

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE FARMACIA**



**TESIS DOCTORAL**

**Harinas como fuente de compuestos bioactivos: tradición e innovación**

**Flours as source of bioactive compounds: tradition and innovation**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**María Ciudad Mulero**

Directores

**Virginia Fernández Ruiz**  
**Patricia Morales Gómez**

Madrid

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE FARMACIA**

Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos



**TESIS DOCTORAL**

**HARINAS COMO FUENTE DE COMPUESTOS BIOACTIVOS.**

**TRADICIÓN E INNOVACIÓN**

**FLOURS AS A SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS.**

**TRADITION AND INNOVATION**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**María Ciudad Mulero**

Directores

**Prof. Dra. Virginia Fernández Ruiz**

**Prof. Dra. Patricia Morales Gómez**

Madrid, 2020

*A mis padres, a mis hermanas, a Raúl*



*Aprende de los audaces, de los fuertes, de quien no acepta situaciones, de quien vivirá a pesar de todo (Pablo Neruda).*

## AGRADECIMIENTOS

Recoger en estas páginas unas palabras que resuman el cariño recibido a lo largo de estos años tal vez sea tan complicado como la propia Tesis Doctoral.

En primer lugar, me gustaría transmitir mi más profundo agradecimiento a mis directoras, la Dra. Virginia Fernández Ruiz y la Dra. Patricia Morales Gómez, por haber confiado en mí, ofreciéndome su tiempo, su esfuerzo y su dedicación. Sin duda alguna, ha sido una suerte tenerlas a mi lado en este camino, transmitiéndome sus conocimientos y su apoyo incondicional. No puedo olvidarme de mi tutora, la Dra. M<sup>a</sup> Cruz Matallana, quien me ha dado grandes consejos y una ayuda inestimable.

Quiero agradecer al Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos, de la Facultad de Farmacia y, en especial, a los profesores de la Unidad Docente de Bromatología, el cariñoso trato que me han dado durante estos años. Quiero mostrar mi agradecimiento a la Dra. Montaña Cámara por el apoyo que siempre me ha ofrecido. ¡Es un placer trabajar en su grupo de investigación!

De igual manera, agradecer a la Dra. M<sup>a</sup> Dolores Tenorio, la Dra. Esperanza Torija y la Dra. Ana M<sup>a</sup> López Sobaler, quiénes han sido directoras del Departamento durante mis años de doctorado.

Deseo mostrar todo el cariño y el agradecimiento a mis compañeros en este camino (José Ignacio, Fátima, Laura Domínguez, Laura Cebadera, Rocío, Rebeca, Mario, Katrin, Erika), dedicando unas palabras especiales a Fátima y a Laura Domínguez, por haber sido mis confidentes y un apoyo fundamental en el camino. Gracias por vuestras palabras de ánimo cuando más las he necesitado.

Tampoco puedo olvidarme de los técnicos de laboratorio, Javier, Ana y, en especial, Pablo, por su ayuda fundamental y sus consejos tan valiosos.

Quiero agradecer, de todo corazón, a la Dra. Isabel C.F.R. Ferreira y a la Dra. Lillian Barros la oportunidad que me brindaron para realizar una estancia internacional de investigación predoctoral en el Centro de Investigación de Montaña (CIMO), Escuela Superior Agraria del Instituto Politécnico de Bragança (IPB). Allí me encontré con compañeros maravillosos que hacen que recuerde esta etapa con una sonrisa.

## Agradecimientos

Igualmente, deseo transmitir mi agradecimiento a la Dra. Mercedes Martín Pedrosa por acogerme en el Departamento de Tecnología de Alimentos del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Gracias también a la Dra. Carmen Cuadrado, a Blanca y a Claudia por estar siempre dispuestas a echarme una mano.

Los amigos han sido fundamentales durante toda mi vida y no puedo dejar pasar la oportunidad de agradecer a Claudia, Elena, Mercedes, Javier, Marcelo, Fran y Gabo el haber estado siempre a mi lado, transmitiéndome su confianza y su apoyo incondicional. La verdad, 26 años a vuestro lado son muy pocos y espero caminar junto a vosotros toda la vida. Tampoco me quiero olvidar de Montserrat, Amalia y Lourdes, porque aunque no podamos vernos todo lo que nos gustaría, nunca me habéis fallado. Extiendo mis agradecimientos a todos mis amigos de Acebedo y de la Montaña y, en especial, a Sarai y a Néstor por estar siempre a mi disposición ayudándome en todo cuanto les he necesitado.

Las últimas palabras quisiera dedicárselas al pilar fundamental de mi vida, a mi FAMILIA. A mis padres por su confianza y su cariño y, en especial a mi madre, por haber estado siempre a mi lado, ayudándome incansablemente a sacar adelante cada uno de mis propósitos. Gracias mamá, por sostenerme cada vez que he tropezado con las piedras del camino, por consolarme cuando las cosas no salían como esperaba y por ayudarme a ver la claridad cuando mi frustración lo volvía todo negro. Todos mis éxitos son tuyos, mamá. Gracias a mis hermanas Isabel y Carmen, porque las tres somos un equipo extraordinario y a vuestro lado todo es más fácil y más bonito. Gracias también a mi abuela Carmen, a mis tíos y a mi prima Ali por haberme acompañado en este recorrido. Gracias a mi sobrina Ana y a mi futuro sobrino Alonso, que si Dios quiere ya habrá nacido cuando defienda esta Tesis, por ser la esperanza y la alegría de todos. No me puedo olvidar de dos personas que ya no están con nosotros pero que han sido fundamentales en mi vida. La primera de ellas es la abuelita Alicia, quien hubiera disfrutado mucho viéndome llegar a la meta. A ella le agradezco el cariño infinito que me dio y en mi corazón guardo cada uno de sus consejos. La segunda es mi Tío Tomás, el primer Doctor de mi familia. Para mí es un orgullo poder seguir tímidamente sus pasos y le agradezco su humildad a la hora de transmitirme sus conocimientos. Por último, deseo agradecer de todo corazón a Raúl su paciencia, su cariño y sus palabras de apoyo. Gracias por ser mi refugio de paz durante estos años y por ayudarme a conseguir este propósito, animándome cuando más lo necesitaba. Gracias por hacer que todo sea más fácil y por compartir la vida conmigo.

**Abreviaturas y acrónimos**

<b>a*</b>	Greenness-redness
<b>A·</b>	Antioxidante oxidado
<b>AACC</b>	American Association of Cereal Chemists
<b>ACP</b>	Análisis de componentes principales
<b>ACR</b>	Actividad captadora de radicales
<b>AD</b>	Anno Domini
<b>AGMI</b>	Ácidos grasos monoinsaturados
<b>AGPI</b>	Ácidos grasos poliinsaturados
<b>AGS</b>	Ácidos grasos saturados
<b>AH</b>	Antioxidante
<b>AHC</b>	Agglomerative Hierarchical Clustering
<b>AIT</b>	Actividad de los inhibidores de tripsina
<b>ANOVA</b>	Analysis of variance
<b>AOAC</b>	Association of Official Agricultural Chemists
<b>APT</b>	Análisis del perfil de textura
<b>AX</b>	Arabinoxylans
<b>AXOS</b>	Arabinoxylan oligosaccharides
<b>b*</b>	Blueness-yellowness
<b>BAPNA</b>	$\alpha$ -N-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida
<b>BC</b>	Before Christ
<b>BG</b>	$\beta$ -glucans
<b>BHT</b>	Butilhidroxitolueno
<b>CG</b>	Cromatografía de gases
<b>CIE</b>	Comisión Internacional de Iluminación
<b>CIMO</b>	Centro de Investigación de Montaña
<b>DBB</b>	Departamento de Biología y Biotecnología
<b>DF</b>	Dietary fiber
<b>DIF</b>	Detector de ionización de llama

<b>DPPH</b>	Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
<b>E.T.S.I.A.A.B.</b>	Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas
<b>EAA</b>	Espectroscopía de absorción atómica
<b>EC<sub>50</sub></b>	Concentración inhibitoria 50
<b>EFSA</b>	European Food Safety Authority
<b>ELISA</b>	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>ESI</b>	Electron spray ionization
<b>FI</b>	Fibra insoluble
<b>FOS</b>	Fructo-oligosaccharides
<b>FS</b>	Fibra soluble
<b>FUFOSE</b>	Functional Food Science in Europe
<b>GAE</b>	Gallic acid equivalents
<b>GOS</b>	Galacto-oligosaccharides
<b>HDL cholesterol</b>	High-density lipoprotein
<b>HMG-CoA reductase</b>	3-hydroxy-3-methyl glutaryl-coenzyme A reductase
<b>HPLC</b>	High performance liquid chromatography
<b>HPMC</b>	Hydroxypropyl methylcellulose
<b>HU</b>	Unidad de hemaglutinación
<b>I.D. <math>\beta</math>-carot</b>	Inhibición de la decoloración del $\beta$ -caroteno
<b>IDF</b>	Insoluble dietary fiber
<b>IDR</b>	Ingesta Diaria Recomendada
<b>IL-10</b>	Interleukin 10
<b>IL-12</b>	Interleukin 12
<b>IL-6</b>	Interleukin 6
<b>IL-8</b>	Interleukin 8
<b>INIA</b>	Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria
<b>IP</b>	Inositol fosfatos
<b>IP4</b>	Inositol tetrafosfato

