización total del almidón y la hidrólisis de las dextrinas. Transcurrido el tiempo y después de atemperar las muestras, se añadieron 0,1 ml de amiloglucosidasa (3000 U/ml, Megazyme), y se introdujeron de nuevo los tubos al baño a 50°C durante 30 minutos; de este modo se consigue que las dextrinas del almidón se hidrolicen cuantitativamente a D-glucosa.

Una vez realizada la incubación, se pasó el contenido de cada uno de los tubos de Nalgene a diferentes matraces aforados de 100 ml y se enrasó con agua destilada. Se tomó de cada matraz 1 ml y se añadió a un tubo eppendorf, que se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos a una temperatura de 25°C.

Cuando terminó el proceso de centrifugación, se transfirieron alícuotas de 20  $\mu$ l de sobrenadante por duplicado. También se preparó un blanco con 20  $\mu$ l de agua y un estándar de 20  $\mu$ l de D-glucosa. Se añadieron en todos los tubos 600  $\mu$ l de reactivo de GOPOD (reactivo de glucosa-oxidasa/peroxidasa), preparado previamente con soluciones del Kit Megazyme (glucosa oxidasa (>12000 U), peroxidasa (>650 U) y 4-aminoantipirina (80 mg)), y se introdujeron en un baño de agua a 50°C durante 20 minutos.

Para terminar, se añadieron 200  $\mu$ l de cada tubo por duplicado en una microplaca de 96 pocillos y se llevó a medir la absorbancia a 510 nm en un lector de placas (FluOstar Omega, BMG). Los resultados se expresan en % de almidón utilizando como referencia la absorbancia del estándar de D-glucosa 1 mg/ml según la siguiente ecuación:

% de almidón

$$= (\text{Abs muestra corregida por el blanco de ensayo}) \times F \times \frac{FV}{0,2} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180}$$

Donde:

F= 20/ Abs obtenida por medio del estándar de D-glucosa (20 µg glucosa en rxn)

VF/0,02= volumen final / 0,02 ml son los puestos de la muestra en la reacción

162/180= ajuste de D-glucosa libre a D-glucosa anhidro (como está en el almidón)

### **Índice glucémico**

Este es un proceso *in vitro* mediante el cual se puede medir la tasa de digestión del almidón en el organismo mediante la creación de unas condiciones fisiológicas similares a las del estómago. Por ello, se analiza cada muestra en momentos concretos, es decir, a tiempo 0, 10, 20, 30, 60, 90 y 120 minutos.

En primer lugar, se prepararon los compuestos necesarios para llevar a cabo los análisis: AA + AMG ( $\alpha$ -amilasa (20 mg/ ml + amiloglucosidasa en buffer de tris-maleato 6,6 U/mg). Una vez preparados estos compuestos, se procedió a la preparación de los vasos de precipitados con la muestra húmeda de 50 mg de almidón biodisponible y se introdujeron en el agitador magnético precalentado a 37°C (el cual reproduce las condiciones de la digestión) con agitación. Se añadieron 2 ml de buffer de Tris-maleato.

Durante el tiempo de incubación se añadió a cada una de las muestras la mezcla anteriormente preparada, AA + AMG ( $\alpha$ -amilasa (20 mg/ ml + amiloglucosidasa en buffer de tris-maleato 6,6 U/mg). Nada más añadir estos reactivos, se procedió a coger la primera alícuota de 150 µg en un eppendorf a tiempo 0 minutos. Esta alícuota se puso a incubar a 95°C (para frenar la digestión) durante 5 minutos. Una vez pasado el tiempo, se introdujo en hielo a 4°C.

Este proceso se repitió hasta los 120 minutos en cada uno de los tiempos indicados. Una vez pasado el tiempo, y teniendo todas las muestras frías, se añadieron 150 µg de alcohol etílico (EtOH) absoluto y se introdujeron en una centrífuga a 10000 rpm, durante 5 minutos a 4°C.

Una vez transcurrido el tiempo, se cogió de cada uno de los eppendorf 240 µg de sobrenadante y se introdujeron en un nuevo eppendorf. Al eppendorf del que se extrajo el sobrenadante y en el que quedaba el sólido, se añadieron 150 µg de mezclas etílicas (EtOH: H<sub>2</sub>O (1:1)) y se introdujeron de nuevo en la centrifugadora a 10 000 rpm, durante 5 minutos a 4°C.

En los eppendorfs en los que se añadieron los primeros 240 µg de sobrenadante, se añadieron 120 µg de sobrenadante de los últimos eppendorf que se habían introducido de nuevo a la centrifugadora.

Se preparó la última tanda, en la que se añadieron en los eppendorf 20 µg de los sobrenadantes anteriormente preparados, un blanco (20 µg de EtOH: H<sub>2</sub>O (1:1)) y dos estándares de D-glucosa con 20 µg de ésta. En todos los eppendorf preparados en esta tanda se añadieron 600 µl de reactivo GOPOD y se introdujeron a incubar en un baño de agua a 50°C durante 20 minutos.

Una vez transcurrido el tiempo, se transfirieron 200 µl de cada eppendorf a una microplaca con pocillos por duplicado para su posterior análisis de la absorbancia a 510 nm en lector de placas (FluOstar Omega, BMG).

Para realizar los cálculos necesarios, primero se deben corregir los valores obtenidos mediante el blanco del ensayo, utilizando como referencia la absorbancia del estándar de glucosa 1 mg/ml. Los resultados se expresan en µg/ml:

$$\mu g \frac{\text{glucosa}}{\text{ml}} = \frac{\text{abs de la muestra (corregida)} \times 1000}{\text{abs estándar de Gluc (corregida y valor medio)}}$$

Seguidamente, se debe de estimar el área bajo la curva AUC para cada muestra. Esto corresponde a la concentración de glucosa a lo largo del tiempo, y se calcula mediante una suma de los rectángulos formados entre el tiempo de muestreo y el valor de concentración de la glucosa. De este modo, se calcula el Índice de Hidrólisis (IH):

$$IH = \frac{AUC \text{ muestra}}{AUC \text{ pan blanco}} \times 100$$

Por último, para estimar el Índice Glucémico predecible (pGI) se utiliza la siguiente ecuación (Granfeldt, 1992):

$$pGI = 8,198 + (0,862 \times IH)$$

### **Capacidad antioxidante**

La capacidad antioxidante se determinó mediante el método “QUENCHER” (*Quick, Easy, New, Cheap and Reproducible*), que es un método directo que se utiliza en alimentos ricos en fibra, como los cereales. Además, es un método adecuado para alimentos sólidos con baja humedad (Gökmen, 2009). Este procedimiento no requiere extracción ni hidrólisis previa.

Este método indirecto estima la capacidad de reducción del catión ABTS<sup>+</sup>. Este catión se genera mediante la oxidación de ABTS (2,2'-azinobis-(3etilbenzotiazolin)-6-sulfonato sal diamónica) con persulfato potásico (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>). Para llevar a cabo este ensayo se preparó una curva de estándares de Trolox (Sigma Aldrich Co) con etanol:agua (50:50, v:v) de

concentraciones 240, 120, 60, 30, 15, 7.5 mM y se tomaron de cada una de ellas alícuotas de 160  $\mu$ l.

Se prepararon 10 mg de muestras sólidas sobre las que se añadieron los 160  $\mu$ l de la mezcla etanol:agua (50:50, v:v) para compensar la curva de Trolox. Una vez preparada esta mezcla, se añadieron 1,6 ml de la mezcla de ABTS diluida a cada una de las muestras y a la curva de Trolox. Se llevaron a un agitador de Eppendorf (Thermomixer Compact, Eppendorf, AG, Hamburgo, Alemania) y se agitaron a oscuras durante 30 minutos a 25°C. Después se introdujeron en la centrifugadora 2 minutos a 1400 rpm.

