

TRABAJO DE FIN DE GRADO



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE MEDICINA

**DESARROLLO DE UN SNACK
EXTRUSIONADO DE HARINA DE LENTEJA
Y MAÍZ DIRIGIDO A LA POBLACIÓN CON
INTOLERANCIA AL GLUTEN**

GRADO EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA

AUTOR: SERGIO ARQUEROS GÓMEZ

TUTORA: PAZ REDONDO DEL RIO

COTUTOR: DANIEL RICO BARGUÉS

CURSO 2019-2020

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mis agradecimientos a todas aquellas personas que han ayudado y han prestado su tiempo para que este trabajo fuera llevado a cabo:

A la Universidad de Valladolid, por otorgarme la oportunidad de realizar este estudio.

A todo el profesorado que ha prestado sus servicios en el Grado de Nutrición Humana y Dietética, en especial a Beatriz Mateo Silleras y a Paz Redondo del Río por ayudarme y orientarme con este trabajo.

Al Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACYL), por permitirme realizar las prácticas y este proyecto en sus instalaciones, con ayuda de mi tutor, Daniel Rico, y de Ana Belén Martín-Diana, junto con todos los compañeros del centro que me ayudaron.

A mis padres, mi hermana y mi familia en general.

A mis amigos.

A mis compañeros del Grado.

Sin ellos todo este camino no habría sido posible. Muchas gracias.

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

ÍNDICE.

1. INTRODUCCIÓN.

- 1.1. SENSIBILIDAD AL GLUTEN (CELIACA Y NO CELIACA).
- 1.2. MATERIAS PRIMAS: LENTEJAS.
- 1.3. TECNOLOGÍA DE EXTRUSIÓN.

2. JUSTIFICACIÓN.

3. OBJETIVOS.

- 3.1. OBJETIVO GENERAL.
- 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

4. MATERIALES Y MÉTODOS.

- 4.1. DISEÑO.
- 4.2. MATERIAL.
- 4.3. METODOLOGÍA.
 - 4.3.1. Análisis de las harinas.
 - 4.3.1.1. Determinación de la humedad.
 - 4.3.1.2. Análisis de la composición nutricional.
 - 4.3.1.2.1. Determinación de nitrógeno y proteína.
 - 4.3.1.2.2. Determinación de la grasa total.
 - 4.3.1.2.3. Determinación del contenido de cenizas.
 - 4.3.1.2.4. Determinación del contenido en hidratos de carbono.
 - 4.3.1.3. Análisis de la capacidad antioxidante.

- 4.3.1.3.1. Extracción de las muestras para analizar su capacidad antioxidante.
- 4.3.1.3.2. Determinación de polifenoles totales (TP).
- 4.3.1.3.3. Método ORAC.
- 4.3.1.3.4. Método TEAC (Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox).
- 4.3.1.3.5. Método DPPH.
- 4.3.1.4. Determinación del almidón.
- 4.3.1.5. Determinación del índice glucémico (IG).
- 4.3.2. Formulación y elaboración de las masas.
- 4.3.3. Extrusionado.
- 4.3.4. Triturado y molienda.
- 4.3.5. Análisis de los *snacks*.
- 4.3.6. Análisis estadístico.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

- 5.1. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL.
- 5.2. ANÁLISIS DE ANTIOXIDANTES.
- 5.3. ANÁLISIS DE ALMIDÓN.
- 5.4. ANÁLISIS DEL ÍNDICE GLUCÉMICO.

6. CONCLUSIONES.

7. BIBLIOGRAFÍA.

8. ANEXOS.

RESUMEN

La intolerancia al gluten es una afección caracterizada por la dificultad e imposibilidad para digerir la proteína del gluten por parte de las personas que presentan esta enfermedad. Cursa con una sintomatología digestiva y extradigestiva que puede afectar a la calidad de vida de los pacientes que la sufren. De ahí la importancia de eliminar el gluten de la dieta como único tratamiento eficaz, ya que su consumo continuado puede ocasionar graves complicaciones en estos pacientes. A pesar de que actualmente hay una amplia disponibilidad de productos sin gluten en el mercado, muchos de ellos presentan peor valor nutricional que sus homólogos convencionales: elevada cantidad de grasas de baja calidad, y reducido contenido en vitamina D, fibra, calcio, hierro y vitaminas del grupo B.

La extrusión es un procedimiento mecánico de inducción de energía térmica y mecánica, mediante el que se aplica al alimento alta presión y temperatura durante un corto período de tiempo. Permite obtener productos con diferentes formas, texturas, tamaños, sabores y una mejor composición nutricional.

El objetivo del presente trabajo fue aplicar la tecnología de extrusión con la finalidad de producir una harina para el desarrollo de un *snack* con una adecuada composición nutricional que pueda emplearse como una nueva alternativa dietética para las personas celiacas.

Para ello se prepararon diferentes mezclas de harinas de lenteja y distintos cereales. Finalmente se ensayó una mezcla de harina de lenteja y maíz al 50% con diferentes grados de humedad. Esta mezcla fue sometida a extrusión a 130 °C y 180-200 bar de presión. Se determinó la humedad, el contenido en proteínas, grasas, cenizas, carbohidratos, la capacidad antioxidante por distintos métodos, el contenido en almidón y el índice glucémico de la mezcla de harina en crudo y de las masas sometidas a extrusión.

El producto final obtenido presentó un reducido contenido en grasas y una cantidad adecuada de proteínas y carbohidratos; además, no contiene azúcares ni sal añadidos, por lo que es adecuado para formar parte de una dieta saludable. El proceso de extrusión sobre la harina produjo un aumento estadísticamente significativo de la capacidad antioxidante del producto final. También redujo la humedad, lo que contribuye a la conservación del producto final.

La aplicación de la extrusión, por tanto, mejoró de manera significativa las propiedades nutricionales de un *snack* parcialmente formulado con harina de leguminosa y maíz.

ABREVIATURAS

tTG: Transglutaminasa

MHC: Complejo Mayor de Histocompatibilidad

HLA: *Human Leukocyte Antigen*

Anti-tTG: Anti-transglutaminasa

EMA: Antiendomiso

ESPGHAN: *European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*

FODMAPs: Fermentable Oligosacáridos Disacáridos Monosacáridos y Polioles.

ORAC: Capacidad Atrapadora de Radicales Oxígeno.

IgA: Inmunoglobulina A

IgG: Inmunoglobulina G

IgE: Inmunoglobulina E

CHO: Hidratos de Carbono

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

TEAC: Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox

ABTS: (2,2'-azinobis-(3 etilbenzotiazolin)-6-sulfonato sal diamónica)

DPPH: (2,2-difenil 1-picrilhidrazilo)

DE: Desviación Estándar

IG: Índice Glucémico

1. INTRODUCCIÓN

1.1. SENSIBILIDAD AL GLUTEN (CELIACA Y NO CELIACA)

El gluten es una proteína compleja localizada en el trigo, cebada, centeno y avena. Los seres humanos no poseemos las enzimas necesarias para lograr su asimilación total, y las peptidasas intestinales sólo consiguen su hidrólisis hasta péptidos de 30-40 aminoácidos, prolaminas, que conservan características potencialmente antigénicas. En sujetos con genes susceptibles estos péptidos son capaces de traspasar la barrera epitelial, llegando a la lámina propia intestinal, donde logran ser mostrados e identificados por células del sistema inmune que, en ese instante, provocan una reacción desfavorable de tipo alérgico (hipersensibilidad al trigo) o autoinmune (enfermedad celiaca).

La intolerancia al gluten es una afección autoinmune sistémica producida por el consumo de la proteína del trigo (gluten) y prolaminas relacionadas en personas con genes susceptibles. Se caracteriza por una combinación variable de manifestaciones clínicas, anticuerpos específicos, haplotipos HLA DQ2 y DQ8 y enteropatía. Su prevalencia mundial es del 0.5-1% (1).

El factor genético mejor caracterizado hasta el momento es la existencia de haplotipos HLA DQ2 o DQ8 del locus MHC clase II, y se ha asociado con el 40% del riesgo genético para esta enfermedad. Estas variantes están presentes en el 30-35% de la población general y en el 95% de la población con celiacía, lo que indica que es una condición necesaria, pero no suficiente, para el desarrollo de la afección.

Otros factores predisponentes son la dieta, especialmente la edad a la que se introducen los cereales con gluten, la forma de preparar estos alimentos, o la cantidad de gluten ingerido; también algunas enfermedades infecciosas sufridas al inicio de la vida y la microbiota intestinal.

En la patogenia de la enfermedad celiaca hay un momento crucial, y es cuando algunas macromoléculas, como el gluten, pasan a la submucosa, debido a la alteración de la integridad de las uniones estrechas del epitelio intestinal. El gluten, como ya se ha comentado, sólo se digiere parcialmente, generando péptidos ricos en residuos de glutamina y prolina, llamados gliadina. Estos péptidos pueden llegar a atravesar la barrera epitelial; entonces la enzima transglutaminasa (tTG) los desamina, transformando los residuos de glutamina en ácido glutámico, de forma que se generan péptidos con mucha tendencia a interactuar con moléculas MHC tipo II HLA-DQ2 o HLA-DQ8 presentes en la superficie de las células presentadoras de antígenos de la lámina propia intestinal. Estas células presentan estos péptidos a los linfocitos T-CD4, de forma que se produce una respuesta inmune de tipo celular y humoral. Así, tiene lugar una respuesta inflamatoria en la mucosa intestinal que puede provocar el aplanamiento de las vellosidades y, por tanto, una malabsorción. Este proceso inflamatorio puede extenderse a otros órganos, como la piel y las articulaciones, originando las llamadas manifestaciones extradietivas.

El síntoma más frecuente en los sujetos celiacos es el dolor abdominal, seguido de diarrea crónica o intermitente, estreñimiento crónico, vómitos, pérdida de peso, distensión abdominal y desnutrición. Dentro de las manifestaciones extradietivas se han documentado anemia ferropénica, fatiga, hipoplasia del esmalte dental, aftas, dermatitis herpetiforme, osteopenia/osteoporosis,

elevación crónica de las transaminasas, talla reducida, retraso puberal, infertilidad y abortos de repetición. También se han referido algunos síntomas neurológicos, como cefaleas, ataxia cerebral, epilepsia, neuropatía periférica, depresión, alucinaciones, ansiedad o crisis de pánico (2).

En algunas ocasiones se ha observado que los síntomas de algunos sujetos celíacos no desaparecen o mejoran con el seguimiento de una dieta sin gluten, después de haber sido diagnosticados: se consideran casos de enfermedad celíaca refractaria. En algunos de estos pacientes se ha observado que sus síntomas mejoran si, además de eliminar el gluten de la dieta, se excluyen otras proteínas, como las prolaminas de la avena (aveninas) o del maíz (zeínas) y, a veces, las caseínas de la leche de vaca (3). Esta enfermedad celíaca refractaria se caracteriza por una malabsorción persistente y la atrofia de las vellosidades intestinales, a pesar de haber seguido una dieta libre de gluten de forma estricta durante 6-12 meses. Así, se ha establecido que cualquier proteína de la dieta cuya digestión en el tracto gastrointestinal genere péptidos con secuencias y/o cargas similares a las de los péptidos del gluten, podría exacerbar la enfermedad celíaca (3).