<b>IP5</b>	Inositol pentafosfato
<b>IP6</b>	Inositol hexafosfato
<b>IPB</b>	Instituto Politécnico de Bragança
<b>L*</b>	Lightness
<b>LCA</b>	Lectina de lenteja purificada
<b>LDL cholesterol</b>	Low-density lipoprotein
<b>MS</b>	Mass spectrometry
<b>nd</b>	Non-detected
<b>NK</b>	Natural killer
<b>NSP</b>	Non-starch polysaccharides
<b>ORAC</b>	Oxygen Radical Absorbance Capacity
<b>PBS</b>	Tampón fosfato salino
<b>PDA</b>	Photo-diode array detector
<b>RDI</b>	Recommended Dietary Intake
<b>ROO·</b>	Hidroperóxidos
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>SCFA</b>	Short chain fatty acids
<b>SD</b>	Standard deviation
<b>SDF</b>	Soluble dietary fiber
<b>ssf</b>	Sobre sustancia fresca
<b>sss</b>	Sobre sustancia seca
<b>t<sub>0</sub></b>	Tiempo cero
<b>t<sub>120</sub></b>	Tiempo 120 minutos
<b>TBNOH</b>	Hidróxido de tetrabutilamonio
<b>TDF</b>	Total dietary fiber
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tumor necrosis factor
<b>TO-AX</b>	Total arabinoxylans
<b>UIT</b>	Unidad inhibidora de tripsina
<b>USDA</b>	United States Department of Agriculture

## Abreviaturas y acrónimos

<b>UV</b>	Ultraviolet
<b>VIS</b>	Visible
<b>VRN</b>	Valor de referencia de nutrientes
<b>WEAX</b>	Water extractable arabinoxylans
<b>WF</b>	White flour
<b>WGF</b>	Wholegrain flour
<b>WUAX</b>	Water unextractable arabinoxylans
<b>XOS</b>	Xylo-oligosaccharides

**ÍNDICES**

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>4</b>
<b>1. INTRODUCTION</b>	<b>7</b>
1.1. CEREALS AND LEGUMES IN THE MEDITERRANEAN DIET	8
1.1.1. Cereals	10
1.1.2. Pulses	12
1.1.3. Cereal and pulses flours	14
1.1.3.1. Milling process	14
1.1.3.2. Definition of flours	16
1.2. BIOACTIVE COMPOUNDS IN CEREALS AND PULSES AND THEIR RELATION TO HUMAN HEALTH	22
1.2.1. Dietary fiber in cereals and pulses	22
1.2.1.1. Insoluble dietary fiber (IDF)	23
1.2.1.2. Soluble dietary fiber (SDF)	27
1.2.1.3. Functional dietary fiber effect and it relation to human health	35
1.2.2. Tocopherols in cereals and pulses	44
1.2.2.1. Tocopherols relation to human health	48
1.2.3. Phenolic compounds in cereals and pulses	49
1.2.3.1 Phenolic acids and it relation to human health	51
1.2.3.2. Flavonoids and it relation to human health	52
1.2.3.3. Tannins and it relation to human health	53
1.3. STRATEGIES FOR IMPROVING THE NUTRITIONAL PROFILE AND BIOACTIVE COMPOUNDS OF FLOURS	54
1.3.1. Traditional genetic improvement	54

1.3.2. Technological processes: Extrusion process	57
<b>2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO</b>	<b>62</b>
2.1. OBJETIVOS	63
2.2. PLAN DE TRABAJO	65
2.2.1. Plan de trabajo relativo al estudio de harinas de trigo	65
2.2.2. Plan de trabajo relativo al estudio de harinas de lenteja	66
2.2.3. Análisis sensorial de productos alimenticios elaborados de harinas de cereales y de harinas de legumbres	67
<b>3. ESTUDIO DE HARINAS DE CEREALES</b>	<b>69</b>
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	70
3.2. MATERIALES	71
3.3. METODOLOGÍA ANALÍTICA	76
3.3.1. Determinación del contenido de fibra: insoluble, soluble y total	76
3.3.2. Determinación del contenido de arabinoxilanos	79
3.3.3. Determinación del contenido de tocoferoles	81
3.3.4. Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales	84
3.3.5. Determinación del contenido de cenizas y minerales	86
3.3.6. Evaluación de la actividad antioxidante	88
3.3.7. Análisis estadístico	94
3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE HARINAS DE CEREALES	96
3.4.1. <b>Artículo 1:</b> Contenido de fibra, arabinoxilanos, tocoferoles, compuestos fenólicos totales y evaluación de la actividad antioxidante en las muestras objeto de estudio	97
3.4.2. Contenido de cenizas y minerales en las harinas de trigo objeto de estudio	99
3.5. DISCUSIÓN INTEGRADORA DE HARINAS DE CEREALES	102

3.5.1. Estudio del contenido de fibra y arabinoxilanos	102
3.5.2. Estudio del contenido de tocoferoles	111
3.5.3. Estudio del contenido de fenoles totales	116
3.5.4. Estudio del contenido de cenizas y minerales	119
3.5.5. Evaluación de la actividad antioxidante	128
<b>4. ESTUDIO DE HARINAS DE LEGUMBRES</b>	<b>132</b>
4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	133
4.2. MATERIALES	134
4.3. METODOLOGÍA ANALÍTICA	137
4.3.1. Determinación del contenido de fibra: insoluble, soluble y total	137
4.3.2. Determinación del contenido de arabinoxilanos	137
4.3.3. Determinación del contenido de azúcares solubles y $\alpha$ -galactósidos	137
4.3.4. Determinación del contenido de tocoferoles	140
4.3.5. Determinación de los compuestos fenólicos individuales	140
4.3.6. Determinación del contenido de inositol fosfatos	141
4.3.7. Determinación del contenido de inhibidores de tripsina	143
4.3.8. Determinación del contenido de lectinas	148
4.3.9. Evaluación de la actividad antioxidante	149
4.3.10. Análisis estadístico	149
4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE HARINAS DE LEGUMBRES	150
4.4.1. <b>Artículo 2:</b> Contenido de fibra, arabinoxilanos, tocoferoles, compuestos fenólicos individuales y evaluación de la actividad antioxidante en las muestras objeto de estudio	151
4.4.2. <b>Artículo 3:</b> Contenido de azúcares solubles, $\alpha$ -galactósidos, inositol fosfatos, inhibidores de tripsina y lectinas en las muestras objeto de estudio	153

4.5. DISCUSIÓN INTEGRADORA DE HARINAS DE LEGUMBRES	155
4.5.1. Estudio del contenido de fibra, arabinoxilanos, azúcares solubles y oligosacáridos	155
4.5.2. Estudio del contenido de tocoferoles	166
4.5.3. Estudio del contenido de compuestos fenólicos (individuales y totales)	169
4.5.4. Estudio del contenido de inositol fosfatos	172
4.5.5. Estudio del contenido de inhibidores de tripsina	176
4.5.6. Estudio del contenido de lectinas	178
4.5.7. Evaluación de la actividad antioxidante	180
<b>5. ESTUDIO DE PRODUCTOS ELABORADOS A BASE DE HARINAS DE CEREALES Y DE HARINAS DE LEGUMBRES: PANES Y SNACKS</b>	<b>186</b>
5.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	187
5.2. MATERIAL Y MÉTODOS	188
5.2.1. MATERIAL Y MÉTODOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE PANES	188
5.2.1.1. Materiales: panes	188
5.2.1.2. Metodología analítica de la caracterización de panes	190
5.2.1.2.1. Determinación del contenido de humedad	190
5.2.1.2.2. Determinación del contenido de carbohidratos disponibles totales	190
5.2.1.2.3. Determinación del contenido de azúcares solubles	191
5.2.1.2.4. Determinación del contenido de fibra: insoluble, soluble y total	191
5.2.1.2.5. Determinación del contenido de proteínas	191
5.2.1.2.6. Determinación del contenido de grasa total	192
5.2.1.2.7. Determinación del contenido de ácidos grasos individuales: perfil lipídico	192
5.2.1.2.8. Determinación del contenido de cenizas y minerales	193