Terminado todo este proceso, se vertieron en placas de 96 pocillos 300  $\mu$ l de cada muestra por duplicado, las soluciones correspondientes a las curva de estándares de Trolox (Sigma Aldrich Co) (240  $\mu$ M a 7,5  $\mu$ M) y el blanco de etanol:agua (50:50, v:v). Se midió la absorbancia a 730 nm en un lector de placas (FluOstar Omega, BMG). Los resultados se expresan en equivalentes de Trolox por 100 g de muestra.

#### **4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las variables de respuesta analizadas fueron el índice glucémico, el contenido en almidón y la capacidad antioxidante (determinada mediante el método ABTS directo). Las respuestas se expresaron mediante un modelo de superficie de respuesta (RSM) de grado dos.

Las diferencias entre las variables se analizaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA).

Para evaluar las diferencias y efectos significativos de cada factor en cada variable de respuesta se construyó un diagrama de Pareto estandarizado, con un valor de confianza del 95%. Los efectos de los factores (presión y temperatura) sobre las variables también se analizaron mediante la gráfica de superficie de respuesta.

Se construyeron modelos de regresión predictivos para cada variable.

La significación se alcanzó con  $p < 0,05$ .

El análisis estadístico se realizó con el programa STATGRAPHICS Centurion XVI. II.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El trabajo tenía como objetivo el desarrollo de un producto panificable tipo magdalena con un bajo índice glucémico y alta capacidad antioxidante. El uso de altas presiones hidrostáticas (APH) y el control de la humedad de la harina tratada fueron las variables (factores) utilizadas para poder alcanzar los objetivos propuestos.

Como herramienta matemática y estadística para modelar y analizar las variables de interés cuando están influenciadas por otras se empleó la Metodología de la Superficie de Respuesta (RSM). El objetivo final de esta herramienta matemática es establecer los valores de los factores que optimizan el valor de la variable respuesta (% almidón, IG, capacidad antioxidante). Las combinaciones de presión y humedad empleadas en el ensayo se muestran en la Tabla 5.

Ensayo	Día de ensayo	Presión (atm)	Humedad (%)
<b>1</b>	1	6000	60
<b>2</b>	1	1000	45
<b>3</b>	1	6000	45
<b>4</b>	2	6000	30
<b>5</b>	2	3500	45
<b>6</b>	2	3500	60
<b>7</b>	3	1000	30
<b>8</b>	3	3500	45
<b>9</b>	3	1000	60
<b>10</b>	4	3500	45
<b>11</b>	4	3500	45
<b>12</b>	4	3500	30
<b>Control</b>	4	—	45

*Tabla 5. Diseño RSM empleado en el estudio.*

Es por ello que el objetivo inicial fue analizar el efecto de la humedad y de la presión sobre un producto panificable obtenido a partir de harinas tratadas mediante la evaluación del almidón, composición nutricional, índice glucémico, capacidad antioxidante y análisis sensorial.

La declaración del estado de alarma en marzo de 2020 debido a la situación sanitaria provocada por la COVID-19 impidieron terminar el trabajo inicialmente planteado. Así, aunque se habían tratado las diferentes muestras de acuerdo con el diseño elaborado y se habían realizado los diferentes productos panificables para la realización de los análisis previstos, debido a la situación anteriormente expuesta sólo pudieron ser analizados algunos parámetros.

## 5.1. CONTENIDO EN ALMIDÓN

El contenido en almidón de las 12 muestras evaluadas se muestra en la Tabla 6.

Muestra	Presión (atm)	Humedad (%)	Almidón (%)
1	6000	60	10,95
2	1000	45	8,24
3	6000	45	14,33
4	6000	30	16,93
5	3500	45	14,26
6	3500	60	9,27
7	1000	30	6,21
8	3500	45	10,81
9	1000	60	14,09
10	3500	45	18,42
11	3500	45	10,35
12	3500	30	11,71

*Tabla 6. Contenido en almidón de las 12 muestras de estudio.*

En la muestra de control el contenido de almidón obtenido fue de 7,14%.

El modelo de regresión ajustado para el almidón fue el siguiente:

$$\text{Almidón (\%)} = -15,1782 + 0,00541202*P + 0,759347*H - 4,91426 \cdot 10^{-8}*P^2 - 0,0000923731*P*H - 0,00491178*H^2$$

donde: P: presión (atm) y H: humedad (%).

Para el modelo la  $R^2$  fue de 0,596 (59,6%) ( $p > 0,05$ ).

Los efectos de las altas presiones y la humedad sobre el contenido en almidón se representan mediante el diagrama de Pareto estandarizado y la gráfica de la superficie de respuesta en las Figuras 6 y 7. Se observó un efecto lineal con la presión y la humedad, aunque sin significación estadística (Figura 7 y Tabla 7). La figura muestra cómo a bajas presiones el contenido de almidón aumenta con la humedad, pero a presiones elevadas ocurre lo contrario.



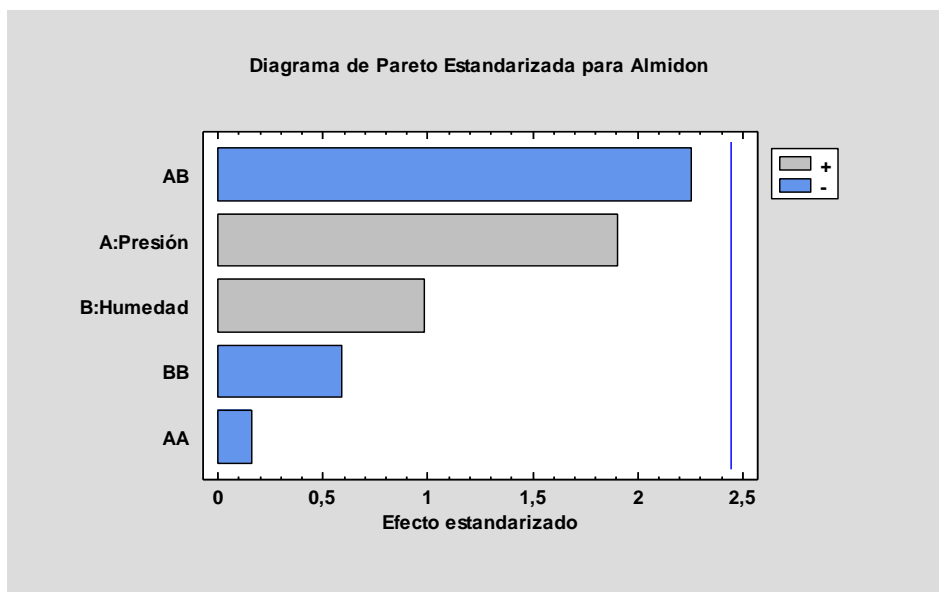


Figura 6. Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido en almidón.