También se ha observado que en el 20% de los casos la enfermedad celíaca se asocia con otras patologías autoinmunes, como la diabetes tipo 1, la tiroiditis autoinmune, la enfermedad inflamatoria intestinal, la hepatitis autoinmune y la enfermedad de Addison. Y se ha documentado una relación entre la deficiencia selectiva de inmunoglobulina A y enfermedad celíaca, y algunas cromosopatías, como el síndrome de Down, de Turner y de Williams.

El diagnóstico de la enfermedad celíaca comienza con su sospecha cuando un sujeto presenta síntomas compatibles o pertenece a algún grupo de riesgo. En estos casos, se debe realizar un análisis en busca de anticuerpos anti-tTg y antiendomiso (EMA), y evaluar si ha habido daño intestinal, y en qué grado, mediante una biopsia duodenal realizada por endoscopia. Si se determina que el paciente presenta alguna atrofia de las vellosidades intestinales, se considera que la enfermedad celíaca está activa, por lo que debe iniciarse el tratamiento. Sin embargo, si no se observa atrofia de las vellosidades, se considera que el sujeto tiene una enfermedad celíaca potencial, pero no está indicado iniciar el tratamiento. En los casos dudosos y si hay discrepancias entre el resultado de los anticuerpos y el de la biopsia duodenal, es conveniente determinar la HLA DQ2-DQ8, ya que estos haplotipos están presentes en cerca del 95% de los individuos caucásicos con enfermedad celíaca.

Se ha demostrado una relación directa entre los niveles de anticuerpos antitransglutaminasa tisular (anti-tTg) y el grado de daño histológico: los sujetos con valores de anti-tTg diez veces por encima del punto de corte tienen una probabilidad de atrofia de las vellosidades intestinales de casi el 100%. Por eso, la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (SEGHN), en su último consenso, recomendó no realizar biopsias duodenales en aquellos pacientes con síntomas típicos, valores de anti-tTg mayores de 10 veces el punto de corte, EMA positivo y HLA DQ2-DQ8 (2).

Los criterios diagnósticos de enfermedad celíaca más utilizados desde 1969 han sido los establecidos por la *European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* (ESPGHAN) (4): son los criterios de Interlaken. En ellos se consideraba imprescindible realizar tres biopsias intestinales para el

diagnóstico: la primera para determinar si hay atrofia de las vellosidades al consumir gluten; otra para comprobar si se normaliza la histología después de retirar el gluten; y una tercera para probar la reaparición de la atrofia al reintroducir el gluten. Posteriormente, en 1990, se revisaron estos criterios, estableciéndose los nuevos “Criterios ESPGHAN 1990 para el diagnóstico de la enfermedad celíaca” (5). Según éstos, ya sólo era imprescindible realizar una biopsia intestinal mientras se está consumiendo gluten que demostrara la existencia de las lesiones intestinales características de esta enfermedad. En los niños menores de 2 años, o si el diagnóstico no está claro, es obligatorio realizar una prueba de provocación.

Las nuevas “*ESPGHAN guidelines for the diagnosis for celiac disease in children and adolescents. An evidence-based approach*” (6), publicadas en 2012, planteaban la posibilidad de no realizar biopsias en algunos casos: pacientes sintomáticos con anticuerpos anti-tTg mayores de 10 veces el límite superior de la normalidad, anticuerpos antiendomiso positivos en una segunda muestra, y HLA DQ2/DQ8. Además, a partir de este momento, sólo debe realizarse la prueba de provocación si existen dudas en el diagnóstico. En el año 2017 dos estudios (7,8) confirmaron la precisión de este modelo.

Por último, en 2020 se actualizaron los criterios de la ESPGHAN (9), del siguiente modo:

- Los anticuerpos antitransglutaminasa tisular IgA deben determinarse en primer lugar, junto con la IgA sérica. Si hay un déficit de IgA, se deben estudiar también los anticuerpos isotipo IgG.
- No es imprescindible efectuar una biopsia intestinal en pacientes asintomáticos. Sin embargo, esta decisión debe ser evaluada de forma individual y con el consentimiento de los padres (en el caso de menores) o del paciente, dado el menor valor predictivo positivo de niveles altos de anticuerpos antitransglutaminasa tisular.
- En pacientes con diabetes mellitus tipo 1 asintomáticos, el diagnóstico de la enfermedad celíaca debe hacerse mediante biopsia intestinal.
- Se mantiene la necesidad de diagnóstico con biopsia intestinal en sujetos con déficit de IgA, dada la falta de datos sobre el valor predictivo de la lesión intestinal de los anticuerpos IgG.
- No es necesario el estudio de HLA en pacientes a los que se realiza biopsia intestinal o en los que presentan anticuerpos antitransglutaminasa tisular mayores de 10 veces el límite superior de la normalidad. Esto estaría indicado sólo para cribado de población de riesgo y en casos dudosos.

Un adecuado diagnóstico de la enfermedad celíaca es fundamental, ya que puede ayudar a prevenir futuras patologías. Por un lado, un infradiagnóstico puede afectar a la calidad de vida, alteraciones en el crecimiento y desarrollo, problemas de esterilidad, neoplasias gastrointestinales o enfermedades autoinmunes; por otro, un sobrediagnóstico también puede afectar a la calidad de vida, ya que tiene una importante repercusión económica y riesgo de dieta desequilibrada, estreñimiento o sobrepeso (10).

No existe ningún tratamiento específico para la enfermedad celíaca, excepto la adherencia a una dieta libre de gluten durante toda la vida. Es decir, no consumir trigo, centeno, cebada y, en muchos casos, avena.

Sensibilidad no celiaca al gluten

La sensibilidad no celíaca al gluten es una enfermedad que presentan pacientes en los que se han descartado enfermedad celíaca y alergia al trigo, que se caracteriza por una serie de síntomas digestivos y extradigestivos relacionados con la ingesta de gluten y otras proteínas del trigo (2). Su prevalencia en la población general es mayor que la de la enfermedad celíaca: en torno al 6%, (11).

En esta patología se ha documentado que los haplotipos HLA DQ2/DQ8 están presentes en sólo alrededor del 50% de los pacientes (cifra mayor que el 30-35% reportado en población general), pero menor que la descrita en celíacos, que es de aproximadamente un 95% (12).

En estos pacientes no se han observado alteraciones en la permeabilidad intestinal y parece que se activan mecanismos de inmunidad innata, en lugar de inmunidad adquirida. En 2010, Sapone y cols. (11) describieron las características clínicas y diagnósticas de este cuadro, diferenciándolo de la enfermedad celíaca por la ausencia de un mecanismo autoinmune involucrado en su patogenia. Este grupo define la sensibilidad no celíaca al gluten como una reacción adversa al gluten en la que se han descartado los mecanismos alérgicos (principalmente IgE) y autoinmunes (principalmente tTG2 y EMA).

En la sensibilidad no celíaca al gluten, otras proteínas distintas del gluten, como los inhibidores de la alfa-amilasa/tripsina, algunos carbohidratos (FODMAPs) e incluso la levadura, podrían provocar los síntomas propios de la enfermedad.

Su cuadro clínico es similar al de la enfermedad celíaca: dolor abdominal, diarrea crónica, fatiga, distensión abdominal, eczema, cefalea, visión borrosa, depresión, anemia, parestesias en piernas, brazos y manos y dolor articular. Debido a esta semejanza en los síntomas entre ambas enfermedades, el diagnóstico se realiza en presencia de síntomas con serología de enfermedad celíaca negativa, pruebas de inmuno-alergia negativas, biopsia duodenal normal, y desaparición de los síntomas con el seguimiento de una dieta libre de gluten/trigo durante al menos 3 semanas. La confirmación del diagnóstico se basa en la reaparición de síntomas al volver a ingerir alimentos con gluten.

El tratamiento de la sensibilidad no celíaca al gluten es una dieta libre de gluten. Pero, en este caso, a diferencia de la enfermedad celíaca, no se requiere una adherencia estricta, puesto que no se han descrito hasta ahora complicaciones a largo plazo (2).

En las últimas décadas, se ha observado que la enfermedad celíaca es una enfermedad global, relativamente frecuente, que afecta tanto a niños como a adultos. Según un estudio realizado en la comunidad de Aragón entre los años 2011 y 2016 (13), la prevalencia de la enfermedad celíaca ha sufrido un aumento significativo debido a la mayor conciencia social sobre esta patología, tanto de la población general hacia los síntomas de la enfermedad celíaca, como de los

especialistas sanitarios para detectar la enfermedad en niños y adultos, a una mejora de los métodos de diagnóstico y a su mejor conocimiento desde el punto de vista médico y científico en los últimos años. Este estudio, realizado en la población de pacientes con enfermedades del aparato digestivo de los servicios de salud de Aragón, de entre 1 y 107 años, evidenció que el 16,8% de estos sujetos mostraba una fuerte evidencia de enfermedad celíaca; el 4,4%, una pequeña evidencia; y, finalmente, el 78,8% no tenía evidencia de la enfermedad. Así, observaron un aumento significativo en el diagnóstico de esta enfermedad desde el año 2000, superando los 500 casos en los últimos 3 años de estudio.

El mercado de los productos sin gluten en el mundo se ha desarrollado de forma espectacular en los últimos años. Esto se ha asociado con el incremento de los problemas de salud relacionados con la ingesta de gluten (enfermedad celíaca), sensibilidad no celíaca al gluten y alergia al trigo. Gran parte de este desarrollo se ha debido a la enorme influencia que estos grupos de población han tenido en la industria alimentaria. Actualmente se ha mejorado significativamente la disponibilidad de alimentos sin gluten en prácticamente todo el mundo (14).

Pero también se ha observado que existe un grupo de personas, aparentemente sanas, cada vez mayor que optan por una dieta libre de gluten por considerarla más saludable. Sin embargo, no toda alimentación libre de gluten puede considerarse como saludable y equilibrada. Se ha observado que la exclusión de gluten de la dieta puede derivar en dietas desequilibradas. Esto es debido a que muchos de estos alimentos sin gluten presentan un elevado contenido en grasas y son pobres en fibra, vitamina D, calcio, hierro y vitaminas del grupo B. Estos productos sin gluten presentan, por tanto, un peor perfil nutricional que sus homólogos con gluten, por lo que no son necesariamente más saludables que los convencionales (15).

Es muy importante que, ante la intolerancia al gluten, se preste atención a estos alimentos sin gluten y que se garantice que estos pacientes puedan realizar una dieta nutricionalmente equilibrada, que cumpla los objetivos nutricionales y que aporte una cantidad de energía y nutrientes adecuada en función de las recomendaciones. Es absolutamente importante, por tanto, seguir los principios de la alimentación saludable. Por eso, no es imprescindible eliminar los cereales de la dieta, sino que se pueden utilizar otras alternativas saludables: cereales, como arroz, maíz, mijo, sorgo o teff; pseudocereales, como quinoa o chía; tubérculos, como tapioca o yuca; etc. También existen distintos tipos de harina que ayudarán a elaborar una gran variedad de alimentos aptos para la alimentación libre de gluten: harinas de cereales (arroz, maíz, mijo), de leguminosas (soja, garbanzos, lentejas) o de vegetales y tubérculos (tapioca, fécula de patata). El empleo de pastas elaboradas con harina de leguminosas como alimento para intolerantes al gluten contribuye a elevar el valor nutricional de la dieta, ya que mejoran el perfil de aminoácidos e incrementan el contenido de minerales y fibra dietética.