5.2.1.2.9. Determinación del valor calórico	194
5.2.1.2.10. Análisis de la textura	194
5.2.1.2.11. Análisis del color	194
5.2.1.2.12. Análisis estadístico	94
5.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS DEL ANÁLISIS SENSORIAL DE SNACKS DE LEGUMBRES	196
5.2.2.1. Materiales: snacks	196
5.2.2.2. Participantes	198
5.2.2.3. Metodología del estudio de consumidores	198
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO DE PRODUCTOS ELABORADOS A BASE DE HARINAS DE CEREALES Y DE HARINAS DE LEGUMBRES: PANES Y SNACKS	202
5.3.1. <b>Artículo 4.</b> Caracterización nutricional y sensorial de panes elaborados a base de harinas de cereales	203
5.3.2. Aceptación de nuevas formulaciones de snacks a base de harinas de legumbres por consumidores españoles	205
5.4. DISCUSIÓN INTEGRADORA DEL ESTUDIO DE PRODUCTOS ELABORADOS A BASE DE HARINAS DE CEREALES Y DE HARINAS DE LEGUMBRES: PANES Y SNACKS	208
5.4.1. Estudio de distintos tipos de pan elaborados a base de harinas de cereales	208
5.4.1.1. Estudio de la composición nutricional de los distintos panes analizados	208
5.4.1.2. Estudio de los atributos sensoriales de los distintos panes analizados	214
5.4.2. Estudio de la aceptación de nuevas formulaciones de snacks a base de harinas de legumbres	219

<b>6. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS</b>	<b>225</b>
6.1. CONCLUSIONES PARCIALES	226
6.2. CONCLUSIONES FINALES	229
6.3. PARTIAL CONCLUSIONS	230
6.4. FINAL CONCLUSIONS	233
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>234</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>1. INTRODUCTION</b>	<b>7</b>
<b>Table 1.</b> Significant changes referring to concepts relating to flours and other milling products. Comparison between Royal Decree 1286/1984 (repealed) and Royal Decree 677/2016 (in force)	16
<b>Table 2.</b> Dietary fiber (total, insoluble and soluble), $\beta$ -glucans and arabinoxylans content in cereals and pulses (g/100g edible portion)	32
<b>Table 3.</b> Approved health claims related to dietary fiber components (Regulation (EU) No 432/2012)	39
<b>Table 4.</b> Tocopherols content in cereals and pulses (mg/100 g, dry weight)	45
<b>Table 5.</b> Total phenolic content in cereals and pulses (mg/100 g, dry weight)	50
<b>2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO</b>	<b>62</b>
<b>3. ESTUDIO DE HARINAS DE CEREALES</b>	<b>69</b>
<b>Tabla 6.</b> Muestras de harina de trigo analizadas	71
<b>Tabla 7.</b> Condiciones del equipo de EAA para la determinación de los elementos minerales	87
<b>Tabla 8.</b> Contenido de cenizas (g/100 g, sss) y de elementos minerales (mg/100 g, sss) en distintas harinas de trigo duro y trigo blando (media $\pm$ SD)	100
<b>Tabla 9.</b> Contenido de fibra (insoluble, soluble y total) y arabinoxilanos (totales y solubles en agua) en harinas de trigo blanca, integral y en salvado recogidos en la literatura científica (sss)	105
<b>Tabla 10.</b> Contenido de fibra (insoluble, soluble y total) y arabinoxilanos totales en distintos cereales (valores expresados en g/100 g, sss)	107
<b>Tabla 11.</b> Contenido total de tocoferoles ( $\mu$ g/g, sss) en harinas de trigo duro y trigo blando de las 8 variedades distintas de trigo analizadas (media $\pm$ SD)	112
<b>Tabla 12.</b> Contenido de tocoferoles ( $\mu$ g/g sss) en distintos harinas de trigo blanca e integral presentes en la literatura científica	114

<b>Tabla 13.</b> Contenido de tocoferoles ( $\alpha$ -tocoferol, $\beta$ -tocoferol y tocoferoles totales) en distintos cereales (valores expresados en mg/100 g, sss)	115
<b>Tabla 14.</b> Contenido de fenoles totales (mg GAE/g extracto) en distintas harinas de trigo duro y trigo blando (media $\pm$ SD)	117
<b>Tabla 15.</b> Contenido de fenoles totales (mg GAE/g) en harinas de trigo blanca e integral encontrados en la literatura científica	118
<b>Tabla 16.</b> Contenido de fenoles totales en distintos cereales (valores expresados en mg/100 g, sss)	119
<b>Tabla 17.</b> Declaraciones de propiedades saludables relativas al contenido de elementos minerales aplicables a las distintas harinas de trigo analizadas, de acuerdo con el Reglamento (UE) N° 432/2012 y el Reglamento (CE) N° 1924/2006.	120
<b>Tabla 18.</b> Contenido de minerales en harinas de trigo blanca, integral y en salvado recogidos en la literatura científica (valores expresados en mg/100 g, sss)	125
<b>Tabla 19.</b> Contenido de minerales en distintos cereales (valores expresados en mg/100 g, sss)	127
<b>Tabla 20.</b> Actividad antioxidante (EC <sub>50</sub> , mg/mL extracto metanólico) en distintas harinas de trigo duro y trigo blando (media $\pm$ SD)	129
<b>4. ESTUDIO DE HARINAS DE LEGUMBRES</b>	<b>132</b>
<b>Tabla 21.</b> Descripción de las harinas de lentejas analizadas	135
<b>Tabla 22.</b> Volumen de extracto de cada una de las muestras de harinas de lenteja (crudas y extruidas), empleado en la valoración de la actividad de los inhibidores de tripsina	148
<b>Tabla 23.</b> Contenido de fibra (insoluble, soluble y total) y arabinoxilanos totales en distintas legumbres (valores expresados en g/100 g, sss)	157
<b>Tabla 24.</b> Contenido de oligosacáridos tipo $\alpha$ -galactósidos (rafinosa, estaquiosa y verbascosa) en distintas legumbres (valores expresados en g/100 g, sss)	164
<b>Tabla 25.</b> Contenido de tocoferoles ( $\alpha$ -tocoferol, $\gamma$ -tocoferol y tocoferoles totales) en distintas legumbres (valores expresados en mg/100 g, sss)	167

<b>Tabla 26.</b> Contenido total de compuestos fenólicos en distintas legumbres (valores expresados en mg/100 g, sss)	170
<b>Tabla 27.</b> Contenido de inositol fosfato individuales (IP4, IP5, IP6) y totales en distintas legumbres (valores expresados en mg/100 g, sss)	174
<b>Tabla 28.</b> Contenido de inhibidores de tripsina (UIT/mg) en distintas legumbres	176
<b>Tabla 29.</b> Contenido de lectinas en distintas legumbres (valores expresados en HU/kg)	180
<b>5. ESTUDIO DE PRODUCTOS ELABORADOS A BASE DE HARINAS DE CEREALES Y DE HARINAS DE LEGUMBRES: PANES Y SNACKS</b>	<b>184</b>
<b>Tabla 30.</b> Ingredientes y condiciones de fermentación para los distintos panes analizados	188
<b>Tabla 31.</b> Ingredientes de las formulaciones de snacks de legumbres	197
<b>Tabla 32.</b> Distribución por edad y sexo de los participantes (N = 81)	198
<b>Tabla 33</b> Puntuaciones de los snacks obtenidas mediante el empleo de la escala hedónica de 9 puntos	205
<b>Tabla 34.</b> Índices de calidad de la grasa de los panes analizados	210
<b>Tabla 35.</b> Declaraciones nutricionales autorizadas para cada uno de los panes autorizados (Reglamento (CE) N° 1924/2006; Reglamento (UE) N° 1169/2011)	213
<b>Tabla 36.</b> Perfil nutricional de las formulaciones de snacks de legumbres	221
<b>6. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS</b>	<b>225</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>234</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>1. INTRODUCTION</b>	<b>7</b>
<b>Figure 1.</b> The Mediterranean diet pyramid	9
<b>Figure 2.</b> Wheat grain morphology	11
<b>Figure 3.</b> Dietary fiber components	23
<b>Figure 4.</b> Chemical structure of cellulose	24
<b>Figure 5.</b> Chemical structure of galacto-oligosaccharides	27
<b>Figure 6.</b> Chemical structure of ferulated arabinoxylan	29
<b>Figure 7.</b> Chemical structure of $\beta$ -glucans	31
<b>Figure 8.</b> Chemical structure of tocopherols (a) and tocotrienols (b)	44
<b>Figure 9.</b> Basic structure of a single-screw extruder	58
<b>Figure 10.</b> Schematic representation of “Maillard reaction” and flavor formation in food	60
<b>2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO</b>	<b>62</b>
<b>Figura 11.</b> Determinaciones realizadas en las harinas de trigo (harina blanca, harina integral y fracción de salvado) objeto de estudio	65
<b>Figura 12.</b> Determinaciones realizadas en las distintas harinas de lenteja objeto de estudio	66
<b>Figura 13.</b> Aspecto de algunas de las muestras de pan analizadas	67
<b>Figura 14.</b> Muestras de snacks de legumbres analizados	68
<b>3. ESTUDIO DE HARINAS DE CEREALES</b>	<b>69</b>
<b>Figura 15.</b> Espigas de trigo duro ( <i>Triticum turgidum</i> ssp. <i>durum</i> L.)	72
<b>Figura 16.</b> Espigas de trigo blando ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	73