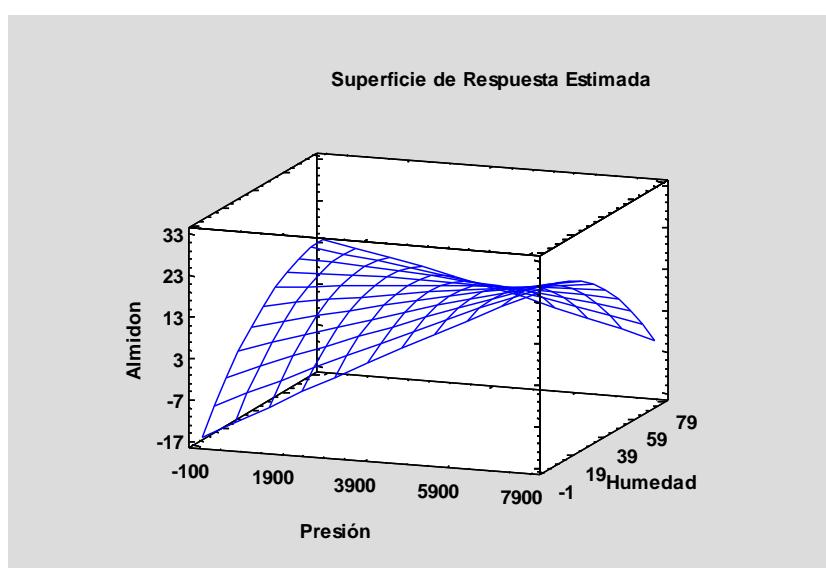


Figura 7. Gráfica de la superficie de respuesta para el contenido en almidón.

Fuente	Suma de Cuadrados	Significación (p)
<b>A: Presión</b>	34,1747	0,1060
<b>B: Humedad</b>	9,16436	0,3629
AA	0,251562	0,8758
AB	47,997	0,0652
BB	3,25696	0,5786

Tabla 7. Análisis de la varianza de los efectos de las APH y la humedad sobre el contenido en almidón.

En primer lugar, hay que tener en cuenta los valores de  $R^2$ , la cual se ve afectada por la humedad y la presión, y que relaciona los efectos obtenidos con respecto al modelo de cálculo utilizado. En este caso, como el valor obtenido es superior al 40-50%, sí que existe una relación de estos valores con el modelo empleado.

La ecuación del modelo utilizada proporciona valores predictivos, lo que permite predecir lo que ocurriría con la aplicación de humedades y presiones fuera del rango empleado. De este modo se puede obtener el valor de almidón a cualquier humedad y presión deseada.

El modelo RSM fue desarrollado para evaluar el valor del almidón con respecto a la presión y la humedad. En relación con el diagrama de Pareto (Figura 6), se observa que el parámetro AB, es decir, la relación de la humedad y la presión, puede tener relevancia en los valores de almidón obtenidos. El siguiente valor más relevante sería la presión, seguida de humedad y de los valores al cuadrado de humedad y presión. A pesar de que el parámetro AB tiene relevancia en el almidón, ninguno de los 5 parámetros es estadísticamente significativo. De acuerdo con la gráfica de superficie respuesta (Figura 7) se puede observar que, a valores de presurización menores, el contenido de almidón aumenta con la humedad; en el caso de valores de presurización mayores ocurre lo contrario.

En el caso de almidón es importante tener en cuenta que la hidratación de los productos que contienen almidón favorece la gelatinización de este almidón; esta gelatinización se entiende como una pérdida de la estructura del almidón. Se ha comprobado que las altas presiones frenan la hinchazón de los gránulos de almidón, manteniendo así la estructura granular y produciendo un aumento del volumen del producto (Pei-Ling, 2010).

El almidón se puede encontrar en tres formas distintas: almidón resistente (RS), almidón de digestión lenta (SDS), y almidón de digestión rápida (RDS). Aunque desde el punto de vista metabólico sería deseable conseguir productos alimentarios que tuvieran un elevado valor de SDS, la aplicación de las altas presiones hidrostáticas aumenta el contenido de almidón resistente. Esta forma de almidón también presenta numerosos beneficios para la salud, como la regulación de la concentración de glucosa en sangre (Huang, 2020).

## 5.2. ÍNDICE GLUCÉMICO (IG)

La Tabla 8 recoge los valores del índice glucémico (IG) determinados en las 12 muestras de magdalenas elaboradas con harina de avena integral.

El IG obtenida en la muestra de control (no sometida a APH, con una humedad del 45%) fue de 57,1.

Muestra	Presión (atm)	Humedad (%)	IG
1	6000	60	52,8
2	1000	45	52,9
3	6000	45	53,4
4	6000	30	46,6
5	3500	45	52,3
6	3500	60	50,8
7	1000	30	51,7
8	3500	45	51,1
9	1000	60	47,4
10	3500	45	45,2
11	3500	45	48,5
12	3500	30	46,0

*Tabla 8. Índice glucémico de las 12 muestras de estudio.*

La ecuación del modelo de regresión ajustado obtenido fue la siguiente:

$$\text{Índice glucémico} = 42,276 - 0,00594296 * P + 0,713983 * H + 4,10088 \cdot 10^{-7} * P^2 + 0,0000695427 * P * H - 0,00981644 * H^2$$

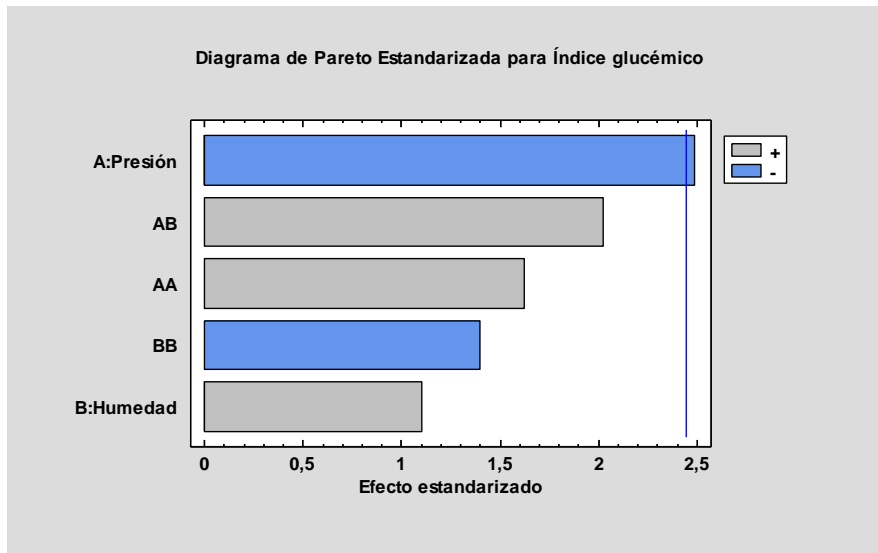
donde: P: presión (atm) y H: humedad (%).

Para el modelo la R<sup>2</sup> fue de 0,5908 (59,08%) (p=0,048).

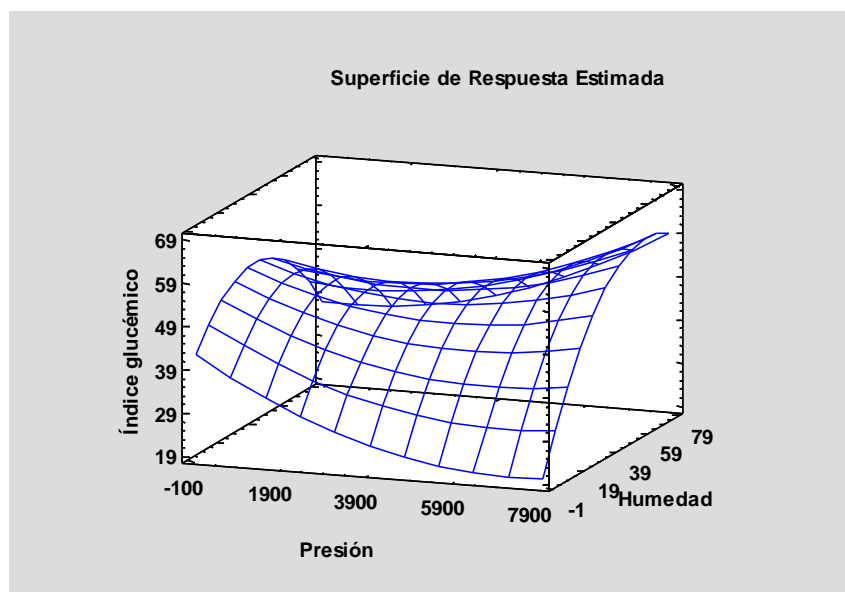
Las Figuras 8 y 9 muestran el diagrama de Pareto estandarizado y la gráfica de la superficie de respuesta para el índice glucémico. El IG mostró un efecto lineal significativo con la presión. El incremento de la presión produjo una reducción en el índice glucémico, que fue más acusado en las muestras con baja hidratación. No se observó un efecto interactivo de la humedad sobre la presión. Los resultados del análisis de la varianza se resumen en la Tabla 9.