1.2. MATERIAS PRIMAS: LENTEJAS

La lenteja (*Lens culinaris*) es un alimento perteneciente al grupo de las legumbres. Las legumbres pueden clasificarse en dos grupos principales,

leguminosas grano o legumbres y leguminosas oleaginosas. Las lentejas se encuentran en el grupo de leguminosas grano o legumbres, que destacan por un contenido moderado en proteínas, alto en hidratos de carbono complejos como el almidón y fibra alimentaria, y bajo contenido en grasa, que es principalmente de tipo insaturado. A su importancia nutricional hay que añadir los beneficios de su consumo en situaciones fisiológicas y patológicas, derivados de la estructura singular y específica de sus nutrientes y de la presencia de componentes no nutricionales que tienen un efecto especial sobre la biodisponibilidad de proteínas, hidratos de carbono y minerales.

Existe una gran cantidad de variedades de lentejas, dependiendo de la forma, color de la semilla madura, tamaño de la planta y precocidad. Algunas de las principales variedades que se pueden encontrar son las siguientes:

- Lenteja de La Armuña: tiene un tamaño aproximado de 6-9 mm de diámetro. Su color es verdoso y presenta un moteado. Su principal zona de cultivo está en la región de La Armuña, en Salamanca.
- Lenteja rubia castellana: su tamaño se encuentra entre 7 y 9 mm de diámetro. Presenta un color verde claro con motas más oscuras. Pueden sufrir oxidación y oscurecimiento a causa de la luz. La forma de su grano es ancho, aplastado y con forma de lente. En España se cultiva principalmente en la comunidad autónoma de Castilla la Mancha.
- Lenteja pardina o lenteja francesa: su tamaño varía en torno a 3-5 mm de diámetro. Tiene un color marrón rojizo o marrón terroso, con pequeños puntos negros en su piel y albumen amarillo. Su mayor producción en España se realiza en la Tierra de Campos, en la comunidad de Castilla y León.
- Lenteja verdina, lenteja Estón o lenteja de Lanzarote: es de pequeño tamaño, entre 3,5 y 5 mm de diámetro. Su color es verde claro. El cultivo de esta variedad en España se concentra en Castilla y León.
- Lenteja beluga o lenteja caviar: presenta un color negro brillante característico. Su cotiledón es de color amarillo. Su forma es semiesférica y son de pequeño tamaño.
- Lenteja Crimson o lenteja coral: son lentejas pequeñas, entre 3 y 5 mm de diámetro. Tienen un albumen de color rojizo.
- Lenteja Urad dal: son lentejas de color blanco que proceden de la India.

Además de por su variedad, estas legumbres pueden ser divididas por su tamaño (16):

- Raza macrosperma: su diámetro oscila entre 6 y 8 mm. El peso de 100 semillas debe ser superior a 4,5 g.
- Raza microsperma: el diámetro de las semillas debe comprender un tamaño aproximado de entre 3 y 6 mm. El peso de 100 semillas debe ser inferior a 4,5 g.

Las lentejas contienen un 19,8-31,4% de **proteínas**. La proteína de las lentejas presenta algunas limitaciones nutricionales, como su bajo contenido en aminoácidos azufrados y triptófano. Además, la digestibilidad de esta proteína es menor en comparación con otras fuentes, debido a su estructura y a la

presencia de compuestos antinutrientes. La utilización nutritiva de la proteína puede mejorar significativamente si se complementa con proteína de cereales o con proteínas de origen animal (17).

Los **hidratos de carbono** (CHO) suponen el 40,1-57,4% de su composición química. El componente mayoritario es el almidón, un CHO complejo. También contiene oligosacáridos, α -galactósidos, y, en menor proporción, azúcares sencillos, como glucosa o sacarosa. La **fibra alimentaria** en la lenteja se encuentra en torno al 10,1-21,4%, y se compone de un conjunto muy amplio de polisacáridos complejos, como celulosa, hemicelulosas, pectinas, gomas o mucílagos, acompañados de lignina (17).

El contenido de **lípidos** de las lentejas varía en torno al 0,7-3,8%. En general, esta grasa es de buena calidad nutricional, con mayor contenido en ácidos grasos insaturados, predominando los ácidos grasos oleico, linoleico y linolénico (17).

Las lentejas son una fuente de numerosos **minerales** esenciales para la salud que incluyen macroelementos, como K, P, Ca y Mg, microelementos, como Fe, Zn, Se, Cu y Mn, y oligoelementos o elementos traza, como Al, Cr, Ni, Mo, Pb y Co. Por regla general, el potasio es el mineral más abundante, seguido de fósforo, calcio, magnesio y sodio (17).

En cuanto a la presencia de **vitaminas**, las lentejas son buena fuente de vitaminas hidrosolubles, como tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, ácido fólico, ácido pantoténico y biotina. El contenido en vitaminas puede verse afectado por los métodos de procesado, mientras que tratamientos biotecnológicos, como la germinación o la fermentación, tienen un claro efecto beneficioso sobre el contenido de algunas vitaminas (17).

Por último, las legumbres se caracterizan por contener una serie de sustancias bioactivas que se conocen como factores o **compuestos no nutricionales**; algunos se consideran antinutrientes, aunque también se han demostrado diversas propiedades beneficiosas de estas sustancias. Los principales componentes no nutricionales de las lentejas son (17,18):

- *Inhibidores de las proteasas*: pueden interferir en la absorción de las proteínas y en la utilización metabólica de los distintos aminoácidos. El procesamiento térmico de las lentejas para su consumo inactiva eficientemente estos compuestos. Por otro lado, pueden ejercer también efectos beneficiosos para la salud, actuando como agentes antiinflamatorios y anticancerígenos.

- *Lectinas*: se asocian con hidratos de carbono en su forma libre o forman estructuras más complejas en el intestino delgado, y pueden causar daños en la pared intestinal, afectando a la absorción y el transporte de nutrientes, con la consiguiente generación de diarreas. Otros efectos perjudiciales son la inflamación, la aglutinación de las células sanguíneas y los vómitos. También se han descrito algunos efectos beneficiosos, como su papel como anticancerígeno y su efecto prebiótico. Incluso se ha descrito su capacidad como coadyuvante de vacunas orales, al incrementar la producción de anticuerpos. Su eliminación se produce con un tratamiento con agua a 100 °C durante 10 minutos.

- *Ácido fítico*: actúa como quelante de metales bivalentes como calcio, hierro o cinc, lo que disminuye su biodisponibilidad. También es capaz de quelar metales tóxicos o con elevada capacidad para generar radicales libres. Otros efectos beneficiosos son su actividad hipoglucemiante e hipolipemiante, y su capacidad antioxidante y de protección contra lesiones del ADN. Su eliminación se realiza mediante tratamiento con vapor de agua (en un autoclave) a 120 °C, durante 2 horas, incubación en agua (60°C, 10 horas), molienda (para eliminar la capa externa), adición de fitasas, extracción acuosa (18 horas), fermentación y germinación.
- *Saponinas*: pueden reducir la utilización de los nutrientes al alterar la permeabilidad del intestino delgado. También tiene efectos beneficiosos, puesto que pueden reducir las concentraciones de colesterol, incrementar la excreción de ácidos biliares y la inhibición del crecimiento de células tumorales. Se eliminan del alimento mediante extracción acuosa.
- *Alfa-galactósidos*: es un componente que produce flatulencia. Se elimina mediante remojo en agua, germinación o fermentación.

Por otra parte, al tratarse de productos de origen vegetal, las lentejas incluyen en su composición fenoles, entre los que destacan ácidos fenólicos, tocoferoles y vitamina C. Varios estudios han demostrado que las leguminosas presentan actividad antioxidante (19-25) que ayuda en la prevención de enfermedades y la promoción de la salud. Un estudio realizado en 2010 (26), centrado en el estudio del contenido total de fenoles en lentejas pardinas, identificó un total de 35 compuestos fenólicos: 69% de catequinas y proantocianidinas; 17% de flavonoles; 5% de flavonas y flavanonas; 5% de hidroxibenzoicos; y 3,5% de hidroxicinámicos. Sin embargo, a pesar de que las lentejas son las leguminosas con mayor contenido en fenoles totales, no son las legumbres con mayor capacidad antioxidante (aunque ésta es muy elevada, debida a los fenoles) (27).

1.3. TECNOLOGÍA DE EXTRUSIÓN

La extrusión de alimentos es una tecnología emergente en la industria alimentaria que permite procesar y producir gran cantidad de productos de diferente tamaño, forma, textura y sabor y, lo más importante, con propiedades nutricionales mejoradas. La extrusión es un procedimiento mecánico de inducción de energía térmica y mecánica, mediante el que se aplica al alimento alta presión y temperatura durante un corto espacio de tiempo (28). Es una forma de cocción rápida, continua y homogénea. La extrusión es una técnica de procesamiento alimentaria que permite mejorar la digestibilidad de los alimentos y otros aspectos nutricionales.

La tecnología de cocción por extrusión es un proceso a alta temperatura y corto tiempo, necesario para producir cambios nutricionales, físico-químicos y estructurales en materiales crudos, haciendo pasar a la materia prima por diferentes condiciones de temperatura, humedad, velocidad del tornillo y alimentación. También se caracteriza por tener un control automatizado, alta productividad y versatilidad, y tiene una alta adaptabilidad a las condiciones de procesamiento, eficiencia energética y un bajo coste. Este método es una técnica

de procesamiento en la industria alimentaria, y es considerado un proceso de fabricación eficiente.

En el caso de la extrusión de la harina, durante este proceso se pueden producir diferentes cambios estructurales y distintas reacciones que modifican sus propiedades, como gelatinización del almidón, formación de un complejo entre la amilosa y los lípidos, degradación de pigmentos, reacción de Maillard, alteraciones en el contenido de polifenoles, inactivación de los distintos compuestos antinutrientes (cómo ácido fítico, lectina, tripsina, inhibidores de la quimotripsina y desnaturalización de las proteínas), texturización y mejora de las características sensoriales.

Estas reacciones son fundamentales para el desarrollo de la estructura y funcionalidad del producto final. El proceso de extrusión es un método eficaz para obtener productos como *snacks* expandidos, cereales de desayuno, galletas, almidones modificados, proteína de vegetales texturizada, pasta, sustitutos de la carne y alimentos para mascotas (29).

El extrusionado se puede realizar en dos condiciones:

- Extrusionado en seco: el material que se utiliza sufre alteraciones provocadas por la presión y el calor.
- Extrusionado en húmedo: en este caso, además de la presión y el calor, se añade vapor (humedad) al material extruido. Este tipo de extrusionado es el que se realiza más frecuentemente. La única condición necesaria para llevar a cabo este proceso es que el material a extruir no debe contener apenas grasa en su composición.

Equipo de extrusión

Una máquina de extrusión consta de distintas partes: un sistema de alimentación de los alimentos o materias primas, un sistema de fusión-plastificación, un sistema de bombeo y presurización, donde normalmente también se mezclan los productos y un dispositivo que da la forma final al material fundido (filamentos, bolas, etc.). La Figura 1 muestra un esquema de una máquina extrusora de tornillo único.