<b>Figura 17.</b> Harinas (blanca e integral) de trigo duro analizadas	74
<b>Figura 18.</b> Harinas (blanca e integral) de trigo blando analizadas	75
<b>Figura 19.</b> Curva patrón de D-(+)-xilosa	81
<b>Figura 20.</b> Cromatograma del patrón múltiple de tocoferoles	84
<b>Figura 21.</b> Curva patrón de ácido gálico	85
<b>Figura 22.</b> Mecanismo de reducción del radical DPPH en presencia de un antioxidante (AH)	89
<b>Figura 23.</b> Placa ensayo DPPH	89
<b>Figura 24.</b> Reacciones químicas del método del poder reductor	91
<b>Figura 25.</b> Placa ensayo poder reductor	92
<b>Figura 26.</b> Reacciones que tienen lugar durante la inhibición de la decoloración del $\beta$ -caroteno	93
<b>Figura 27.</b> Tubos con las diferentes decoloraciones obtenidas mediante el método de la inhibición de la decoloración del $\beta$ -caroteno	93
<b>Figure 28.</b> Graphical abstract article 1.	97
<b>Figura 29.</b> Contenido de $\alpha$ - y $\beta$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g}$ ) en harinas de trigo duro y trigo blando de las 8 variedades distintas de trigo analizadas. (WF: harina blanca; WGF: harina integral).	113
<b>Figura 30.</b> Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de actividad antioxidante DPPH, realizado en las muestras de harina blanca (WF) así como en las muestras de harina integral (WGF) objeto de estudio	129
<b>Figura 31.</b> Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de actividad antioxidante poder reductor, realizado en las muestras de harina blanca (WF) así como en las muestras de harina integral (WGF) objeto de estudio	130

<b>Figura 32.</b> Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de inhibición de la decoloración del $\beta$ -caroteno, realizado en las muestras de harina blanca (WF) así como en las muestras de harina integral (WGF) objeto de estudio	130
<b>Figura 33.</b> Análisis de Componentes Principales (ACP) de las muestras de harina de trigo analizadas	131
<b>4. ESTUDIO DE HARINAS DE LEGUMBRES</b>	<b>132</b>
<b>Figura 34.</b> Harinas de lenteja analizadas	136
<b>Figure 35.</b> Graphical abstract article 2.	151
<b>Figure 36.</b> Graphical abstract article 3.	153
<b>Figura 37.</b> Ejemplos de cromatogramas de la determinación de azúcares solubles y $\alpha$ -galactósidos, correspondiente a la muestras CF#1 (a) y E140#1 (b)	162
<b>Figura 38.</b> Ejemplos de cromatogramas de la determinación de inositol fosfatos, correspondiente a las muestras CF#1 (a) y E140#1 (b)	172
<b>Figura 39.</b> Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de actividad antioxidante DPPH, realizado en las muestras de harina de lenteja objeto de estudio	181
<b>Figura 40.</b> Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de actividad antioxidante poder reductor, realizado en las muestras de harina de lenteja objeto de estudio	182
<b>Figura 41.</b> Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de inhibición de la decoloración del $\beta$ -caroteno, realizado en las muestras de harina de lenteja objeto de estudio	182
<b>5. ESTUDIO DE PRODUCTOS ELABORADOS A BASE DE HARINAS DE CEREALES Y DE HARINAS DE LEGUMBRES: PANES Y SNACKS</b>	<b>184</b>
<b>Figura 42.</b> Amasado industrial (a) y manual (b) de los panes	189
<b>Figura 43.</b> Aspecto de uno de los panes tras el horneado	189
<b>Figura 44.</b> Formulaciones de snacks de lenteja	196
<b>Figura 45.</b> Formulaciones de snacks de garbanzo	196

<b>Figura 46.</b> Ejemplo de un puesto de cata de los snacks analizados	199
<b>Figura 47.</b> Escala hedónica de 9 puntos	200
<b>Figure 48.</b> Graphical abstract article 4	203
<b>Figura 49.</b> Análisis de componentes principales (ACP)	206
<b>Figura 50.</b> Perfil de las clases de consumidores	206
<b>Figura 51.</b> Rebanada central de uno de los panes analizados	215
<b>Figura 52.</b> Mapa de preferencias externo	224
<b>6. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS</b>	<b>225</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>234</b>

## RESUMEN

### “Harinas como fuente de compuestos bioactivos. Tradición e innovación”

Tanto los cereales como las legumbres son alimentos básicos en el patrón de la dieta mediterránea que se caracterizan por presentar interesantes cantidades de compuestos bioactivos. Estos alimentos han sido ampliamente utilizados desde la antigüedad y forman parte de numerosas elaboraciones culinarias tradicionales. Sin embargo, en la actualidad, la industria alimentaria está haciendo un gran esfuerzo por desarrollar productos alimenticios novedosos, muchos de los cuales están elaborados a base de harinas de cereales y legumbres.

El trabajo realizado en esta Tesis Doctoral se centra en la caracterización y evaluación del perfil de compuestos bioactivos, así como en el estudio de la actividad biológica en términos de actividad antioxidante en diferentes harinas (de trigo y de lenteja) que podrían utilizarse como ingredientes para la elaboración de productos alimenticios con propiedades funcionales añadidas. Además, se evaluaron aspectos de la calidad nutricional y sensorial de distintos alimentos elaborados a base de harinas de cereales (panes) y de legumbres (snacks).

En el caso de las **harinas de trigo** objeto de estudio (harina blanca, harina integral y fracción de salvado), se analizaron un total de 22 muestras procedentes de distintas variedades tanto de trigo blando como de trigo duro obtenidas mediante técnicas de mejora genética tradicional. Se evaluó la variabilidad mostrada en términos de compuestos bioactivos (fibra, arabinoxilanos, tocoferoles, compuestos fenólicos) así como en el contenido de elementos minerales (microelementos: Fe, Cu, Mn, Zn; y macroelementos: Ca, Mg, Na, K). El estudio de estas harinas se completó con la evaluación de la actividad biológica (actividad antioxidante) de las mismas. Los resultados obtenidos permitieron comprobar que las harinas de trigo procedentes de las variedades analizadas constituyen una fuente importante de fibra y presentan cantidades interesantes de arabinoxilanos (3 de las muestras reúnen los requisitos necesarios para poder hacer uso de la correspondiente declaración de propiedades saludables autorizada relativa a estos compuestos). Se ha comprobado que las técnicas de mejora genética tradicional permiten obtener harinas de trigo con cantidades importantes de elementos minerales, siendo posible, en la mayoría de los casos analizados, hacer uso de las correspondientes declaraciones nutricionales y de propiedades saludables establecidas en la legislación vigente. Las muestras analizadas y, especialmente las harinas integrales y las fracciones de salvado, destacan por presentar compuestos con propiedades antioxidantes, como los tocoferoles y los compuestos fenólicos, cuyo contenido se relaciona con la capacidad antioxidante de las mismas.

El estudio de las **harinas de lenteja** incluyó el análisis de 12 formulaciones (crudas y extruidas) enriquecidas con distintas proporciones de levadura nutricional. Se evaluó la influencia del proceso de extrusión (a 140 °C y a 160 °C) sobre el contenido de diferentes compuestos bioactivos (fibra, arabinoxilanos, azúcares solubles,  $\alpha$ -galactósidos, tocoferoles, compuestos fenólicos), así como sobre el contenido de algunos compuestos considerados como antinutrientes (inositol fosfatos, inhibidores de tripsina, lectinas). También se evaluó la actividad biológica (actividad antioxidante) de las formulaciones objeto de estudio. Como consecuencia de la extrusión se observó un incremento en el contenido de fibra, arabinoxilanos y  $\alpha$ -galactósidos, así como una disminución del contenido de tocoferoles y de compuestos fenólicos. No obstante, las harinas de lenteja analizadas presentaron interesantes propiedades desde el punto de vista antioxidante. Por último, se confirmó que la extrusión conlleva una marcada reducción de los compuestos antinutritivos (inositol fosfatos, inhibidores de tripsina, lectinas).