Fuente	Suma de Cuadrados	Significación (p)
<b>A: Presión</b>	41,2089	0,0474
<b>B: Humedad</b>	8,10209	0,3124
<b>AA</b>	17,5179	0,1560
<b>AB</b>	27,2035	0,0898
<b>BB</b>	13,0089	0,2118

*Tabla 9. Análisis de la varianza de los efectos de las APH y la humedad sobre el índice glucémico.*



*Figura 8. Diagrama de Pareto estandarizado para el índice glucémico. Efecto de la presión significativo.*



*Figura 9. Gráfica de la superficie de respuesta para el índice glucémico.*

De nuevo en este caso, el valor de la  $R^2$  es superior al 40-50% ( $R^2=59,08\%$ ), por lo que se observa una relación de la humedad y la presión sobre el IG en el modelo utilizado. Del mismo modo, la ecuación obtenida permite predecir el valor de IG al aplicar valores de humedad y presión fuera del rango analizado.

El diagrama de Pareto (Figura 8) muestra que la presión (parámetro A) tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el IG. El siguiente valor más relevante sería la relación entre la presión y la humedad, seguida de los valores al cuadrado de presión y

humedad, y por último el valor de humedad, aunque estos últimos 4 valores no son significativos. En la gráfica de superficie respuesta (Figura 9) se puede observar que, a valores de presurización mayores, se produce un descenso del IG; es decir, existe un efecto lineal negativo. Es importante tener en cuenta que, al ser un modelo predictivo, los valores máximos de presión descritos en la gráfica son mayores que los alcanzados en el laboratorio (el valor del IG más bajo se alcanza, en el modelo, a casi 8000 atm). Aunque el efecto de la humedad no fue estadísticamente significativo, existe una tendencia, de forma que las muestras presurizadas con menor humedad presentan IG más bajos.

Por otra parte, el índice glucémico de todas las muestras sometidas a APH fue más bajo que el de la muestra de control, no presurizada (IG=57,1).

A la luz de los resultados obtenidos, se observa que el tratamiento de las muestras con las mayores presiones (dentro del rango utilizado) y baja humedad da lugar a productos con mayor contenido en almidón, porque no se ha producido la gelatinización del almidón, sino que se ha generado almidón resistente, lo que da lugar a productos con un IG más bajo. Cuando el contenido en humedad es mayor, el porcentaje de almidón es menor, porque, aunque las altas presiones reducen la gelatinización del almidón, es posible que el efecto de la humedad haya favorecido parcialmente esta reacción, dando lugar a productos con mayor IG. Y, la muestra no tratada, es la que presenta un IG más elevado, porque la gelatinización del almidón ha sido mayor que en las muestras presurizadas.

Existe una relación significativa entre el almidón de los alimentos y la respuesta glucémica de los mismos, es decir, el índice glucémico (IG). Esta relación se basa en que, en función de la microestructura que presente el grano de almidón, será más sencillo o más difícil el acceso de las enzimas a dicho compuesto para su digestión, lo que determinará un IG más alto o más bajo de ese alimento. De este modo, el almidón con una estructura más compacta y ordenada (almidón de digestión lenta o SDS) es de más difícil acceso a las enzimas para su digestión, por lo que los alimentos que lo contengan tendrán un IG más bajo; mientras que el almidón con una estructura más abierta o desordenada (almidón de digestión rápida o RDS) será más fácil y rápido de digerir, teniendo sus alimentos un IG alto (Parada, 2008). La gelatinización del almidón, que se produce en presencia de agua (mayor humedad), hace que se pierda su estructura, generando estructuras más abiertas y desordenadas y, por tanto, más accesibles para las enzimas y de más fácil digestión. Se ha observado que la aplicación de altas presiones reduce esta desestructuración (Pei-Ling, 2010), dificultando su digestión por parte de las enzimas, generando una respuesta glucémica más baja.

Para una alimentación saludable se recomienda emplear alimentos con IG bajos. Diversos estudios han documentado que dietas con bajo IG favorecen el control glucémico posprandial. Existen fuertes evidencias de la relación entre el seguimiento de dietas con bajo IG y el control de la glucemia en diabetes tipo 1 y 2; también presenta beneficios sobre el metabolismo lipídico y los marcadores inflamatorios; además, reducen la posibilidad de desarrollar diabetes tipo 2 tanto en hombres como en mujeres; y también se han asociado con una menor incidencia de enfermedades coronarias (Kawamori, 2009;

Van de Laar, 2005). Se cree que todos estos beneficios son más perceptibles en sujetos con sobrepeso y sedentarios, además de que este tipo de dietas favorece la pérdida de peso (Bouche, 2002; Ebbeling, 2007; Slabber, 1994). Además, después de la pérdida de peso, la ingesta de una alimentación con bajo IG ayuda al mantenimiento del peso corporal, así como a la reducción de la masa grasa (Larsen, 2010). Se considera tan importante el valor del IG en el metabolismo de los carbohidratos y el control de la glucemia, que diversas sociedades científicas están demandando que en el etiquetado de los alimentos se indique los que presentan un bajo IG, para facilitar las elecciones alimentarias de la población (Augustin, 2015).

### 5.3. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Por último, los resultados del análisis de la capacidad antioxidante de las muestras se resumen en la Tabla 10.

Muestra	Presión (atm)	Humedad (%)	ABTS ( $\mu\text{mol eq. Trolox}/100 \text{ g}$ )
1	6000	60	1359,05
2	1000	45	1160,14
3	6000	45	1728,49
4	6000	30	1253,05
5	3500	45	1400,09
6	3500	60	1880,01
7	1000	30	1266,71
8	3500	45	1390,63
9	1000	60	1377,64
10	3500	45	1847,46
11	3500	45	1700,83
12	3500	30	1970,07

**Tabla 10.** Capacidad antioxidante (ABTS) de las 12 muestras de estudio.

La capacidad antioxidante obtenida en la muestra de control fue de 1225,45  $\mu\text{mol eq. Trolox}/100 \text{ g}$ .