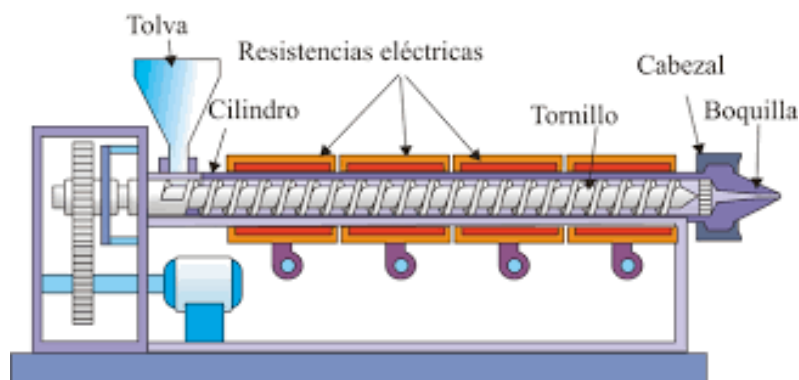


Figura 1. Esquema de una máquina extrusora de tornillo único. Tomada de Beltrán M y Marcilla A (30).

El sistema de alimentación más común en este tipo de máquinas es una tolva. El alimento o la materia prima que se va a extrusionar generalmente se introduce en forma de polvo o granza. El sistema de fusión-plastificación, sistema de bombeo y presurización (y mezclado) está formado por un tornillo de Arquímedes que gira en el interior de un cilindro que se calienta con resistencias eléctricas (Figura 1). Al final del cilindro se coloca un cabezal con una boquilla de salida con la forma deseada, de modo que, al pasar por ella el producto, éste adquiere dicha forma. El sistema cilindro-tornillo es la parte más importante de la máquina extrusora, puesto que, cuando gira, se compacta el alimento sólido, de forma que se fusiona el material y es transportado hacia el cabezal con la boquilla de conformado. Así, se produce al mismo tiempo la presurización y la mezcla del material.

Las máquinas de extrusión se pueden dividir en tres partes:

- *La zona de alimentación:* donde se encuentra la tolva; en esta parte la profundidad del canal del tornillo es máxima. Su función es compactar el alimento o materia prima y transportarlo hacia la siguiente zona a una velocidad adecuada.
- *La zona de transición o compresión:* es la zona intermedia; en esta parte la profundidad del canal se reduce gradualmente.
- *La zona de dosificado:* es la parte más cercana a la boquilla de salida; la profundidad de canal es constante y muy pequeña. En esta parte el material fundido se homogeneiza y se presuriza; es decir, se le obliga a atravesar a presión la boquilla de conformado, de forma que, al salir, adquiere la forma final deseada.

La presión va aumentando a medida que el material se va alejando de la zona de alimentación (hacia la zona de salida o dosificado).

Existen otros tipos de máquinas extrusoras, aunque son menos empleadas en la industria alimentaria, como las extrusoras multitornillo, que tienen más de un tornillo o cilindro. Las más importantes son las de dos tornillos, entre las que existe una gran variedad en función de si los tornillos tienen giro contrario (lo más frecuente) o giran en paralelo; y del grado de interpretación de los mismos. Estas máquinas tienen importantes ventajas, como una buena capacidad de mezclado y desgasificación, y un buen control del tiempo de residencia y de su distribución. Sin embargo, son muy caras y difíciles de manejar (30).

Las extrusoras se clasifican en húmedas o secas, por un lado, y en simples o de doble hélice (Tabla 1), por otro. La extrusión seca utiliza niveles de humedad por debajo del 20%.

Tipo de extrusora	Producción	Versatilidad
Hélice simple (extrusión seca)	Pequeña	Restringida
Hélice simple (extrusión húmeda)	Grande	Elevada
Hélice doble (extrusión húmeda)	Grande	Total

Tabla 1. Tipos de máquinas extrusoras. Tomada de Beltrán M y Marcilla A (30).

Efectos en los alimentos

El proceso de extrusión incrementa la vida útil del alimento desde unas pocas semanas a unos 9-12 meses, aunque el alimento puede ser consumido inmediatamente por el consumidor. Se ha establecido que el sistema de extrusión es actualmente la forma más eficiente de procesar alimentos o combinaciones de los mismos con baja actividad de agua, de forma que se transforman en alimentos estables durante unos 12 meses, dependiendo de las condiciones de almacenamiento y envasado.

El proceso de extrusión puede provocar distintos efectos en los alimentos crudos, ya que pueden someterse a temperaturas de hasta 250 °C y una presión de más de 100 bars. Se ha observado que este método puede provocar distintos cambios en las propiedades nutricionales de los alimentos:

- La extrusión afecta a la digestibilidad de las proteínas, y a la solubilización de la fibra. El tratamiento térmico provoca la desnaturalización de las proteínas.
- La extrusión también afecta al contenido total de fibra dietética, aumentándolo o reduciéndolo en función de la materia prima, las condiciones del proceso y la funcionalidad de las diferentes fracciones. Numerosos estudios han descrito cambios en la ratio fibra dietética soluble/fibra dietética insoluble tras el procesado (31), lo que puede tener implicaciones nutricionales y funcionales.
- También se ha documentado la inactivación de las enzimas responsables de la oxidación lipídica, la reducción del contenido de factores antinutritivos y la disminución de la carga microbiana.
- El proceso de extrusión también afecta de forma importante a los carbohidratos, especialmente al almidón, ya que puede gelatinizar. La retrogradación del almidón gelatinizado induce la formación de almidón resistente, que es un tipo de almidón que resiste la digestión en el intestino delgado y puede ser digerido en el intestino grueso, donde es fermentado por la microflora del colon. Este efecto puede ser positivo, por su posible papel en la reducción del riesgo de cáncer de colon (32).

La extrusión permite convertir granos de cereales enteros en productos palatables y prácticos. La capacidad para reducir toxinas y microorganismos, mientras se incrementa la digestibilidad, hace de la extrusión una técnica muy adecuada para la producción de productos alimenticios. La cocción por extrusión puede mejorar o reducir la calidad nutricional de los alimentos (33).

Efectos de la extrusión sobre la harina de lentejas

Ciudad-Mulero et al. (34) analizaron la composición fitoquímica y la actividad antioxidante de diferentes formulaciones de harina de lentejas: crudas, extruidas a 140 °C y extruidas a 160 °C. También evaluaron los cambios inducidos por los procesos de cocción y extrusión en las muestras.

Sus resultados demostraron que el contenido total de fibra dietética aumentó significativamente en las harinas extruidas a 140 °C y 160°C.

También se observó que el procesamiento de las harinas (tratamiento mecánico, tratamiento térmico, cocción por extrusión y bioprocesamiento) provocó pérdidas de los compuestos antioxidantes, debido a las altas temperaturas utilizadas en estos procesos. En el caso de la vitamina E, diversos factores pueden afectar a su contenido, como la mezcla, el acondicionamiento, la temperatura de cocción, las revoluciones por minuto del tornillo, la presión, la humedad, etc. En este estudio el procesamiento produjo una reducción del 81,5-92,0% del contenido total de tocoferol, y no se encontró ninguna isoforma de vitamina E (alfa-tocoferol y beta-tocoferol) tras el proceso de extrusión; el mayor contenido de tocoferol se determinó en las muestras crudas. Sin embargo, la capacidad antioxidante total aumentó o se mantuvo sin cambios con la extrusión, al comparar las harinas extrusionadas con las mezclas crudas (34).

2. JUSTIFICACIÓN

El mercado mundial de los productos sin gluten ha experimentado un gran avance en los últimos años debido a un aumento en los problemas de salud relacionados con el gluten y la alergia al trigo. Además, hay ciertos grupos de población que optan por el consumo de estos alimentos, ya que los consideran una opción más saludable.

Sin embargo, una alimentación sin gluten no siempre es saludable y equilibrada. Para considerarla como tal, no se deben eliminar los cereales de la dieta, sino incluir sólo aquellos cereales u otras alternativas (libres de gluten) permitidas para estos pacientes, como sorgo, mijo, quinoa, chía, arroz, maíz, etc. También se pueden utilizar harinas obtenidas de los productos indicados, de vegetales y tubérculos, y de leguminosas.

Por otra parte, se ha observado que en muchas ocasiones los alimentos sin gluten no presentan un adecuado perfil nutricional, puesto que contienen mayor cantidad de grasa y menor de fibra, vitamina D, hierro, vitaminas del grupo B y calcio que sus homólogos convencionales (15). Esto es especialmente tangible en grupos de alimentos considerados de consumo ocasional, como bollería o aperitivos dulces y salados.

La utilización de la tecnología de extrusión presenta una gran ventaja a la hora de desarrollar un producto libre de gluten por la mejora tecno-funcional que puede aportar.

Por ello, en el presente trabajo se planteó el diseño y producción de un *snack* elaborado con harina de leguminosas y otras harinas libres de gluten, para ofrecer una nueva alternativa saludable en la alimentación de personas con enfermedad celíaca.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

El objetivo de este trabajo fue la obtención un *snack* de harina de lenteja y maíz utilizando la extrusión como tecnología de transformación de la harina mezcla.

3.2. Objetivos específicos

Los objetivos específicos del trabajo fueron los siguientes:

- Diseño del *snack*, con especial atención a sus características organolépticas, adecuadas para el consumo.
- Análisis de las características fisicoquímicas del *snack*, como su composición nutricional, índice glucémico, capacidad antioxidante y contenido en almidón.
- Evaluación de la adecuación del *snack*, a partir de su composición, para poder ser considerado como una opción saludable en la dieta de una persona celíaca.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO

Se diseñó un estudio factorial teniendo en cuenta diferentes concentraciones de harina de lenteja suplementada con maíz, arroz y diferentes grados de humedad.

Las condiciones que se plantearon para llevar a cabo las mezclas de harinas fueron las siguientes:

Nº mezcla	Lenteja (g)	Humedad lenteja (%)	Maíz (g)	Humedad maíz (%)	Agua (g)	Porcentaje lenteja (%)	Humedad total (%)
1	500	10.57	500	14.05	169.2	50	25
2	500	10.57	500	14.05	110.74	50	20
3	1000	10.57	1000	14.05	104.56	50	15

Tabla 2. Condiciones de las mezclas previas al proceso de extrusión.

La intención principal del estudio era analizar diferentes mezclas de harina, pero debido a la situación sanitaria que empezó en el mes de marzo relativa a la pandemia del COVID-19, no pudo llevarse a cabo por completo, y sólo se realizó el estudio con la mezcla de harina de lenteja y harina de maíz.

4.2. MATERIAL

Inicialmente se utilizaron harina de lenteja, harina de maíz, harina de avena y harina de arroz.

4.3. METODOLOGÍA

4.3.1. Análisis de las harinas

Se seleccionó una porción de cada harina y se determinó la humedad, el contenido en proteínas, grasas, cenizas, carbohidratos, la capacidad antioxidante, el contenido en almidón y el índice glucémico.

4.3.1.1. Determinación de la humedad

Se seleccionó una porción de 10 g de cada tipo de harina y se determinó su humedad con el analizador de humedad *Sartorius MA35*.

4.3.1.2. Análisis de la composición nutricional

4.3.1.2.1. *Determinación de nitrógeno y proteína*

El contenido de nitrógeno de las mezclas de harina se determinó con el método de Dumas (AOAC 2005, método 990.03), en un analizador elemental CN-2000.