Como parte de esta Tesis Doctoral también se llevó a cabo un **estudio de productos elaborados a base de harinas de cereales (panes) y de harinas de legumbres (snacks)**. Se evaluó la composición nutricional de 5 tipos de panes (multicereal, integral de centeno de Baviera, integral de trigo, de centeno, y de avena) y se comprobó que el pan multicereal fue el que presentó un mayor contenido de proteínas, grasa total y fibra total, mientras que este pan se caracterizó por los valores más bajos de hidratos de carbono disponibles. Teniendo en cuenta el aporte energético, el pan de avena fue el que mostró un mayor valor calórico. El perfil lipídico de los panes analizados mostró que los ácidos grasos poliinsaturados fueron los mayoritarios. Se confirmó la posibilidad de utilizar en el etiquetado de todos los panes analizados las declaraciones nutricionales de “fuente de cobre” y “fuente de manganeso”, así como las correspondientes declaraciones de propiedades saludables aprobadas por la legislación vigente. Además, se evaluaron distintos atributos sensoriales relacionados con la aceptación de estos productos por parte de los consumidores. De esta manera se observó que el pan integral de trigo fue el más elástico mientras que el pan de centeno fue el de mejor masticabilidad y el que presentó mayor dureza y mayor adhesividad. Como resultado del estudio del color de los panes cabe destacar que el pan más oscuro fue el pan integral de centeno de Baviera.

En cuanto a los productos elaborados a base de harinas de legumbres se evaluó la aceptación por parte de los consumidores de 6 tipos de snacks de lenteja y de garbanzo. Se observó que los consumidores españoles son capaces de discriminar entre las diferentes formulaciones de snack objeto de estudio y se comprobó que, en general, las formulaciones de lenteja (con más proteína,

más grasa y menos fibra) obtuvieron puntuaciones más altas que las de garbanzo. Además, se observó que los hombres dieron puntuaciones más altas a los snacks que las mujeres. Se realizó un análisis estadístico multivariante, mapas de preferencias, con el objeto de profundizar en el estudio de los resultados obtenidos. En este sentido, se realizó un análisis estadístico de clasificación jerárquica ascendente que agrupó a los consumidores en 3 grupos o clases en función de sus preferencias permitiendo un estudio pormenorizado de la aceptación de los consumidores por los snacks seleccionados.

Como conclusión final de este trabajo cabe destacar que tanto las harinas de cereales como las de legumbres tienen un gran valor nutricional y pueden emplearse como ingredientes en la elaboración de productos alimenticios novedosos con propiedades funcionales añadidas. Existen diferentes estrategias, como la mejora genética tradicional o distintos procesos novedosos e innovadores tales como el proceso de extrusión, que permiten mejorar el perfil de compuestos bioactivos de las harinas de cereales y de legumbres, lo que redunda en productos con un mejor perfil nutricional y permite ampliar el abanico de productos saludables disponibles en el mercado.. Además, las técnicas de análisis sensorial utilizadas en este estudio son una herramienta clave para caracterizar productos novedosos y evaluar la aceptación de estos productos por parte de los consumidores.

## ABSTRACT

### “Flours as a source of bioactive compounds. Tradition and innovation”

Cereals and pulses are staple foods in the Mediterranean dietary pattern and contain interesting amounts of bioactive compounds. These foods has been widely used since ancient times and they are part of numerous traditional recipes. However, nowadays the food industry is making a great effort to develop novel food products, many of which are based on cereals and pulses flours.

This Doctoral Thesis is focused on the characterization and evaluation of the profile of bioactive compounds as well as on the study of the biological activity in terms of antioxidant activity of different flours (wheat flours and lentil flours), which could be used as ingredients to develop food products with added functional properties. Moreover, different aspects related to the nutritional quality and sensory quality of some food products made from cereal flours (breads) and pulses flours (snacks) have been evaluated.

A total of 22 samples of **wheat flours** (white flour, wholegrain flour and bran fraction) from different soft and durum wheat varieties has been analyzed. These samples were obtained using techniques of the traditional genetic improvement. The variability on the bioactive compounds content (dietary fibre, arabinoxylans, tocopherols, phenolic compounds) has been evaluated, as well as the content of mineral elements (microelements: Fe, Cu, Mn, Zn; and macroelements: Ca, Mg, Na, K). The study of these flours was completed with the analysis of the biological activity (antioxidant activity) of them. The obtained results showed that analyzed wheat flours are an important source of dietary fibre and contain interesting amounts of arabinoxylans (3 of the samples meet the necessary requirements to make use of the corresponding authorized health claim for these compounds). It has been proven that traditional genetic improvement techniques make it possible to obtain wheat flours with significant amounts of mineral elements, being possible, in most cases, the use of nutrition and health claims established in the current legislation. The analyzed samples and, especially the wholemeal flours and the bran fractions, stand out for containing compounds with antioxidant properties, such as tocopherols and phenolic compounds, whose content is related to their antioxidant capacity.

The study of **lentil flours** included the analysis of 12 formulations (raw and extruded) enriched with different proportions of nutritional yeast. The influence of the extrusion process (at 140 °C and 160 °C) on the content of different bioactive compounds (fiber, arabinoxylans, soluble

sugars,  $\alpha$ -galactosides, tocopherols, phenolic compounds) as well as on the content of some compounds considered as antinutrients (inositol phosphates, trypsin inhibitors, lectins), was evaluated. The biological activity (antioxidant activity) of the formulations under study was also assessed. As a consequence of the extrusion process, an increase in the content of fiber, arabinoxylan and  $\alpha$ -galactosides as well as a decrease in the content of tocopherols and phenolic compounds, were observed. However, the analyzed lentil flours showed interesting properties from the antioxidant point of view. Finally, it was confirmed that extrusion implies a marked reduction in antinutritive compounds (inositol phosphates, trypsin inhibitors, lectins).

As part of this Doctoral Thesis, **a study of products made from cereal flours (breads) and legume flours (snacks) was also carried out.** The nutritional composition of 5 types of bread (multigrain, Bavarian rye, whole wheat, rye, and oatmeal) was assessed and it was found that multigrain bread was the one with the highest content of protein, total fat and total fiber, while this bread was characterized by the lowest values of available carbohydrates. Taking into account the energy intake, oat bread was the one that showed the highest caloric value. The lipid profile of the analyzed breads showed that polyunsaturated fatty acids were the majority ones. It was confirmed the possibility to use the nutrition claims "source of copper" and "source of manganese" and its corresponding health claims approved in the current regulation in the labeling of all analyzed breads. In addition, different sensory attributes related to the consumer acceptance of these products were evaluated. In this way, it was observed that whole wheat bread was the most elastic bread, while rye bread was the one with the best chewiness and the one with the highest hardness and adhesiveness. As a result of the study of the color of the breads, it should be noted that the darkest bread was the Bavarian rye bread. Regarding the food products made from legume flours, the consumers acceptance of 6 types of lentil and chickpea snacks was assessed. It was observed that Spanish consumers are able to discriminate among the different snack formulations under study and it was found that, in general, the lentil formulations (with more protein, more fat and less fiber) obtained higher scores than those of chickpea. In addition, it was observed that men gave higher scores to snacks than women. A multidimensional statistical analysis, preference mapping, was carried out in order to deepen the study of the obtained results. In this sense, a statistical analysis of agglomerative hierarchical clustering was performed, and consumers were categorized into 3 groups or classes based on their preferences, allowing a detailed study of consumer acceptance of the selected snacks.

As a final conclusion of the present work, it should be noted that both cereal and legume flours have great nutritional value and can be used as ingredients in the production of novel food

products with added functional properties. There are different strategies, such as the traditional genetic improvement, or different new and innovative processes, like the extrusion process, which allow improving the profile of bioactive compounds in cereal and legume flours, which results in products with a better nutritional profile and allow the increase of the range of healthy products available on the market. Furthermore, the sensory analysis techniques used in the present study are a key tool for characterizing novel products and evaluating the consumer acceptance of these products.