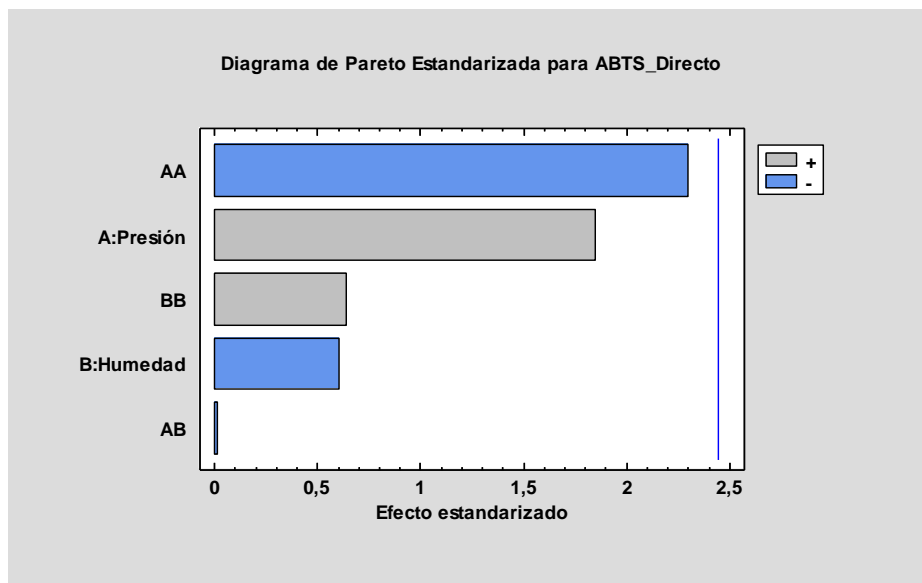
La ecuación del modelo de regresión ajustado obtenido fue la siguiente:

$$\text{ABTS } (\mu\text{mol eq. Trolox}/100 \text{ g}) = 1678,51 + 0,457983*P - 40,4923*H - 0,0000601092*P^2 - 0,0000328667*P*H + 0,466856*H^2$$

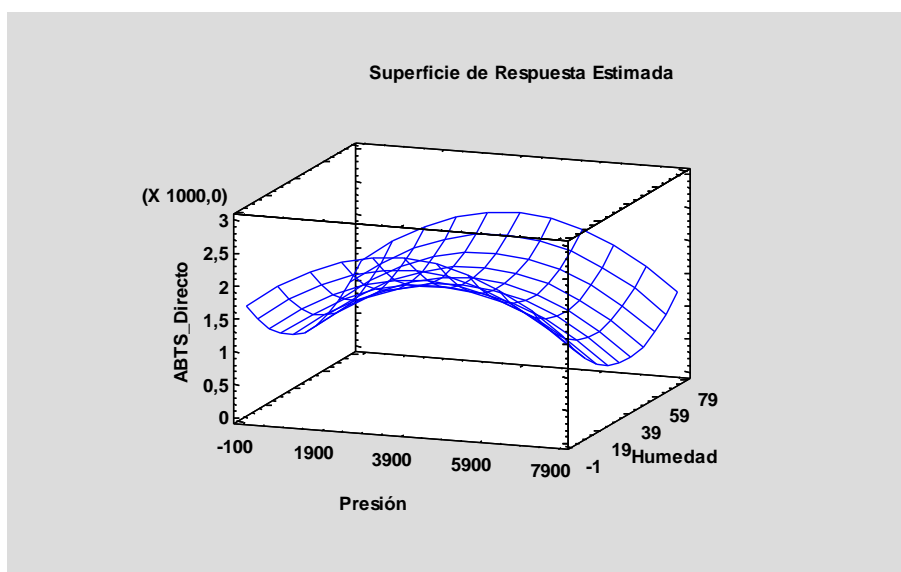
donde: P: presión (atm) y H: humedad (%).

Para el modelo la  $R^2$  fue de 0,4996 (49,96%) ( $p=0,481$ ).

Las Figuras 10 y 11 ilustran el diagrama de Pareto estandarizado y la gráfica de la superficie de respuesta obtenidos para la capacidad antioxidante de las muestras de magdalenas de harina de avena integral. La capacidad antioxidante presentó un efecto cuadrático con la presión y la humedad, de forma que, a presiones intermedias del intervalo estudiado (en torno a 4500-5000 atm), las muestras mostraron la mayor la capacidad antioxidante; y a humedades intermedias, la capacidad antioxidante fue más reducida. Ninguno de los dos efectos mostró significación estadística (Figura 10 y Tabla 11).



*Figura 10. Diagrama de Pareto estandarizado para la capacidad antioxidante.*



*Figura 11. Gráfica de la superficie de respuesta para la capacidad antioxidante.*

Fuente	Suma de Cuadrados	Significación (p)
<b>A: Presión</b>	244729,	0,1137
<b>B: Humedad</b>	26059,5	0,5681
<b>AA</b>	376366,	0,0615
<b>AB</b>	6,07623	0,9929
<b>BB</b>	29423,8	0,5448

**Tabla 11.** Análisis de la varianza de los efectos de las APH y la humedad sobre la capacidad antioxidante.

El valor de la  $R^2$  del modelo que evalúa el efecto de la humedad y la presión sobre la capacidad antioxidante fue superior al 40-50% ( $R^2=49,96\%$ ), aunque no alcanzó la significación estadística. Pero la ecuación permite predecir la capacidad antioxidante de muestras similares al aplicar valores de humedad y presión fuera del rango analizado.

El diagrama de Pareto (Figura 10) ilustra que, aunque ninguno de los parámetros evaluados alcanzó la significación estadística, la presión al cuadrado (parámetro AA), presentó un valor bastante relevante con respecto a la capacidad antioxidante. El siguiente valor más relevante fue la presión, seguida del valor de la humedad al cuadrado, la humedad lineal y, por último, la relación entre la presión y la humedad.

El tratamiento con APH mejora la capacidad antioxidante de los productos tratados, ya que la muestra de control presenta menor capacidad antioxidante que las muestras presurizadas. En la gráfica de superficie respuesta (Figura 11) se observa que, con el aumento de la presión, se produce un aumento de los valores de la capacidad antioxidante, alcanzándose el máximo valor en torno a las 4000-4500 atm. Esto podría deberse a que se produce cierto grado de desnaturalización del almidón y de las proteínas. La capacidad antioxidante también muestra un comportamiento cuadrático con la humedad, obteniéndose la menor capacidad antioxidante para valores de humedad del 40-45%.

El estrés oxidativo se puede definir como el desequilibrio que sucede en el organismo entre los oxidantes naturales y la deficiencia de los antioxidantes que frenan dicho proceso. El estrés oxidativo en un organismo es peligroso, ya que puede provocar la pérdida de funciones biológicas y homeostáticas. La ingesta de alimentos con una elevada capacidad antioxidante, por tanto, ayuda a prevenir el estrés oxidativo, y tiene efectos beneficiosos sobre la oxidación de lípidos, proteínas y ADN (Barbosa, 2008).

#### **5.4. FUNCIÓN DE DESEABILIDAD**

Finalmente, se construyó la función de deseabilidad del efecto de las APH y de la humedad sobre IG, el almidón y la capacidad antioxidante. Esta función permite aunar las tres variables con objeto de obtener qué condiciones serían las más adecuadas para



conseguir reducidos IG y almidón y alta capacidad antioxidante (Figura 12). La función de deseabilidad puede tomar valores entre 0 y 1.