El contenido en proteínas se obtiene multiplicando el valor del nitrógeno total de la muestra por 6,25.

4.3.1.2.2. *Determinación de la grasa total*

La grasa de las muestras se determinó por el método Soxhlet, empleando el extractor Socatec System 2055, de Tecator. Para ello se añadió previamente éter de petróleo a las mezclas de harinas en seco y se dejó actuar durante 4 horas.

4.3.1.2.3. *Determinación del contenido en cenizas*

Para determinar las cenizas (contenido en minerales) de las muestras, se introdujeron en un horno mufla a 550 °C durante aproximadamente 5 horas, de forma que todos los componentes orgánicos de las muestras se oxidan completamente. El contenido en cenizas se obtiene pesando el residuo inorgánico que queda después de la ignición.

4.3.1.2.4. *Determinación del contenido en hidratos de carbono*

El contenido en hidratos de carbono de la muestra se obtuvo por diferencia, restando al peso inicial de la muestra el contenido en agua, proteínas, grasas y cenizas.

4.3.1.3. Análisis de la capacidad antioxidante

Existen distintos métodos para el análisis de la capacidad antioxidante de un alimento, dependiendo del grado de interacción de los antioxidantes con las macromoléculas o su disposición en los alimentos, ya que su capacidad para ser extraídos puede variar significativamente (35-37).

4.3.1.3.1. *Extracción de las muestras para analizar su capacidad antioxidante*

Se añadió 1 g de la muestra a 10 ml de una solución extractora metanol: agua (50:50). La mezcla se incubó a 25°C y 250 rpm durante 60 minutos. A continuación, se centrifugó 10 minutos a 25 °C y a una velocidad de 4000 rpm.

Se extrajo el sobrenadante, se filtró y se añadió a una solución metanol: agua (50:50), enrasándola a 15 ml.

4.3.1.3.2. Determinación de polifenoles totales (TP)

Se mezclaron 140 µl de las muestras preparadas con 280 µl del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido en proporción 1/10) y 980 µl de una disolución de sodio carbonatado 42,86 mM. La mezcla se agitó y se dejó en reposo 100 minutos en la oscuridad. Pasado este tiempo, las mezclas se centrifugaron a 13500 rpm durante 3 minutos.

Se midió la absorbancia de las muestras a 760 nm en un espectrofotómetro. Los resultados obtenidos se expresaron como mg de ácido gálico por 100 g de muestra, empleando una curva de calibración de ácido gálico (70 µM a 9,8 µM).

4.3.1.3.3. Método ORAC

El método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*, o capacidad atrapadora de radicales oxígeno) analiza la capacidad de eliminación de los antioxidantes contra el radical peroxilo, empleando una sonda fluorescente (fluoresceína). El método se basa en que los radicales peroxilo oxidan a la fluoresceína, de forma que ésta pierde su fluorescencia. Si en el medio hay antioxidantes presentes, inhiben la reacción entre el radical peroxilo y la fluoresceína, de forma que no se reduzca la fluorescencia (38,39).

Para ello se emplea una curva de estándares de Trolox (120, 90, 60, 30, 15 y 7,5 µM). Los extractos de la muestra y los estándares se diluyeron (1:20 y 1:10) en un tampón fosfato. En los pocillos de las placas se agregaron 150 µl de fluoresceína y 25 µl de los estándares de Trolox o de los extractos de la muestra o de tampón (para el blanco). Estas mezclas se incubaron al baño maría durante 8 minutos a 37°C. Después se añadió el iniciador de la reacción: AAPH (2,2'-azobis (2-methyl-propionamidine) dihydrochloride) 153 mM, preparado en un tampón fosfato.

Se determinó la fluorescencia en un lector de placas, leyendo a 485 nm y 528 nm cada minuto durante 90 minutos.

Los resultados se expresaron en mg de equivalentes de Trolox por 100 g de muestra.

4.3.1.3.4. Método TEAC (Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox)

La oxidación en los alimentos provoca que se genere persulfato potásico del ABTS (2,2'-azinobis-(3etilbenzotiazolin)-6-sulfonato sal diamónica), dando lugar a un compuesto coloreado que se puede determinar a 734 nm. Así, este método evalúa la capacidad de los antioxidantes para reducir el ABTS y evitar el proceso de oxidación en los alimentos, de forma que cuanto menos color se determine, mayor capacidad antioxidante habrá (40).

Para llevar a cabo el método, primero se preparó la solución de ABTS 7 mM, a la que se añadió persulfato de potasio 2,45 mM en agua ultrapura. La mezcla se incubó a temperatura ambiente en la oscuridad durante 24 h; después se diluyó hasta obtener una absorbancia de 0,70 a 734 nm. También se preparó una curva de estándares de Trolox (240, 120, 60, 30, 15 y 7,5 µM) con etanol: agua (50:50).

Se mezclaron en tubos Eppendorf 10 mg de cada muestra con 160 µl de una solución etanol: agua (50:50). También se prepararon tubos Eppendorf con 160

µl de cada concentración de la curva de estándares de Trolox. Se agregaron a cada tubo 1,6 ml de la solución de ABTS diluida. Los tubos se mantuvieron en agitación 30 minutos a 25 °C. Posteriormente se centrifugaron 2 minutos a 1400 rpm.

Se añadieron 300 µl de las muestras y estándares, por duplicado, en los pocillos de una microplaca, así como de la solución etanol: agua para el blanco. Se leyó la absorbancia a 730 nm en un espectrofotómetro. Los resultados se expresan en µmoles de equivalentes de Trolox por cada 100 gramos de muestra.

4.3.1.3.5. Método DPPH

La finalidad del método DPPH es conocer cuál es la capacidad con que un antioxidante logra atrapar los radicales libres. Para ello se observa el cambio de color que sufre la molécula de DPPH (2,2-difenil1-picrilhidrazilo). Este radical, si se encuentra con antioxidantes, sufre una disminución de su coloración (41).

Para el ensayo se añadieron en cada pocillo de una microplaca 25 µl de la muestra, 100 µl de agua ultrapura y 125 µl de la solución DPPH, y se midió la absorbancia de las muestras a 515 nm en el espectrofotómetro.

Los resultados se expresan en µmoles de equivalentes de Trolox por cada 100 gramos de muestra.

4.3.1.4. Determinación del almidón

Para llevar a cabo este análisis, es necesario convertir el almidón en glucosa, a partir de la conversión hidrolítica.

Se preparó una mezcla de 0,1 g de muestra con 200 µl de una solución etanol: agua (80:20), a la que se añadieron 3 ml de una solución α-amilasa termoestable. La mezcla se sometió al baño maría a 95°C durante 12 minutos con agitación en intervalos de 4 minutos. Se dejó enfriar.

Posteriormente, se añadieron 100 µl de amiloglucosidasa. Se colocó de nuevo la mezcla al baño maría, a 50°C y durante 30 minutos. Así, las dextrinas que forman parte del almidón son hidrolizadas a D-glucosa.

A continuación, se enrasó el volumen de las muestras con agua ultrapura hasta alcanzar los 10 ml y se centrifugaron a 3000 rpm, 25°C, durante 10 minutos. Se extrajeron 20 µl del sobrenadante, diluido 1:10, y se mezclaron con 600 µl del reactivo GOPOD (glucosa oxidasa/peroxidasa). Este reactivo fue previamente preparado mediante el kit Megazyme, el cual se prepara mezclando glucosa oxidasa, peroxidasa y 4-aminoantipirina. Esta mezcla del sobrenadante junto con el reactivo GOPOD fue incubada al baño maría durante 20 minutos a una temperatura de 50°C.

Para terminar, se añadieron 200 µl de esta mezcla en las celdas de la placa para introducir las en el espectrofotómetro. Se midió la absorbancia a 510 nm. Los resultados se expresan como % de almidón según la ecuación:

$$\% \text{ almidón} = (\text{Abs muestra corregida por el blanco de ensayo}) * F * (\text{VF}/0,02) * (1/1000) * (100/W) * (162/180)$$

donde:

- F: 20/Abs obtenida por el estándar de glucosa (20 µg glucosa en rxn).
- VF/0,02: VF: volumen final (100 ml); 0,02: ml de la muestra añadidos en la reacción (20 µl).
- 162/180: ajuste de D-glucosa libre a D-glucosa anhidro (que es como se encuentra en el almidón).

4.3.1.5. Determinación del índice glucémico (IG)

Mediante este proceso, realizado in vitro, se analiza la velocidad a la que el almidón de los alimentos es digerido en nuestro organismo.

Se pesó una cantidad de muestra que correspondiera a 50 mg de almidón biodisponible, a la que se le añadieron 2 ml de buffer Tris-maleato (100 mM). También se preparó un blanco (pan blanco), que se procesó del mismo modo que las muestras. Las mezclas se calentaron a 37°C al baño maría con agitación orbital media, para obtener una disolución homogénea.

Durante la incubación, se agregaron a cada muestra 2 ml de una solución α -amilasa (20 mg/ml) y amilogucosidasa (6,6 U/ml) en buffer Tris-maleato. Y se fueron extrayendo alícuotas de 150 µl de las muestras a los 0, 10, 20, 30, 60, 90 y 120 minutos.

Las alícuotas extraídas se colocaron inmediatamente en un baño de agua a 100°C durante 5 minutos para inactivar la α -amilasa. A continuación, las muestras se colocaron en hielo.

Posteriormente, se añadieron a las muestras 150 µL de etanol, se agitaron para homogeneizarlas, y se centrifugaron a 10000 rpm, 4 °C, durante 5 minutos.

Se extrajeron 270 µl del sobrenadante, que se echaron en tubos Eppendorf, a los que se añadieron 150 µl de una disolución de etanol: agua (1:1). Se centrifugaron de nuevo a 10000 rpm, 4 °C, durante 5 minutos.

A continuación, se añadieron 600 µl de reactivo GOPOD en tubos Eppendorf, a los que también se agregaron 20 µl de una disolución etanol: agua (1:1) en el tubo considerado como blanco, 20 µl del sobrenadante de la muestra obtenida en el procedimiento anterior, o 20 µl de una solución de glucosa (1 mg/ml) en el estándar de glucosa. Estas preparaciones se colocaron en un baño maría a 50 °C durante 20 minutos, para que el reactivo GOPOD reaccionara.

Por último, se añadieron 200 µl de estas muestras en los pocillos de una microplaca, que se introdujo en el espectrofotómetro para medir su absorbancia a 510 nm.

Los resultados se expresan como concentración de glucosa (µg/ml), utilizado como referencia la absorbancia del estándar de glucosa (1 mg/ml), según la ecuación siguiente:

$$\mu\text{g glucosa /ml} = \frac{\text{Abs muestra (corregida)} * 1000}{\text{Abs estándar de glucosa (corregida y valor medio)}}$$

A continuación, se calculó el índice de hidrólisis (IH) del siguiente modo:

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

donde AUC: área bajo la curva para cada muestra.

Finalmente, se estimó el índice glucémico empleando la ecuación de Granfeldt et al. (42):

$$\text{IG} = 8,198 + (0,862 * \text{IH})$$

4.3.2. Formulación y elaboración de las masas

Las masas se elaboraron a partir de 3 mezclas distintas, en función de la cantidad de harina y de agua. Todas las mezclas contenían un 50% de harina de lenteja, sobre la que se añadió un 50% de otra harina libre de gluten.