## **1. INTRODUCTION**

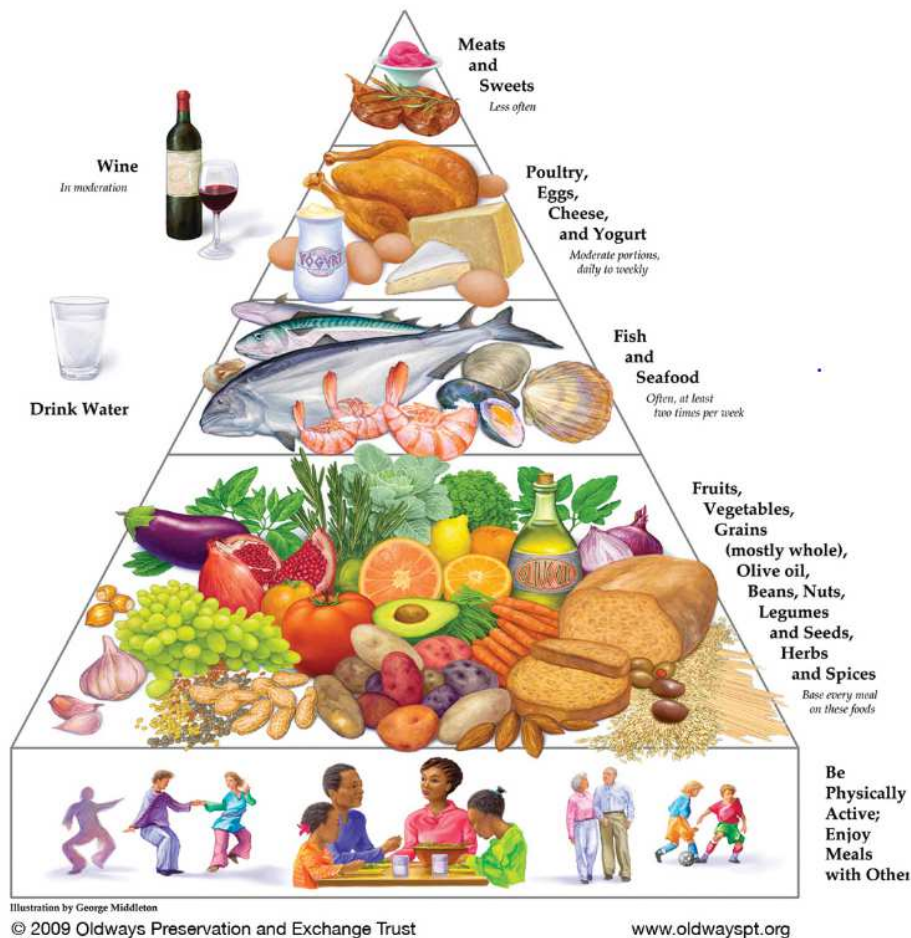
## 1.1. CEREALS AND PULSES IN THE MEDITERRANEAN DIET

The term **Mediterranean diet** first came into use in the 1950s to refer to the typical diet of the populations living in the Mediterranean basin (Carbajal, 2013; Serra-Majem et al., 2019). This dietary pattern consists predominantly of plant-based foods (fruit, vegetables, **cereals**, **pulses** and nuts), with a limited intake of animal products. One essential characteristic of this dietary pattern is the use of virgin and extra virgin olive oil as the main source of fat, making this diet rich in monounsaturated fatty acids and poor in saturated fats. The Mediterranean diet guarantees a high supply of fibre and bioactive compounds, many of which have antioxidant and anti-inflammatory properties that are responsible for numerous beneficial health effects (Bach-Faig et al., 2010; Castro-Quezada et al., 2014; Durá-Travé & Castroviejo Gandarias, 2011).

Adherence to the Mediterranean diet has been observed to protect against pathologies that are highly prevalent in Western societies. It is particularly notable for its role in protecting against cardiovascular disease (Billingsley & Carbone, 2018), type II diabetes (Salas-Salvadó et al., 2011), neurodegenerative disorders (Valls-Pedret et al., 2015) and certain types of cancer (Toledo et al., 2015). The Mediterranean diet is today considered to be one of the healthiest dietary patterns available, and is associated with an improvement in people's quality of life (Serra-Majem & Ortiz-Andrellucchi, 2018).

A healthy diet must fulfil certain basic principles, and include a wide variety of foods that guarantee a balance of nutrients. It is also essential to adapt portion sizes in order to meet the nutritional needs of the population. The Mediterranean dietary pattern is able to satisfy these requirements, and allows the inclusion of foods such as cereals and pulses that are produced in the local environment and rooted in our customs and cultural traditions (SENC, 2018).

**Figure 1** shows the Mediterranean diet pyramid proposed by Oldways (2009). It can be seen that the base of the pyramid is formed by plant-based foods (fruit, vegetables, cereals, pulses and nuts), whereas animal-based foods are located at the higher levels. This pyramid also highlights the importance of regular physical activity and of sharing food in a social setting.



**Figure 1.** The Mediterranean diet pyramid (Oldways, 2009)

**Cereals** and **pulses** are foods that play an essential role in feeding the population, and therefore occupy a key place at the base of the Mediterranean dietary pyramid. An adequate diet should include the daily consumption of cereals (preferably wholegrain and wholegrain derivatives) and other foods that are rich in complex carbohydrates. Pulses are staple foods in traditional and Mediterranean cuisine and represent an important source of energy and nutrients. The recommendation is to consume at least two to three portions a week, prepared using culinary techniques to improve their digestibility and nutritional value (SENC, 2016).

### 1.1.1. Cereals

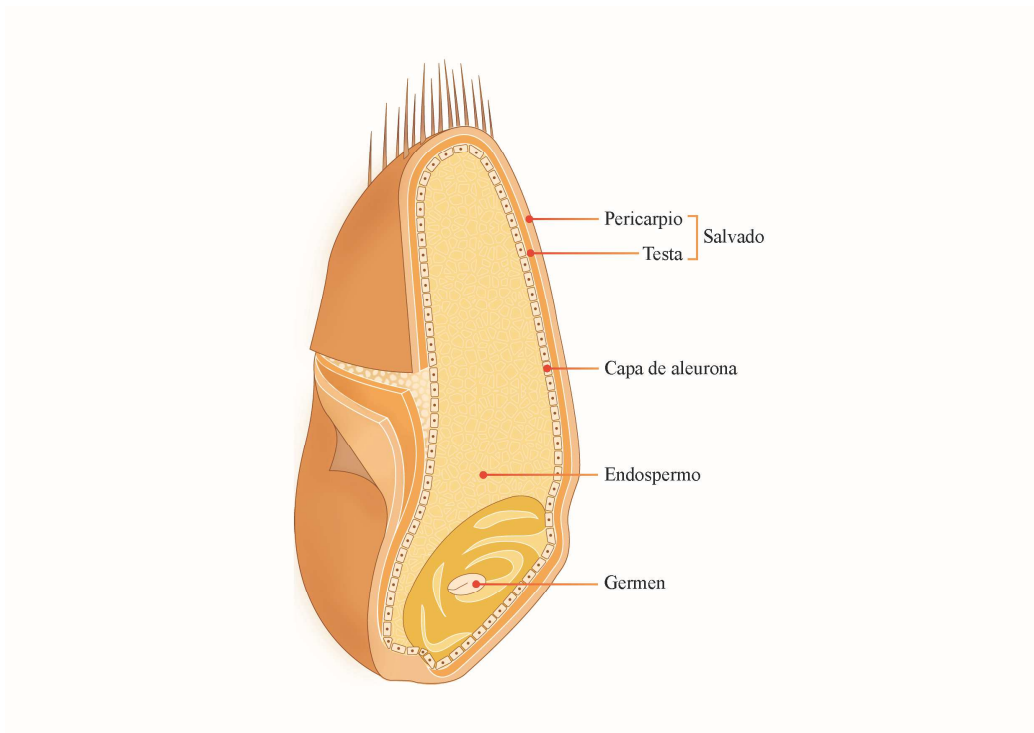
As mentioned above, cereals and their derivatives are staple foods in the Mediterranean dietary pattern and their consumption is essential as part of a healthy diet (Ortega et al., 2015). Cereals have also been a cornerstone of the history of human food from a cultural point of view, as they were the first plants to be cultivated by humans in the eastern Mediterranean (Mataix, 2009).

In terms of their role in the diet, the most important cereals are wheat (*Triticum aestivum* L., *Triticum durum* Desf.), rice (*Oryza sativa* L.) and corn (*Zea mays* L.). Specifically, wheat and rice are the staple food of four fifths of the world's population, and wheat production accounts for 28% of the total cereal production worldwide (FAO, 2019). Rye (*Secale cereale* L.), barley (*Hordeum vulgare* L.) and oats (*Avena sativa* L.) are also widely consumed (Mataix, 2009).

These foods have a high nutritional value and are notable for their carbohydrate content, mainly starch. They contain a significant quantity of proteins, with lysine as a limiting amino acid, and a low fat content, mainly unsaturated (Mataix, 2009; Ortega et al., 2015).

The distribution of the nutrients in cereal grains depends largely on their morphology. The grain is structured into three differentiated parts (bran, endosperm and germ) (Figure 2), each of which has a different nutrient concentration (Ortega et al., 2015).