Con las condiciones de humedad y presión estudiadas el valor óptimo obtenido para la función fue de 0,698499. Los valores de presión y humedad para los que la función es máxima fueron:

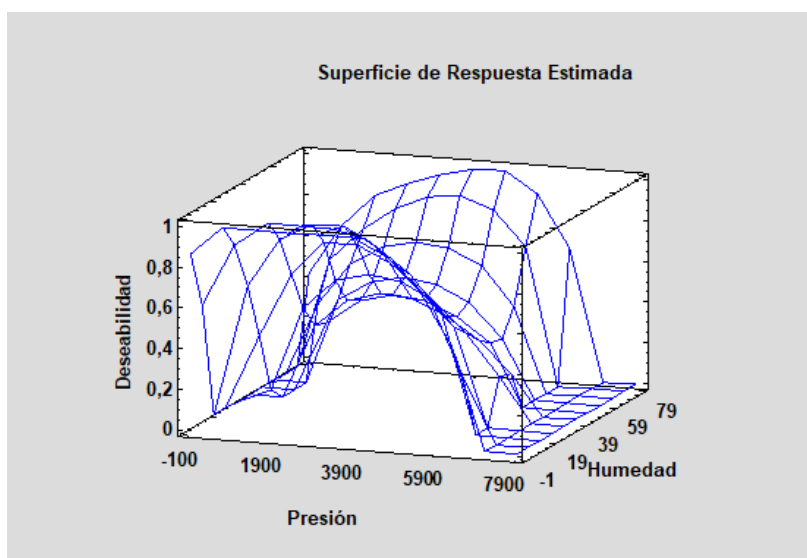
Presión = 3182,23 atm

Humedad = 30%

La Tabla 12 refleja los valores de presión y humedad para distintos niveles de deseabilidad de la función:

Deseabilidad	Baja	Alta	Óptima
<b>Presión (atm)</b>	1000	6000	3182,12
<b>Humedad (%)</b>	30	60	30

**Tabla 12.** Valores de presión y humedad estimados en función de los distintos niveles de deseabilidad.



**Figura 12.** Gráfica de la superficie de respuesta de la función de deseabilidad.

Por último, los niveles óptimos de respuesta de las distintas variables analizadas fueron los siguientes:

- IG = 46,7
- Almidón = 11,09%
- Capacidad antioxidante = 1729,47  $\mu\text{mol eq. Trolox}/100 \text{ g}$

Teniendo en cuenta que los modelos RSM analizados en los apartados anteriores sólo tienen significancia para uno de los factores (almidón, índice glucémico o capacidad antioxidante), es necesario construir una función que sea capaz de aunar los tres factores en uno. De este modo, la función indica teóricamente el tipo de magdalena que podría tener las características buscadas en el presente trabajo, es decir, un bajo índice glucémico y una elevada capacidad antioxidante. La función de deseabilidad revela unas condiciones de presión de 3182 atm y un valor de humedad del 30% para los que se maximizarían los valores deseados de los parámetros de interés: un IG bajo (46,7), un adecuado contenido en almidón (11,09%) y una capacidad antioxidante elevada (1729,5  $\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g}$ ).

Por tanto, mediante el tratamiento con APH (3182 atm) a una harina de avena integral con un 30% de humedad se podría obtener un producto adecuado para ser incluido como parte de una dieta saludable. Aunque se trata de un producto de bollería, cuyo consumo recomendado es ocasional, su composición nutricional es muy equilibrada, presenta un bajo IG y podría tratarse de un alimento funcional, dada su capacidad antioxidante y su probable perfil lipídico y contenido en beta-glucanos.

Como ya se ha comentado, la emergencia sanitaria decretada en marzo de 2020 imposibilitó el análisis nutricional y sensorial de las muestras tratadas. Sin embargo, a partir de los ingredientes empleados en la elaboración de las magdalenas, se puede inferir que son un alimento con un reducido contenido en azúcar, grasas insaturadas (por el empleo de aceite de oliva) y rico en fibra (por la harina integral de avena).

Algunos estudios han demostrado que el tratamiento de harina de avena con APH mejoran la funcionalidad de esta harina como fuente de fibra soluble, que ayuda a la reducción del colesterol. Este tratamiento también mejora la estabilidad de la masa, y favorece una mejor recuperación tras la deformación (Hütter, 2010).

Por tanto, es de esperar que la aplicación de las altas presiones hidrostáticas a las magdalenas analizadas hubiera producido un aumento del contenido de fibra soluble y, por tanto, un aumento de los  $\beta$ -glucanos, ya que estos son un tipo de fibra soluble (Rupérez, 2010).

## 6. CONCLUSIONES

---

1. El tratamiento con altas presiones hidrostáticas (3182 atm) a una harina integral de avena con una humedad del 30% permite obtener un producto panificable (magdalena) con un índice glucémico bajo (IG de 46,7), un adecuado contenido en almidón (11,09%) y una capacidad antioxidante elevada (1729,5  $\mu\text{mol eq. Trolox}/100 \text{ g}$ ).
2. Este producto es adecuado para ser incluido como parte de una dieta equilibrada y saludable, por su composición nutricional y su bajo IG.
3. Además, el producto obtenido podría ser un alimento funcional, por su capacidad antioxidante, perfil lipídico y contenido en beta-glucanos.
4. Por tanto, además de su clásica función higienizante, las altas presiones hidrostáticas, se pueden emplear en la industria alimentaria para mejorar en gran medida las propiedades saludables de los alimentos y obtener nuevos productos.

## 7. BIBLIOGRAFIA

---

- Aldoori, W. (1998). A prospective study of dietary fiber types and symptomatic diverticular disease in men. *The Journal of Nutrition*, 128: 714-719.
- Al-juhami, F., Ghafoor, K., Musa Ozcan, M., Jahurul, M.H.A., E. Babiker, E., Jinap, S., Sahena, F., Sharifudin, M.S., Zaidul, I.S.M. (2018). Effect of various food processing and handling methods on preservation of natural antioxidants in fruits and vegetables. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 3872–3880.
- Asamo TK., Mateod, RS. (2005). Fibra dietética para la prevención de carcinomas y adenomas colorrectales. *Biblioteca Cochrane Plus*, 4.
- Augustin, L.S.A, Kendall, C.W.C, Jenkins. D.J.A., Willet, W.C., Astrup, A., Barclay, A.W., Björck, I., Brand-Miller, J.C., Brighenti, F. et al (2015). Glycemic index, glycemic load and glycemic response: an International Scientific Consensus Summit from the International Carbohydrate Quality Consortium (ICQC). *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 25: 795-815.
- Balny, C.L, Masson, P., (1993). Effect of high pressure on proteins. *Food Reviews International*, 9: 511-512.
- Barbosa, K.B.F., Bressan, J., Zulet, M.A., Martínez, J.A. (2008). Influencia de la dieta sobre marcadores plasmáticos de estrés oxidativo en humanos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 31 (3): 259-280.
- Barret, D.M., Lloyd B. (2012). Advanced preservation methods and nutrient retention in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 7-22.
- Bellaterra, L.D. (2004). Efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre el gazpacho y zumo de uva [Tesis Doctoral]. Universidad de Lleida, Lleida. Recuperado de: <https://core.ac.uk/reader/13277842>
- Bouche, C., Rizkalla, S.W., Luo, J., Vidal, H., Veronese, A., Pacher, N. (2002). Five-week, low-glycemic index diet decreases total fat mass and improves plasma lipid profile in moderately overweight nondiabetic men. *Diabetes Care*, 25: 822-828.
- Brown, L., Rosner, B., Willett, WW., Sacks, FM. (1999). Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69: 30-42.
- Buffa, M., Guamis, B., Royo, C., Trujillo, A.J. (2001). Microbiological changes throughout ripening of goat cheese made from ra, pasteurized and high-pressure treated milk. *Food Microbiology*, 18: 45-51.
- Buzrul, S., Alpas, H. (2012). Treatment of Foods using High Hydrostatic Pressure. En: R. Bhat, A.K. Alias, & G. Paliyath (Eds.), *Progress in Food Preservation* (pp. 375-388). West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Cheftel J.C. (1991). Application des hautes pressions eb technologie alimentaire. *Actualités des Industries Alimentaires et Agro-Alimentaire*, 108: 141-153.