Para mezclar las harinas se empleó un tamiz y un molino *Fidibus medium*.

Los tres tipos de mezclas se diferenciaban en la cantidad de agua añadida, en función de la cantidad de humedad deseada. La Tabla 3 refleja los 3 tipos de muestras con distintos grados de humedad obtenidos a partir de la mezcla de harina de lenteja y maíz. Se realizaron, del mismo modo, mezclas de harina de lenteja con harina de avena y arroz.

Nº de mezcla	Harina de lenteja (g)	Harina de maíz (g)	Agua (g)
1	500	500	169.2 g (25% de humedad)
2	500	500	110.7 g (20% de humedad)
3	1000	1000	104.56 g (15% de humedad)

Tabla 3. Tipos de muestras de harina de lenteja y maíz.

Las mezclas fueron tamizadas para eliminar los grumos y se almacenaron a 4°C de temperatura, en bolsas envasadas al vacío.

4.3.3. Extrusionado

Se utilizó el extrusor *Kompaktextruder ke 19 brabender* (Figura 2). El proceso tuvo una duración aproximada de 60 minutos.



Figura 2. Extrusor Kompaktextruder ke 19 brabender utilizado en el proyecto.

Para comenzar, se vertió en la tolva del extrusor la mayor parte del contenido de la mezcla 1, con objeto de iniciar el funcionamiento del extrusor y que las distintas partes que lo conforman vayan alcanzando la temperatura adecuada progresivamente. Las muestras obtenidas en este proceso fueron desechadas, al no estar procesadas con las condiciones adecuadas.

Después, se continuó con la mezcla 2. Esta mezcla tenía menor humedad que la anterior, lo que favorece el aumento de temperatura del extrusor.

Una vez conseguida la temperatura adecuada de cocción del *snack*, se vertió el contenido de la mezcla 3, y se recogieron las muestras del *snack* obtenido en este proceso.

Para finalizar, se realizó el proceso de apagado de la máquina con la cantidad restante de la mezcla 1, puesto que, al tener una humedad mayor, permite el enfriado y apagado de la máquina.

El Anexo 1 refleja las características de trabajo del extrusor durante el procesamiento de esta mezcla.

En este proceso se obtuvieron cuatro muestras del *snack*:

- *Snack* extruido a una temperatura final de 110-120°C.
- *Snack* extruido a una temperatura final de 120-125°C.
- *Snack* extruido a una temperatura final de 125-130°C.
- *Snack* extruido a una temperatura final superior a 130 °C. Esta muestra fue la que tenía la temperatura final de tratamiento y sobre la que se ejerció una presión estable de 180-200 bar.

Estas muestras fueron horneadas a una temperatura de 40°C para proceder a su secado. Una vez secadas fueron envasadas al vacío y almacenadas a temperatura ambiente.

4.3.4. Triturado y molienda

La siguiente fase del proceso fue el triturado y la molienda de los *snacks* extruidos en la fase anterior. Se empleó una trituradora *Moulinex 750W*.

Una vez trituradas y molidas, las muestras fueron envasadas al vacío y almacenadas a temperatura ambiente.

4.3.5. Análisis de los *snacks*

Se seleccionó una muestra del *snack* triturado y molido y se determinó la humedad, el contenido en proteínas, grasas, cenizas, carbohidratos, la capacidad antioxidante, el contenido en almidón y el índice glucémico, empleando los mismos procedimientos que para el análisis de las harinas.

4.3.6. Análisis estadístico

Las variables se expresaron como media (DE).

Las diferencias en la capacidad antioxidante de la mezcla de harina de lenteja y maíz antes y después de la extrusión se analizaron con el test U de Mann-Whitney (dado que el número de muestras analizado fue reducido: entre 3 y 8, en función del método empleado). La significación se alcanzó con $p < 0,05$.

Las diferencias en la composición nutricional, en el contenido en almidón y en el índice glucémico de la mezcla de harina de lenteja y maíz antes y después de la extrusión no se analizaron estadísticamente porque sólo se pudieron determinar estos indicadores en 2 muestras de cada tipo.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los enfermos celíacos presentan una intolerancia al gluten de por vida y su único tratamiento es la supresión de los alimentos que contienen este complejo proteico de su dieta. La adherencia a una dieta libre de gluten es fundamental para ellos, puesto que, en caso contrario, se reinstauran los síntomas asociados a la ingesta de gluten, con la consiguiente reducción en la calidad de vida (43). Además, el incumplimiento terapéutico a largo plazo provoca una mayor incidencia de las distintas enfermedades asociadas a la enfermedad celíaca (44). También se ha demostrado que los pacientes más expuestos al gluten, por no seguir dietas sin gluten o por un diagnóstico tardío, presentan mayor riesgo de desarrollar diabetes (45).

Planificar una dieta sin gluten puede resultar difícil al principio del tratamiento, pues se deben eliminar los cereales que lo contienen (trigo, cebada, centeno y avena) que, en nuestro medio, son básicos en la alimentación, especialmente el trigo. El mercado trata de responder a estas necesidades proponiendo otras alternativas, como ya se ha comentado: productos elaborados con harinas de otros cereales, leguminosas, tubérculos, etc. que emulan a los productos convencionales con gluten: pastas, panes y otros productos de bollería y pastelería, etc. Sin embargo, en muchas ocasiones los alimentos sin gluten, aunque son aptos para estos pacientes desde el punto de vista del tratamiento dietético, no son muy adecuados desde el punto de vista nutricional. Se trata de productos con mayor contenido en grasas saturadas, azúcares o sal y peor composición en proteínas, vitaminas y fibra, en comparación con sus homólogos con gluten. Además, estos productos son más caros, lo que repercute también en la calidad de vida de los sujetos que deben consumirlos (43). La ingesta de estos alimentos como parte importante de la dieta podría asociarse también con otras patologías crónicas de alta prevalencia, como diabetes tipo 2, obesidad/sobrepeso, enfermedad cardiovascular, etc.

Por otra parte, las personas con alguna intolerancia al gluten también ven con mucha frecuencia limitado el acceso a muchos alimentos que no deberían llevar gluten en su composición (derivados cárnicos, postres lácteos, pimentón, etc.), pero que sí lo contienen, por estar elaborados con aditivos y/o ingredientes (harinas de cereales) no permitidos para ellos.

La industria alimentaria debería tener esto en cuenta, y reformular muchos de estos productos, mejorando su composición nutricional, al mismo tiempo que se aumenta la variedad de productos para los pacientes celíacos.

Por eso, el objetivo inicial del trabajo fue la obtención de un *snack* saludable libre de gluten, adecuado para la población celíaca. La intención inicial fue elaborar varios *snacks* con distintas mezclas de harinas para obtener diversas opciones saludables. Además de la mezcla de harina de lenteja y harina de maíz finalmente utilizada, se iban a ensayar mezclas de harina de lenteja con harina de arroz y harina de avena; harina de maíz sola; y harina de arroz sola. Estas harinas se prepararon y extrusieron, pero ante la situación sanitaria debido a la pandemia de la COVID-19 durante el proyecto, no hubo posibilidad de analizar su composición nutricional, ni el resto de parámetros de interés, ni se han podido

obtener los *snacks* producto de su extrusión. También se iban a realizar un análisis sensorial y nutricional más exhaustivo, pero por el mismo motivo, no fue posible.

Así, los resultados del estudio se obtuvieron únicamente con la mezcla de harina de lenteja y harina de maíz al 50%, antes de la extrusión y en el producto extrusionado a una temperatura de 130°C y a una presión estable de 180-200 bar.

5.1. Composición nutricional

La Tabla 4 recoge los resultados de la composición química de la mezcla de harina de lenteja y harina de maíz antes y después de la extrusión:

Composición química	Antes de la extrusión Media (DE)	Después de la extrusión Media (DE)
Humedad (%)	11,7 (0,11)	5,0 (0,0)
Proteínas (%)	15,2 (0,08)	9,1 (0,0)
Grasas (%)	1,14 (0,06)	1,29 (0,14)
Hidratos de carbono (%)	70,2 (0,02)	83,1 (0,14)
Cenizas (%)	1,84 (0,01)	1,50 (0,0)

Tabla 4. Composición nutricional de la mezcla de harina de lenteja y harina de maíz antes y después del proceso de extrusión.

El análisis de la composición nutricional de la mezcla de harina de lenteja con harina de maíz evidenció una reducción significativa ($p < 0.05$) de la humedad provocada por la extrusión, como se esperaba, puesto que, durante este proceso, las muestras alcanzan elevadas temperaturas. Además, cuando el producto atraviesa la boquilla de conformado (lo que provoca su expansión), la diferencia de presión hace que parte de su agua de constitución se evapore de manera instantánea. Esta reducción en la humedad favorece la conservación del *snack*, ya que puede aumentar considerablemente su vida útil.

La extrusión también disminuyó el contenido de proteínas en la mezcla evaluada. Sin embargo, distintos estudios (46,47) han documentado un aumento en el contenido de proteínas tras el proceso de extrusión. Es posible que, en el presente trabajo, la disminución del contenido proteico se asocie a un reducido contenido en almidón. El aumento de la temperatura durante el procesado provoca la desnaturalización de las proteínas; y su solubilidad también se ve afectada. Sin embargo, si la mezcla de harinas hubiera presentado una cantidad elevada de almidón, la proteína habría permanecido en el interior de la matriz (48), con lo que no se habría perdido. Por otra parte, durante la extrusión las condiciones de humedad y temperatura favorecen la reacción de Maillard (en la que los grupos amino libres de las proteínas reaccionan con los azúcares). Estas

reacciones reducen la disponibilidad y digestibilidad de los aminoácidos (49). Si la reacción de Maillard es importante, se pueden producir pérdidas muy grandes de aminoácidos, como la lisina (50). La disponibilidad de este aminoácido también puede verse afectada por las fuerzas físicas que recibe la muestra durante el proceso de extrusión (51)(52).

Aunque, en porcentaje, el contenido de grasas aumentó ligeramente tras el proceso de extrusión, esto se explica por la disminución en el contenido de humedad, de modo que la cantidad total de grasas no se modificó. Por otra parte, el reducido porcentaje de humedad de la mezcla de harina y las temperaturas empleadas (no excesivamente elevadas), no se asocian a cambios en el contenido de grasas de las muestras, tal como documentó Flores Nogales (53).

Al contrario que las proteínas, la cantidad de hidratos de carbono de la mezcla de harinas después de la extrusión fue mayor que la de la mezcla en crudo. Este incremento en la cantidad de hidratos de carbono se debe a que, al trabajar con una humedad inferior al 20%, no se ha producido la gelatinización del almidón, proceso que requiere mayor cantidad de agua (47). Por otro lado, este aumento también podría deberse a una modificación estructural inducida por la ruptura de las células a lo largo del proceso de extrusión (48).

En cuanto al contenido en cenizas, la extrusión también produjo su reducción, respecto a la mezcla en crudo. Una pequeña parte de la pérdida puede explicarse por la volatilización y lixiviación de determinados elementos durante el proceso de extrusión. Este comportamiento también fue reportado por otros autores que vieron un descenso en cenizas tras la aplicación del proceso de extrusión en leguminosas (31).