As can be seen in Figure 2, *bran* is the outer part of the cereal grains and is in turn formed by two layers (pericarp and testa), representing approximately 14% of the weight of the grain (Finnie & Atwell, 2016; Gómez Pallarés et al., 2007). Bran contains a significant amount of water-soluble proteins (albumins) (Chaquilla-Quilca et al., 2018) and has a high fibre content (Rasane et al., 2015), mainly insoluble, which is responsible for many of the health benefits deriving from the consumption of cereals. The predominant fibre in this food group is composed of non-starch polysaccharides (such as arabinoxylans and  $\beta$ -glucanes), resistant starch, oligosaccharides (mainly fructans) and lignin (Knudsen et al., 2017; Rainakari et al., 2016). Bran is also characterised by a fraction that is rich in vitamins (particularly B-group vitamins such as thiamin, riboflavin and niacin) and minerals (magnesium, potassium, calcium, iron, zinc and selenium). This layer also has a high presence of bioactive compounds with an anti-oxidising capacity, such as phenolic compounds (mainly ferulic acid, flavonoids and tannins) (Gong et al., 2018; Moreiras et al., 2018; Ortega et al., 2015).



**Figure 2.** Wheat grain morphology (adapted from [Mataix, 2009](#))

The *aleurone* layer is located between the bran and the endosperm, and represents 5–8 % of the wheat grain. This layer is biologically active as it has high enzyme activity. Its composition, activity and location mean it can exert different effects on the functionality and nutritional properties of flours. However, due mainly to its location, aleuron is eliminated during most of the milling operations carried out to obtain flour. This layer contains a high concentration of nutritionally important compounds, and it would therefore be extremely interesting to optimise its utilisation by increasing the extraction rate of flours or encouraging the consumption of wholegrain flours ([Brouns et al., 2012](#); [Finnie & Atwell, 2016](#); [Gómez Pallarés et al., 2007](#)), as wholegrain cereals have been reported to have numerous benefits for human health, including prebiotic effects and as a safeguard against colorectal cancer, in addition to protecting against cardiovascular diseases and helping control body weight ([Gong et al., 2018](#); [Ortega et al., 2015](#); [Zhu & Sang, 2017](#)).

White flour is basically formed by the *endosperm* of the grain, which is the food deposit for the embryo, and, in the specific case of wheat, represents 82 % of the weight of the grain. This fraction has a low vitamin and mineral content and mainly comprises starch, proteins and, to a lesser degree, cellulose ([Finnie & Atwell, 2016](#); [Gómez Pallarés et al., 2007](#)).

Finally, the *germ* is located near the base of the grain, and in the case of wheat, represents around 3 % of the cereal grain. This fraction is rich in fats and is notable for its content in proteins (albumins, globulins, prolamins and glutenins) and vitamins, particularly B-group vitamins and vitamin E (tocopherols and tocotrienols) (Finnie & Atwell, 2016; Gómez Pallarés et al., 2007; Zhu et al., 2006). In the specific case of wheat and corn, the germ also contains significant quantities of carotenoids (Moreiras et al., 2018).

### 1.1.2. Pulses

Pulses are a part of the cuisine of practically all the peoples and cultures in the world, as they are staple foods with excellent nutritional properties. The grains of leguminous plants have been consumed in all cultures for thousands of years due to their high nutritional value and the fact that they are cheap, easy to prepare, highly versatile and in many cases non-perishable, allowing an abundant supply to be maintained (Torres & Guerra, 2003).

Pulses have been cultivated for centuries by a wide variety of cultures, and together with cereals, have represented a staple food for the population since the Neolithic era, when humans first began to cultivate the land and practice agriculture as a supplement to hunting. From the Middle Ages to the present day, pulses in Spain have featured in meals in both the wealthiest and most humble homes. Dishes such as *cocido* (chickpea stew), *potajes* (hearty soups) and stewed lentils are part of Spain's culinary culture and traditional gastronomy (MAPA, 2020).

Pulses belong to the *Leguminosae* family, which is one of the most important botanical families in nutritional terms. This family has over 13,000 species that are classified into around 650 genera. However, only some 20 species are used for human consumption, and represent a very important element of the diet. Pulses are consumed as dry seeds, cleaned and separated from their pod, and can be divided into three large groups: grain leguminosae, proteaginosae and oleaginosae (Annor et al., 2014; Delgado-Andrade et al., 2016; FEN, 2017; Sangronis et al., 2004; Singhal et al., 2014).

Notable within the group of grain leguminosae are dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.), chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and lentils (*Lens culinaris* L.). Peas (*Pisum sativum* L.), broad beans (*Vicia faba* L.) and lupin (*Lupinus angustifolius* L., *Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) belong to the proteaginosae group, whereas soy (*Glycine max* L.) is part of the oleaginosae group (Delgado-Andrade et al., 2016).

Pulses are normally consumed after processing, which improves their palatability and enhances the bioavailability of the nutrients; heat treatment triggers the inactivation and/or reduction of the content of certain undesirable compounds, so-called anti-nutrients such as phytic acid and phytates, oxalic acid, protease inhibitors (trypsin and chymotrypsin inhibitors), in addition to lectins (hemagglutinins), among others (Delgado-Andrade et al., 2016; Dogan et al., 2013; Sangronis et al., 2004; Shariati-Ievvari et al., 2016; Singhal et al., 2014).

Pulses are extremely valuable foods from the nutritional point of view. In bromatological terms, the composition of pulses makes them one of the most complete foods available. They have traditionally been known as the “poor man’s meat” due to their high protein content, and their consumption is particularly important in regions with a limited availability of animal protein. They are rich in essential amino acids such as lysin, leucin, aspartic acid, and glutamic acid and arginine, and are therefore a food of choice in diets aiming for a total or partial reduction of animal proteins such as vegetarian, strict vegan or flexitarian diets. However, pulses have a limiting amino acid (methionine) which reduces the biological value of the protein. One way to improve the profile of this protein may be to supplement the protein in the pulses with cereals (Dogan et al., 2013; Pedrosa et al., 2015).

Pulses are also a source of complex carbohydrates such as fibre. The fibrous covering of pulses is formed mainly by cellulose, hemicellulose and pectins. This cover, along with certain oligosaccharides (mainly  $\alpha$ -galactosides) in the interior of the grain are the main components of the fibre in this food group.  $\alpha$ -galactosides (mainly raffinose, stachyose and verbascose) are responsible for the flatulence that may occur with their consumption, causing many people to limit the presence of pulses in their diet. Pulses also contain a large quantity of resistant starch, and hence have a low glycaemic index. This type of starch has beneficial effects for the health; for example it reduces the risk of colon cancer and diabetes, and also acts as a substrate for the growth of probiotic microorganisms in the colon (Ciudad-Mulero et al., 2019; Morales et al., 2015a; Pedrosa et al., 2015).

Another relevant aspect in terms of the composition of this food group is the fact that – with the exception of oleaginous species such as soy – these foods contain very low amounts of fat (Delgado-Andrade et al., 2016; Moreiras et al., 2018).

In regard to micronutrients, it is worth noting that pulses are a source of physiologically important levels of vitamins (niacin, vitamin C, thiamin, folic acid and riboflavin) and minerals (potassium, magnesium, calcium, iron, zinc and manganese) (Grela et al., 2017a; Margier et al.,

2018; Moreiras et al., 2018; Sangronis et al., 2004, Shariati-Ievari et al., 2016; Singhal et al., 2014).

They also contain numerous compounds with antioxidant properties, and, specifically, a variety of phenolic compounds such as quercetin, myricetin and kaempferol (Grela et al., 2017b).

Research into the potential health benefits of pulses has confirmed their favourable nutritional profile. They are currently considered gluten-free functional foods, and the scientific evidence available today suggests that they stimulate several metabolic functions and protect against cardiovascular diseases, diabetes, obesity, breast cancer, osteoporosis, high blood pressure, gastrointestinal disorders and adrenal insufficiency, as well as reducing LDL cholesterol (Aune et al., 2009; Ma et al., 2016; Morales et al., 2015a; Nouri et al., 2016; Shariati-Ievari et al., 2016; Singhal et al., 2014).

### 1.1.3. Cereal and pulses flours

#### 1.1.3.1. Milling process

**Milling or grinding** is the operation whereby the cereal and/or leguminous grains, free from extraneous material and duly positioned, are ground and reduced to particles of various sizes (Decreto 2484/1967; Real Decreto 677/2016).

Royal Decree 1286/1984, repealed by Royal Decree 677/2016, considered **milled products** to be those obtained solely from milling wheat grain. However, the legislation in force at the present time (Real Decreto 677/2016) establishes that milled products can be considered as any product obtained from milling cereal grains destined for human consumption, and classifies these products as:

- Products obtained essentially from grains
- Other products obtained essentially from the outer layers of the grain, including the germ.

The purpose of milling is to obtain a product with a fine granulometry from cereal grains or from the seeds of leguminous plants. When wheat is milled, the germ and the bran are separated from the endosperm, which is then reduced to smaller particles which constitute the flour.