- Cheftel, J.C. (1992). Effect of high hydrostatic pressure on food constituents: an overview. *High Pressure and Biotechnology*, C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans, P. Masson (ed), 195-209. Editions John Libbey Eurotext, Montrouge.
- Cheftel J.C. (1995). Review: High pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*, 1, 75-90.
- Cogollo Berrocal, V.A. (2015). Aplicación de las altas presiones en la conservación de pescados y mariscos empacados [Trabajo de Fin de Grado]. Universidad de Córdoba. Recuperado de: [https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/1043/APLICA\\_1.PDF?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/1043/APLICA_1.PDF?sequence=1&isAllowed=y)
- Denda, A., Hayashi, R. (1992). Emulsifying properties of pressure-treated proteins. *High Pressure and Biotechnology*, 333-335 (ed). C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans, P. Masson. John Libbey Eurotext, Montrouge.
- De Pablos Alcalde, S. (2017-2018). *Estudio de la mejora de la funcionalidad de harinas y almidones sin gluten mediante tratamientos térmicos innovadores* [Trabajo de Fin de Master]. Universidad de Valladolid. Recuperado de: <http://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/31505/TFM-L397.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Earnshaw, R.G. (1995). Kinetics of high pressure inactivation of microorganisms. *High Pressure Processing of Food*, 37.46.
- Ebbeling C.B., Leiding, M.M., Feldman, H.A., Lovesky, M.M., Ludwig, D.S. (2007). Effects of a low-glycemic load vs low-fat diet in obese young adults: a randomized trial. *Journal of the American Medical Association*, 297: 2092-2102.
- Escudero Álvarez, E., González Sánchez, P.G. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21(2), 61-72.
- Estruch, R., Martínez-González, M.A., Corella, D., Basora-Gallisá, J., Ruíz-Gutierrez, V., Covas, M.I. (2009). Effects of dietary fibre intake on risk factors for cardiovascular disease in subjects at high risk. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 63: 582-588.
- Farr, D. (1990). High Pressure Technology in the Food Industry. *Trends in Food Science and Technology*, July: 14-16.
- Fernández-Bañares, F., Hinojosa, J., Sánchez-Lombrana, J.L (1999). Randomized clinical trial of plantago ovata seeds (dietary fiber) as compared with mesalimine in maintaining remission in ulcerative colitis. *American College of Gastroenterology*, 94: 427-433.
- Flores, R.V. (2012). Compuestos importantes para la salud encontrados en los cereales enteros. *Ingeniería Industrial*, 30, 209-233.

- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., Sweeney, P.L. (2000). In fundamentals of Cheese Science, *Cheese Yield*, 9, 169-202
- Granfeldt, Y., Björck, I., Drews, A., Tovar, J. (1992). An in vitro procedure base don chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46: 469-660.
- Granfeldt Y., Nyberg, L., Bjorck, I. (2007). Muesli with 4 g oat beta-glucans lowers glucosa and insulin responses after a bread meal in healthy subjects. *European Journal Clinical Nutrition*, 67 (5): 600-607.
- Gómez Carus, A., Ceballos Walls, I., Ruiz Moreno, E., Rodriguez Alonso, P., Valero Gaspar, T., Ávila Torres, J.M., Varela Moreiras, G. (2017). *Datos actuales sobre las propiedades nutricionales de la avena*. Fundación Española de la Nutrición.
- Gökmen, V., Serpen, A., Fogliano, V. (2009). Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the “QUENCHER” approach. *Trends in Food Science and Technology*, 20(6-7), 278-288.
- Guignon B. (2011). Altas presiones en tecnología de alimentos. En: Menéndez Montes, J.M., Valiente Barroso, R., Aguado Menéndez, F., Recio Muniz, J.M. (Eds.), *Materia a alta presión. Fundamentos y aplicaciones* (pp. 441-457). Oviedo: Ediciones Universidad de Oviedo.
- Gustin, D., Bera, F., Dumont de Chassart, Q., Mertens, B. (1997). Pectin gelification under HPP: gel and formation mechanisms. K. Heremans, *High Pressure Research in the Biosciences and Biotechnology*, 195-200 (ed.) K Heremans, Luven University Press. Leuven, Bélgica.
- Hayashi, R., Hayashida, A (1989). Increased amylase digestibility of pressure treated starch. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53: 2543-2544.
- Heremans, K. (1995). High Pressure effects on biomolecules. *High Pressure Processing of Foods*, 81- 98 (eds) Ledward, L.A., Jhnston, D.E., Earnshaw, R.G., Hasting, A.P.M., Nottingham University Press, Leicestershire.
- Hoover, D.G., Metrick, C., Papineau, A.M., Farkas, D.F., Knorr, D. (1989). Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technology*, 43 (3): 99-107.
- Huang, H., Hsu, C-P., Wang, C. (2020). Healthy expectations of high hydrostatic pressure treatment in food processing industry. *Journal of Food and Drugs Analysis*, 28 (1): 1-13.
- Hütter, E.K., Dal Bello, F., Poutanen, K., Arendt, E.K. (2010). Fundamental evaluation of the impact of high hydrostatic pressure on oat batters. *Journal of Cereal Science*, 49 (3), 363-370.
- Jenkins, DJ., Jenkins AL., Wolever TM. (1994). Low glycemic index: lent carbohydrates and physiological effects of altered food frequency. *American Journal of Clinical*

*Nutrition*. 59 (3): 706S-709S.

- Kawamori, R., Tajima, N., Iwamoto, Y., Kashiwagi, A., Shimamoto, K., Kaku, K. (2009). Voglibose for prevention of type 2 diabetes mellitus: a randomised, double-blind trial in Japanese individuals with impaired glucose tolerance. *The Lancet*, 373: 1607-1614.
- Keenan, JM., Goulson, M., Shamliyan, T., Knutson, N., Kolberg, L., Curry, L. (2007). The effects of concentrated barley beta-glucan on blood lipids in a population of hypercholesterolaemic men and women. *Br Journal Nutrition*, 97: 1162-1168.
- Larsen, T.M., Dalskov, S.M., Vaan Baak, M., Jebb, S.A., Papadaki, A., Pfeiffer, A.F. (2010). Diets with high or low protein content and glycemic index for weight-loss maintenance. *The New England Journal of Medicine*, 363: 2102-2113.
- Mandava, R, Fernandez, I., Juillerat, M. (1994). Effect of High Hydrostatic pressure on sausage batters. A Proceeding of the 40<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology. La Haya, Países Bajos.
- Meier, R., Gassull, M.A. (2004). Consensus recommendations on the effects and benefits of fibre in clinical practice. *Clinical Nutrition Supplements*, 1: 73-80
- Menéndez Montes, J. M., Valiente Barroso, R., Aguado Menéndez, F., & Recio Muniz, J. M. (2009). Materia a alta presión. Fundamentos y aplicaciones (Universidad de Oviedo). Servicio de Publicaciones de la Universidad de Oviedo.
- Moreiras, O., Carbajal, Á., Cabrera, L., Cuadrado, C. (2017). *Tabla de composición de alimentos*, 18<sup>a</sup> edición. Madrid: Pirámide.
- Muntean, M.V., Ovidiu, M., Barbieru, V., Cătunescu, G.M., Ranta, O., Drocas, I., Terhes, S. (2016). High Pressure Processing in Food Industry. Characteristics and Applications. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 10, 377-383.
- Mussa, D.M., Ramaswamy, H.S. (1997). Ultra high pressure pasteurization of milk: kinetics of microbial destruction and changes in physico-chemical characteristics of milk. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 33: 345-363.
- Navarra, U.P. (2007). Herbario de la Universidad Pública de Navarra. Obtenido de [https://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Aven\\_sati\\_p.htm](https://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Aven_sati_p.htm)
- Nie, L., Wise, M., Collins, F.W., Meydani, M. (2007). Inhibition of colonic cancer cell proliferation and COX2 by oats avenanthramides (Avns). *FASEB Journal*, 21: A102-A103.
- Oey, I., Van der Plancher, I., Van Loey, A., Hendrickx, M. (2008). Does high pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems? *Trends in Food Science & Technology*, 19, 300-308.
- Organización Mundial de la Salud (2020). *Enfermedades no transmisibles*. [https://www.who.int/topics/noncommunicable\\_diseases/es/](https://www.who.int/topics/noncommunicable_diseases/es/)