5.2. Análisis de antioxidantes

Para analizar el contenido de antioxidantes se emplearon diferentes métodos: contenido en polifenoles totales y métodos ORAC, TEAC (o ABTS) y DPPH. La Tabla 5 muestra los valores de la capacidad antioxidante de la mezcla evaluada en crudo y después de la extrusión con todos los métodos:

Capacidad antioxidante Métodos	Antes de la extrusión Media (DE)	Después de la extrusión Media (DE)
Fenoles totales (mg GAE/100 g)	58,14 (0,51)	92,26 (1,25)*
ORAC ($\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g}$)	798,7 (198,5)	1694,7 (202,8)*
TEAC (ABTS) ($\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g}$)	1018,2 (52,7)	3504,2 (365,8)*
DPPH ($\mu\text{mol eq. Trolox}/100\text{ g}$)	458,4 (50,4)	601,0 (46,5)*

* $p < 0,05$ producto extruido frente a producto en crudo.

Tabla 5. Capacidad antioxidante de la mezcla de harina de lenteja y harina de maíz antes y después del proceso de extrusión evaluada por diferentes métodos.

La capacidad antioxidante de la mezcla analizada fue mayor de forma estadísticamente significativa después de la extrusión, resultado que se obtuvo con todos los métodos de análisis empleados. Algunos autores han documentado una reducción en la cantidad de compuestos antioxidantes (vitamina E) con la extrusión en harina de lentejas, aunque también indicaron que la capacidad antioxidante total aumentó o no se modificó (34). Este aumento de compuestos antioxidantes podría explicarse por la variación en la cuantificación y el método de extracción de los compuestos fenólicos (54). Otros estudios (55,56) han reportado que, tras la extrusión, los fenoles presentes en las muestras aumentan, debido posiblemente a una degradación de los aminoácidos de las proteínas. También, teniendo en cuenta la reacción de Maillard que se produce durante el proceso de extrusión, esta reacción provoca un aumento en la actividad antioxidante. Esto es debido a que la reacción de Maillard puede incrementar la formación de elementos con capacidad antioxidante, como las melanoidinas (57).

5.3. Análisis de almidón

Los resultados del análisis del almidón se recogen en la Tabla 6. El proceso de extrusión aumentó, en porcentaje, el contenido en este nutriente.

Variable	Antes de la extrusión Media (DE)	Después de la extrusión Media (DE)
Almidón (%)	42,90 (1,04)	69,03 (5,86)

Tabla 6. Contenido de almidón de la mezcla de harina de lenteja y harina de maíz antes y después del proceso de extrusión.

El almidón es uno de los componentes de los cereales a los que más afecta el proceso de extrusión. Esta técnica provoca la gelatinización del almidón (58), lo que favorece la expansión del producto, puesto que aporta mayor capacidad de retención de aire en la masa que está siendo extruida (59). Además, los componentes que forman el almidón, la amilosa y la amilopectina, durante la extrusión son hidrolizados a maltodextrinas. Estos cambios pueden hacer que el contenido en almidón disminuya con la extrusión (58). Sin embargo, en el presente trabajo el porcentaje de almidón aumentó con el procesamiento. Esto podría deberse a la formación de complejos almidón-proteína y amilosa-lípido, compuestos que reducen la expansión del producto, y que inhiben la digestión del almidón (60, 61). Además, al presentar la muestra cantidad de humedad inferior al 20%, no se favorece la gelatinización y consecuente pérdida del almidón (47).

5.4. Análisis de índice glucémico

Por último, la Tabla 7 resume el resultado del índice glucémico (IG) en la muestra antes y después de su procesado.

Variable	Antes de la extrusión Media (DE)	Después de la extrusión Media (DE)
Índice glucémico	81,09	89,90

Tabla 7. Índice glucémico de la mezcla de harina de lenteja y harina de maíz antes y después de la cocción por extrusión.

El proceso de extrusión provocó un aumento del IG de la mezcla de harina, de forma que la harina extrusionada presenta un IG alto. Algunos estudios realizados con amaranto (62,63) evidenciaron que los productos extruidos tenían un índice glucémico inferior a otros métodos de cocción distintos a la extrusión. El aumento del índice glucémico en el presente trabajo pudo estar determinado por la reducida cantidad de humedad que presentó la muestra, lo que provoca que el índice glucémico aumente. Como ya se ha comentado, la baja cantidad de humedad pudo provocar que la gelatinización del almidón fuera menor (lo que ha sido confirmado por los resultados), de forma que el índice glucémico aumente (64). Diversos trabajos apoyan esta afirmación, como el de Reyes-Pérez y colaboradores, en el que demostraron que, cuanto mayor sea el porcentaje de humedad, más se reduce el valor del índice glucémico durante la extrusión (65).

La situación sanitaria derivada de la pandemia de la COVID-19 imposibilitó realizar el análisis sensorial del producto final, por lo que se desconocen las características sensoriales del *snack*, tan importantes para la aceptabilidad del consumidor.

A la luz de los resultados obtenidos, por tanto, puede considerarse que el *snack* diseñado en el presente trabajo, obtenido a partir de una mezcla de harina de lenteja y harina de maíz y sometido a un proceso de extrusión a 130 °C y una presión estable de 180-200 bar, es adecuado para la población con enfermedad celiaca o alguna intolerancia al gluten. Por un lado, obviamente, por la ausencia de gluten en el producto. Por otro, por su composición nutricional, ya que presenta un reducido contenido en grasas que, además, son insaturadas, un elevado aporte de proteínas y carbohidratos, y un adecuado aporte de antioxidantes; además, el *snack* no contiene azúcares ni sal añadidos. Aunque el índice glucémico puede considerarse alto, hay que tener en cuenta que se trata de un *snack* y, por tanto, que es un alimento de consumo ocasional, con el que se pretende aumentar la variedad de alimentos de la dieta de personas con alguna intolerancia al gluten de forma más saludable.

6. CONCLUSIONES

1. Se ha obtenido una harina idónea para la formulación de un *snack* sin gluten especialmente adecuado para la población con enfermedad celiaca o alguna intolerancia al gluten a partir de una mezcla de harina de lenteja y harina de maíz al 50% y un proceso de extrusión a 130 °C y 180-200 bar de presión.
2. La composición nutricional de la harina favorece su inclusión como parte de una dieta saludable, ya que presenta un reducido contenido en grasas y una cantidad adecuada de proteínas y carbohidratos; además, no contiene azúcares ni sal añadidos.
3. El proceso de extrusión sobre la harina produjo un aumento estadísticamente significativo de la capacidad antioxidante del producto final.
4. La extrusión contribuye a la conservación del producto final, al reducir significativamente su porcentaje de humedad, lo que aumenta su vida útil.
5. La reducida humedad de la mezcla de harinas empleadas para la obtención del producto final reduce la gelatinización del almidón durante la extrusión.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, et al. Pautas de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátricas para el Diagnóstico de Enfermedad Celíaca. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012; 54(1): 136-60.
2. Ortiz C, Valenzuela R, Lucero Y. Enfermedad celíaca, sensibilidad no celíaca al gluten y alergia al trigo: comparación de patologías diferentes gatilladas por un mismo alimento. *Rev Chil Pediatr.* 2017; 88(3):417-423.
3. Calderón de la Barca AM, Cabrera-Chávez F. No solo el gluten, sino otras proteínas de los alimentos, podrían afectar a algunos enfermos celíacos. En: Rodrigo L y Peña AS, editores. *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca.* Barcelona: Omnia Science; 2013. p.89-101.
4. Meeuwisse GW. Diagnostic criteria in celiac disease. *Acta Paediatr Scand.* 1970; 59:136-60.
5. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK. Revised criteria for diagnosis of celiac disease. Report of working group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child.* 1990; 65:909-11.
6. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Philips A, Shamir R, et al. ESPGHAN Working Group on Celiac Disease Diagnosis, on behalf of the ESPGHAN Gastroenterology Committee. European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition guidelines for the diagnosis for celiac disease in children and adolescents. An evidence based approach. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012; 54:136-60.
7. Werkstetter KJ, Korponay-Szabó IR, Popp A, Villanacci V, Salemme M, Heilig G, et al. ProCeDE study group. Accuracy in diagnosis of celiac disease without biopsies in clinical practice. *Gastroenterology.* 2017; 153:924-35.
8. Wolf J, Petroff D, Richter T, Auth MKH, Uhlig HH, Laass MW, et al. Validation of antibody-based strategies for diagnosis of pediatric celiac disease without biopsy. *Gastroenterology.* 2017; 159:217-23.
9. Husby S, Koletzko S, Korponay Szabo I, Kurppa K, Mearin ML, Ribes-Koninckx C, et al. European Society Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for Diagnostic Celiac Disease 2020. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020; 70:141-56.
10. Román Riechmann E, Castillejo de Villasante G, Cilleruelo Pascual ML, Donat Aliaga E, Polanco Allué I, Sánchez-Valverde F, Ribes Koninckx C. Aplicación racional de los nuevos criterios de la European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) 2020 para el diagnóstico de la enfermedad celíaca. *An Pediatr (Barc).* 2020; 92(2):110e1-110e9.
11. Sapone A, Lammers KM, Mazzarella G, Mikhailenko I, Carteni M, Casolaro V, Fasano A. Expresión diferencial de IL-17 de la mucosa en dos trastornos inducidos por gliadina: sensibilidad al gluten y la enteropatía autoinmune Enfermedad celíaca. *Int Arch Allergy Immunol* 2010; 152:75-80.

12. Navarro E, Araya M. Sensibilidad no celíaca al gluten: una patología más que responde al gluten. *Rev Med Chile*. 2015; 143(5):619-626.
13. Fueyo-Díaz R, Magallón-Botaya R, Masluk B, Palacios-Navarro G, Asensio-Martínez A, Gascón-Santos S, Oliván-Blázquez B, Sebastián-Domingo JJ. Prevalence of celiac disease in primary care: the need for its own code. *BMC Health Serv Res*. 2019; 19(1):578.
14. Estévez V, Araya M. La dieta sin gluten y los alimentos libres de gluten. *Rev Chil Nutr*. 2016; 43(4):428-433.
15. Bellanco Sevilla A, Arranz Sanz E. Efectos adversos asociados a la dieta sin gluten. Una revisión sistemática. [Trabajo de fin de grado]. Grado en Nutrición Humana y Dietética. Universidad de Valladolid. 2019.
16. Vicente Pascual, L. Evaluación de la capacidad antioxidante y su relación con la composición fenólica en lentejas. [Trabajo de fin de grado]. Salamanca: Grado en Ingeniería Agroalimentaria, Universidad de Salamanca; 2017.
17. Granito M, Ascanio V. Desarrollo y transferencia tecnológica de pastas funcionales extendidas con leguminosas. *ALAN*. 2009; 59(1):71-77.
18. Gil Hernández A, Artacho Martín-Lagos R, Ruíz Lopez MD. Legumbres. En: Ángel Gil Hernández, editor. *Tratado de Nutrición, composición y calidad nutritiva de los alimentos, Vol III*. Madrid: Editorial médica Panamericana. 2017; p.156-170.
19. Tsuda T, Watanabe M, Ohshima K, Norinobu S, Choi SW, Kawakishi S, Osawa T. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3O-beta-D-Glucoside and Cyanidin. *J Agric Food Chem*. 1994. 42(11):2407-2410.
20. Takahata Y, Ohnishi-Kameyana M, Furuta S, Takahasi M, Suda I. Highly polymerized procyanidins in brown soybean seed coat with a high radical-scavenging activity. *J Agric Food Chem*. 2001; 49:5843-5847.
21. Cardador-Martínez A, Loarca-Piña G, Dave Oomah B. Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L). *J Agric Food Chem*. 2002; 50(24):6975-6980.
22. Dueñas M, Hernández T, Estrella I. Phenolic composition of the cotyledon and the seed coat of lentils (*Lens culinaris* L.). *Eur Food Res Technol*. 2002; 215(6):478-483.
23. Troszynska A, Ciska E. Phenolic compounds of seed coats of white and coloured varieties of pea (*Pisum sativum* L.) and their total antioxidant activity. *Czech J Food Sci*. 2002; 20:15-22.
24. Amarowicz R, Karamac M, Shahidic F. Antioxidant activity of phenolic fractions of lentil (*Lens culinaris*). *J Food Lipids*. 2003; 10(1):1-10.
25. Beninger CW, Hosfield GL. Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolous vulgaris* L. Seed coat color genotypes. *J Agric Food Chem*. 2003; 51(27):7879-7883.
26. Aguilera Y, Dueñas M, Estrella I, Hernández T, Benítez V, Esteban RM, Martín Cabrejas MA. Evaluation of phenolic profile and antioxidant properties of Pardina lentil as affected by industrial dehydration. *J Agric Food Chem*. 2010; 58(18):10101-10108.

27. Han H, Baik BK. Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum L.*), peas (*Pisum sativum L.*) and soybeans (*Glycine max*), and their quantitative changes during processing. *Int J Food Sci Technol.* 2008; 43(11):1971-1978.
28. Rodríguez Revoredo PG. Químicos naturales en alimentos vegetales que atentan contra la inocuidad alimentaria [Tesis doctoral]. Trujillo: Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Trujillo, Perú. 2017.
29. Arribas C, Pereira E, Barros L, Alves MJ, Calhella RC, Guillamón E, et al. Healthy novel gluten-free formulations based on beans, carob fruit and rice: Extrusion effect on organic acids, tocopherols, phenolic compounds and bioactivity. *Food Chem.* 2019; 292: 304-313.
30. Beltrán M y Marcilla A. Tecnología de los Polímeros. Alicante: Publicaciones Universidad de Alicante. 2011; pp: 79-124.
31. Blanco Espeso B. Estudio de la tecnología de extrusión para la valorización de subproductos vegetales y nuevas aplicaciones en leguminosas como ingredientes de productos para alimentación humana [Tesis doctoral]. Burgos: Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Burgos; 2017.
32. Maskan M, Altan A. Eds. *Advances in Food Extrusion Technology*. Boca Raton: CRC Press, 2012. <https://doi.org/10.1201/b11286>
33. Rokey G. Tecnología de la extrusión e implicaciones nutricionales. En: XI Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, 1995. Actas del Congreso.
34. Ciudad-Mulero M, Barros L, Fernandes A, Berrios JDJ, Cámara M, Morales P, Fernández-Ruiz V, Ferreira ICFR. Bioactive compounds and antioxidant capacity of extruded snack-type products developed from novel formulations of lentil and nutritional yeast flours. *Food Funct.* 2018; 9:819-829.
35. André C, Castanheira I, Cruz JM, Paseiro P, Sanches-silva A. Analytical strategies to evaluate antioxidants in food: a review. *Trends Food Sci Tech.* 2010; 21(5):229-246.
36. Gökmen V, Serpen A, Fogliano V. Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the "QUENCHER" approach. *Trends Food Sci Tech.* 2009; 20(6-7):278-288.
37. Serpen A, Gökmen V, Pellegrini N, Fogliano V. Direct measurement of the total antioxidant capacity of cereal products. *J Cereal Sci.* 2008; 48:816-820.
38. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and Validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem.* 2001; 49:4619-4626.
39. Zapata S, Piedrahita AM, Rojano B. Capacidad atrapadora de radicales de oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspect Nutr Hum.* 2014; 16(1):25-36.
40. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med.* 1999; 26:1231-1237.
41. Duffey Castillo ZP, Alcivar León C. Evaluación de la Capacidad Antioxidante por el Método DPPH de Nuevas Cromonas Haloalquil Sustituidas [Trabajo de fin

de grado]. Quito: Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias, Universidad Tecnológica Equinoccial; 2018.

42. Granfeldt Y, Björck I, Drews A, Tovar J. An in vitro procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products. *Eur J Clin Nutr.* 1992; 46:469-660.

43. Ferre Rovira MM, Latorre Fernández I. Abriendo puertas: conociendo a un celiaco. *Index Enferm.* 2010; 19(4): 264-268.

44. Holmes GKT, Prior P, Lane MR, Pope D, Allan RN. Malignancy in celiac disease-effect of a gluten free diet. *Gut.* 1989; 30: 333-338.

45. Cruchet MS, Verbeke PS. Dieta libre de gluten y disminución del riesgo de asociación de enfermedades autoinmunes en el paciente celiaco. *Rev Chil Nutr.* 2003; 30(2):102-105.

46. Pérez-Navarrete C, Betancur-Ancona D, Casotto M, Carmona A, Tovar J. Efecto de la extrusión sobre la biodisponibilidad de proteína y almidón en mezclas de harinas de maíz y frijol lima. *Arch Latinoam Nutr.* 2007; 57(3).

47. Carvajal Basantes SP, Manosalvas L. Efecto de los parámetros de extrusión sobre la calidad nutricional y textura de la mezcla de maíz (*Zea mays*), fréjol (*Phaseolus vulgaris*) y camote (*Ipomoea batata*) en el snack [Tesis previa a la obtención del título de ingeniería agroindustrial]. Ibarra, Ecuador: Facultad de ingeniería en ciencia agropecuarias y ambientales. Universidad Técnica del Norte; 2018.

48. Arribas C, Cabellos B, Sánchez C, Cuadrado C, Guillamón E, Pedrosa MM. Impact of extrusion on nutritional composition, dietary fiber and in vitro digestibility of gluten-free snacks based on rice, pea and carob flours blends. *Food Func.* 2017; 8(10):3654-3663.

49. Björck I, Asp NG. The effects of extrusion cooking on nutritional value – a literatura review. *J Food Eng.* 1983; 2:281-308.

50. De la Gueriviere JF, Mercier C, Baudet L. Incidences de la cuisson-extrusion sur certains parametres nutritionnels de produits alimentaires notammentcéréaliers. *Cah Nutr Diet.* 1985; 20(3):201-210.

51. Walker AF. The estimation of protein quality. In: *Development of Food Protein*, 2ª ed. B.J.F. Hudson (Ed.). New York: App. Sci. 1983; pp: 293-323.

52. Llopart EE. Efectos de las condiciones de extrusión en las propiedades fisicoquímicas y funcionales de productos extruidos de sorgo integral de bajo contenido de taninos [Tesis doctoral]. Santa Fe: Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral, Argentina. 2012.

53. Flores Nogales JD. Efecto de los parámetros de extrusión sobre la calidad nutricional y de textura en la mezcla de maíz (*Zea mays*), chocho (*Lupinus mutabilis*) y zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*) en el snack. [Trabajo de fin de grado]. Ibarra: Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Universidad Técnica del Norte, Ecuador. 2019.

54. Riaz MN, Rokey GJ. *Extrusion Problems Solved: Food, Pet Food and Feed*. Woodhead Publishing. 2012.

55. Cerón-Fernández C, Guerra-Morcillo L, Legarda-Quintero J, Enriquez-Collazos M, Pismag-Portilla Y. Effect of extrusion on the physicochemical characteristics of quinoa flour (*Chenopodium quinoa* Wild). Rev Bio Agro. 2016; 14(2):92-99.
56. Taimal Quelal RM. Efecto de los parámetros de extrusión sobre la calidad nutricional y textura en la mezcla de maíz (*Zea mays*), chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) y papa (*Solanum tuberosum*) en el snack [Tesis doctoral]. Ibarra: Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Universidad Técnica del Norte, Ecuador. 2020.
57. Bustamante SZ, Tenorio AT, Rojano BA. Efecto del tostado sobre los metabolitos secundarios y la actividad antioxidante de clones de cacao colombiano. Rev Fac Nac Agronomía-Medellín. 2015; 68(1):7497-7507.
58. Altan A, Maskan M. Advances in Food Extrusion Technology. CRC Press Inc. 2012.
59. Moscicki L, van Zuilichem DJ. Extrusion-cooking and related technique. In: Leszek Moscicki (Ed.). Extrusion-cooking techniques: Applications, Theory and Sustainability. Weinheim: Wiley. 2011; pp: 1-24.
60. Córdova-Ramos JS, Glorio-Paulet P, Hidalgo A, Camarena F. Efecto del proceso tecnológico sobre la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales del lupino (*Lupinus mutabilis* Sweet) andino. Scien Agropec. 2020; 11(2):157-165.
61. Steel CJ, Leoro MG, Schmiele M, Ferreira RE, Chang YK. Thermoplastic extrusion in food processing. In: A. El-Sonbati (Ed.). Thermoplastic elastomers. Croatia: In Tech. 2012; pp: 265-290.
62. Capriles VD, Coelho KD, Guerra-Matias AC, Arêas JAG. Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. J Food Sci. 2008; 73(7):H160-H164.
63. Almirudis Echeverria SJ. Efecto de la humedad de alimentación y la temperatura de extrusión sobre la capacidad antioxidante y calidad nutricional in-vivo en Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) [Tesis doctoral]. Sonora: Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora, México. 2018.
64. Castro Mendoza MP. Evaluación fisicoquímica y nutricional de un extruido tipo cereal para desayuno a base de harina de *Oxalis tuberosa* adicionado con fibra. [Trabajo de fin de grado]. Hidalgo: Instituto de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. 2018.
65. Reyes-Pérez F, Salazar-García MG, Romero-Baranzini AL, Islas-Rubio AR, Ramírez-Wong B. Estimated glycemic index and dietary fiber content of cookies elaborated with extruded wheat bran. Plant Foods Hum Nutr. 2013; 68(1):52-56.

8. ANEXOS

Anexo 1: Características de trabajo del extrusor durante el procesamiento de la mezcla de harina de lentejas y harina de maíz.

Nº de mezcla	Hora (min)	Velocidad alimentador	RPM	Tª 1 (°C)	Tª 2 (°C)	Tª 3 (°C)	Tª 4 (°C)	Tª masa (°C)	Presión (bar)
1	0:00	10	50	30	30	50	80	80	
1	1.20	10	80	30	30	50	80	80	
1	5.30	15	120	30	30	50	80	80	
1	7.00	15	120	30	30	60	90	90	
1	8.15	15	140	30	30	60	90	90	
1	9.00	20	140	30	30	60	90	90	
2	10.00	20	140	30	30	70	100	100	
2	11.30	20	140	30	30	70	110	110	
2	15.30	25	140	30	30	70	110	110	
2	16.20	25	150	30	30	70	110	110	
2	17.10	25	150	30	30	70	120	120	200
2	19.20	25	150	30	30	70	130	130	
2	23.30	25	150	30	30	75	135	135	180
3	25.20	25	150	30	30	75	135	135	
3	29.15	20	150	30	30	75	135	135	