- Parada, J.A., Rozowski, J. (2008). Relación entre la respuesta glicémica del almidón y su estado microestructural. *Revista Chilena de Nutrición*, 35 (2).
- Pei-Ling, L., Xiao-Song, H., Shen, Q. (2010). Effect of high hydrostatic pressure on starches: a review. *Biosynthesis Nutrition Biomedical, Starch*, 62: 615-628.
- Pérez Urtasun, B. (2012). *Efecto del tratamiento de altas presiones sobre la calidad de cocción del arroz (Oryza Sativa L., cultivar Maratelli)* [Trabajo de Fin de Grado]. Universidad Pública de Navarra. Recuperado de: <https://academica-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/5850/577831.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ponce, E., Pla, R., Sendra, E., Guamis, B., Mor-Mur, M. (1998). Combined effect of nisin and high hydrostatic pressure in inactivation of *Listeria innocua* and *Escherichia coli* in liquid whole egg. *International Journal of Food Microbiology*, 43: 15-19.
- Pothankamury, U.R., Barbosa-Cánovas, G., Swanson, B.G. (1995). The pressure builds for better food procesing. *Chemical Engineering and Processing*, March: 45-53.
- Pradas Baena, I., Moreno Rojas, J.M. (2016). *Aplicación de altas presiones hidrostáticas en la industria alimentaria*. Junta de Andalucía. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera.
- Qeenan, K., Stewart, ML., Smith, KN., Thomas, W., Fulcher, RG., Slavin JL. (2007). Concentrated oat  $\beta$ -glucan, a fermentable fiber, lowers serum of cholesterol in hypercholesterolemic adults in a randomized controlled trial. *Nutrition Journal*, 6:6
- Raventós Santamaria, M. (2003). *Industria alimentaria, tecnologías emergentes*. Barcelona: Edicions Universidad Politècnica de Catalunya.
- Ripsin, CM., Keenan, JM., R. JD. (1992). Oat products and lipid lowering: a meta-analysis. *JAMA*; 267 (24): 3317-3325.
- Rodriguez Vicente, J.M., Aranceta Bartrina, J., Blay Cortés, G., Echevarria Gutierrez, F. J., Gil Canadá, I., Hernández Cabria, M., Iglesias Barcia, J.R., López Díaz-Ufano, M.L. (2011). *Guía de la buena práctica clínica en alimentos funcionales*. Madrid: International Marketing and Communication.
- Roediger, W.E. (1980). The colonic epithelium in ulcerative colitis: an energy deficient disease? *Lancet*, 2: 712-715.
- Rubens, P., Goossens, K., Heremans, K. (1997). Pressure induced gelatinisation of different starch types: a FTIR study. *High Pressure Research in Biosciences and Biotechnology*, 191-194 (Ed). K. Heremans Leuven University Press, Leuven, Bélgica.
- Ruiz Escolante, P. (2017). *Conservación de alimentos por altas presiones hidrostáticas* [Trabajo de Fin de Grado]. Universidad Complutense de Madrid. Recuperado de: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/PATRICIA%20RUIZ%20ESCOLANTE.pdf>
- Rupérez Antón, P., Mateos-Aparicio, I. (2010). Procedimiento para obtener un producto



prebiótico de alto contenido en fibra soluble, dicho producto y sus aplicaciones. *Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)*. <http://hdl.handle.net/10261/31874>

Sánchez Almaraz, R., Martín Fuentes, M., Palma Milla, S., López Plaza, B., Bermejo López, L.M., Gómez Candela, C. (2015). Indicaciones de diferentes tipos de fibra en distintas patologías. *Nutrición Hospitalaria*, 31(6), 2372-2383.

Sangronis, E., Pothankamury, U.R., Ibarz Ribas, A., Ramos, A.M., Barbosa-Cánovas, G.V., Swanson, B.G. (1997). La alta presión hidrostática: una alternativa en el procesamiento no térmico de los alimentos. *Alimentación*, 283, 33-43.

Sanz, P.D., Otero, L., Molina-Garcia, A.D., Guignon, B., Fernández, P.P., Aparicio, C. (2004). Congelación de alimentos bajo alta presión. *CTC Alimentación*, 21, 26-41.

Sebastián Pizarro, A.M. (2014).  $\beta$ -glucanos: ¿qué tipos existen y cuáles son sus beneficios en la salud? *Revista Chilena de Nutrición*, 41(3), 439-446.

Silva, FM., Kramer, CK., Almeida, JC., Steemburgo, T., Gross, JL., Azevedo, MJ. (2013). Fiber intake and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition Reviews*, 71 (12): 790-801.

Slabber, M., Barnard, H., Kuyl, J., Dannhauser, A, Schall, R. (1994). Effects of a low-insulin-response, energy-restricted diet on weight loss and plasma insulin concentrations in hyperinsulinemic obese females. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60: 48-53.

Streppel, MT., Arends, LR., Vant Veer, P., Grobbee, DE., Geleijnse, JM. (2005). Dietary fiber and blood pressure: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Archives of Internal Medicine*, 165: 150-156.

Tellez-Luis, S.J., Ramírez, J.A., Pérez-Lamela, C., Vázquez, M., Simal-Gándara, J. (2001). Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos. *Ciencia y Tecnología de los alimentos*, 3(2), 66- 80.

Tiwari, U., Cummins, E. (2011). Meta-analysis of the effect of  $\beta$ -glucan intake on blood cholesterol and glucose levels. *Nutrition*, 27(10): 1008-1016.

Unión Europea. Reglamento (CE) n° 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de diciembre de 2006, relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. DOUE núm. 404, de 30 de diciembre de 2006.

Unión Europea. Reglamento (UE) n ° 432/2012 de la Comisión, de 16 de mayo de 2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños. DOUE núm. 136, de 25 de mayo de 2012.

Vallons, K.J., Ryan, L.A., Arendt, E.K. (2010). High pressure-treated sorghum flour as a functional ingredient in the production of sorghum bread. *European Food Research and Technology*, 231 (5), 711-717.

- Van der Laar, F.A., Lucassen, P. L., Akkermans, R.P., Van de Lisdonk, E.H., Rutten, G.E., Weel, C.V. (2005) Alpha-glucosidase inhibitors for patients with type 2 diabetes: results from a Cochrane systematic review and meta-analysis. *Diabetes care*, 28 (1): 154-163.
- Velázquez, G., Vázquez P., Vázquez, M., Torres, J.A. (2005). Avances en el procesado de alimentos por altas presiones. *Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 4 (5): 353-367.
- Whelton SP., Hyre, AD., Pedersen, B., Yi, Y., Whelton, PK., He, J. (2005). Effect of dietary fiber intake on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *Journal of Hypertension*, 23: 475-481.
- Yoshika, K., Kage, Y., Omura, H. (1992). Effects of high pressure on texture and ultrastructure off ish and chicken muscles and their gels. *High Pressure and Biochemistry*, 325-328 (eds) C. Blany, R. Hayashi, K. Heremas, P. Masson. John libbey Eurtex, Montrouge.
- Zopf, D., Roth, S. (1996). Oligosaccharides anti-infective agents. *Lance*, 347: 1017-1021