In common with other food processes such as fermentation and cooking, the origin of milling dates from antiquity. The first use of hand tools dates from around 8000 BC, when stone mortars and basins were employed to reduce cereals to a powder and transform them into flours of varying degrees of coarseness. There is evidence from around 6000 BC that sieves were used to separate flours from the unwanted parts of the grain. The first mechanical mills consisted of two stone discs laid horizontally. The wheat was placed between the discs, which were then rotated manually. This type of mill gradually evolved until stone or rotating mills became widespread, using animal or manpower to move the stone discs to maximise the efficiency of the process. Hydraulic energy was first used to mill wheat around 100 years BC, and windmills from about 1200 AD. The concept of reduction that continues today originated in Hungary in the 19th century, and the sophisticated methods of grinding, separating and transporting that are standard nowadays are based on the same basic processes applied by these early mills (Finnie & Atwell, 2016).

Two types of cereal milling can currently be differentiated today: wet milling and dry milling. Special milling techniques have also been developed to allow the grains to be fractioned in order to respond to very specific needs (Finnie & Atwell, 2016; Tscheuschner; 2001).

The processes involved in the correct milling of cereals are:

1. Elimination of extraneous components and damaged cereal grains
2. Cleaning the dirt adhered to the surface of the grain (impurities)
3. Selective grinding of the cleaned cereal
4. Separation of the different fractions after milling according to their granulometry, and the endosperm particles with and without the remains of the husk
5. Mixing the selected fractions to obtain the various final, intermediate and discardable products

The wheat is normally milled dry, and the aim is to separate the main anatomical parts of the grain (bran, endosperm and germ) as efficiently as possible. Wheat is milled with a series of pairs of rollers and sieves that separate the main components of the grain, producing flour, bran and germ (Finnie & Atwell, 2016; Tscheuschner; 2001).

Pulses flours are obtained by grinding the leguminous seeds dry after removing the cortex (Decreto 2484/1967).

### 1.1.3.2. Definition of flours

According to the current legislation, the term **flour** refers to the product obtained from milling the **cereal** grain, and is constituted fundamentally by the endosperm, with a granulometry such that 90% of its particles pass through a sieve with a mesh size of 180 micras; the exception is brown wheat flour, when the figure is 80 % of the particles ([Real Decreto 677/2016](#)).

Flours must have the following characteristics:

- Moisture:  $\leq 15$  %, with an accepted tolerance of 0.5 %, including the value of the uncertainty of the analytical method.
- Percentage of extraneous flour (from other cereals or seeds):  $\leq 1$  %.

The raw materials used to make flours are cereal grains, which must be healthy, sound and for commercial use, free from unusual odours and living predators in all their phases of development. The moisture in the grain must be less than or equal to 15% at the time the goods are received ([Real Decreto 677/2016](#)).

The quality standards for flours, meal and other products of cereal milling can be consulted in Royal Decree 677/2016, which repealed Royal Decree 1286/1984 and introduced the modifications contained in **Table 1**.

**Table 1.** Significant changes referring to concepts relating to flours and other milling products. Comparison between Royal Decree 1286/1984 (repealed) and Royal Decree 677/2016 (in force)

Item	Royal Decree 1886/1984 (repealed)	Royal Decree 677/2016 (in force)
<b>Milling or grinding</b>	Operation whereby <b>wheat grains</b> are ground and reduced to particles of different sizes, <b>which are separated from each other by mechanical means.</b>	Operation whereby <b>cereal grains</b> are ground and reduced to particles of different sizes.
<b>Milling products</b>	Products obtained by milling the mature, whole, healthy and dry <b>wheat grain</b> , industrially cleaned, and which are intended for human consumption.	Products obtained by milling <b>cereal grains</b> intended for human consumption.

Table 1 (continuation)

Item	Royal Decree 1886/1984 (repealed)	Royal Decree 677/2016 (in force)
<b>Extraction rate</b>	<b>Amount of flour</b> , with certain predefined characteristics, obtained from milling 100 kg of clean <b>wheat</b> , correlating the percentages of moisture between the grain and the flour:	<b>Kilos of flour</b> , with certain predefined characteristics, obtained from milling 100 kg of clean <b>cereal grain</b> , with both products referred to the same moisture percentage.
<b>Flour</b>	Flour, without any other qualifier, is the finely ground product obtained from milling <b>wheat grain</b> . The finely milled products of other cereals must include, in addition to the generic name of flour, the name of the grain from which they are made.	Product obtained from milling <b>cereal grain</b> and constituted essentially by the endosperm. The name is formed by the generic term “flour” followed by the name of the cereal from which it is made.
<b>Wholewheat flour</b>	Product resulting from the milling of dry, healthy, ripe <b>wheat grain</b> , industrially cleaned, <b>without separating any part of the grain</b> , that is, with an extraction rate of 100%.	Product resulting from the milling of <b>cereal grains</b> , and whose composition is the same as the whole wheat cereal grain. The milling process may vary, <b>including milling the grain after separating the different components which are then recombined to prepare the final product</b> , or else a milling process consisting of one or several milling phases, during which the components of the cereal grain are not separated from each other.
<b>Degermed wholewheat flour</b>	Product resulting from milling ripe, healthy, dry wheat grain from which only the germ has been eliminated.	The term is not considered.
<b>Flour with bran</b>	The term is not considered.	Product resulting from mixing a flour with bran from one or several cereals.

Table 1 (continuation)

Item	Royal Decree 1886/1984 (repealed)	Royal Decree 677/2016 (in force)
<b>Meal flour</b>	The term is not considered.	Product of milling the grain of one or several cereals, or of the subsequent mixture of a range of products from the milling of the same or different cereals, with a heterogeneous granulometry and which cannot be classified in a generic way in any of these individual denominations.
<b>Mixed flours</b>	Flour resulting from mixing flours from different cereals.	Flour resulting from mixing flours from different cereal grains or <b>obtained from the joint milling of different cereals.</b>
<b>Conditioned flour</b>	Flour whose <b>organoleptic, plastic and/or fermentative characteristics are modified and supplemented</b> to improve them through <b>physical treatments</b> or the <b>addition of duly authorised products.</b>	Flour to which <b>certain ingredients</b> such as additives, enzymes, gluten or other ingredients are added <b>solely to modify or complement its natural characteristics.</b>
<b>Enriched flour</b>	Flour to which has been added some substance that increases its nutritional value in order to transfer this quality to the products prepared with it.	Concept repealed.
<b>Meal</b>	Products essentially constituted by endosperm with a granular structure ( <b>187-850 micras</b> ) <b>from the milling of industrially cleaned wheat.</b>	Product obtained <b>from milling cereal</b> essentially constituted by endosperm with a granular structure ( <b>132-850 micras</b> ).
<b>Semolina</b>	Meal from wheat with a grain size of no less than 160 micras.	The term is not considered.
<b>Groats</b>	The term is not considered.	Product resulting from milling clean cereal grains whose fragments are larger than those of meal.
<b>Germ</b>	Product constituted by the <b>embryo of the wheat grain</b> , separated from the grain at the start of the milling process	Product constituted by the <b>embryo of the wheat grain</b> , separated from the grain at the start of the milling process

**Table 1** (continuation)

Item	Royal Decree 1886/1984 (repealed)	Royal Decree 677/2016 (in force)
<b>Bran</b>	Subproduct of the process of milling the <b>wheat</b> derived from the outer layers or husk of the grain seed, which remain <b>after the flour has been extracted</b> .	Product of the process of milling the outer layers or husk of the <b>cereal grain</b> , which remain <b>after the flour or meal has been extracted</b> .

**Wheat flour** is the flour obtained from milling the grain of *Triticum aestivum* L. wheat or the mixture of this grain with *Triticum durum* Desf., with a proportion of a maximum of 20% of the latter, ready for its sale to the final consumer or intended to be used in the preparation of other food products. It is classified according to its ash content out of dry substance in ([Real Decreto 677/2016](#)):

- Extra-fine flour or low extraction:  $\leq 0.50$  %.
- Normal flour or average extraction: between 0.50 and 0.80 %.
- Brown flour or high extraction:  $\geq 0.80$  % and less than 2.5 %.

**Whole flour or wholewheat flour** is the product resulting from milling the cereal grain, and its composition is the same as that of the whole cereal grain. The milling process may vary, including milling the grain after separating the different components, which are then recombined to prepare the final product; or a process consisting of one or several milling phases, during which the components of the cereal grain are not separated from each other ([Real Decreto 677/2016](#)).

**Wholewheat flour** must have less than 3% of ash over dry substance.

**Meal** is the product of milling cereal constituted mainly by the endosperm with a granular structure. Meals are called by the generic term “course meal” or “sémola de boca” (in Spanish), or “fine meal”, as applicable, and with the name of the cereal they are made from, except for fine durum wheat meal, which may be called “durum wheat meal” ([Real Decreto 677/2016](#)).

According to the granulometry they are classified as:

- **Course meal or “sémola de boca”**: meal whose particle size is uniformly distributed in the interval of 600 to 850 micras, admitting a tolerance of 10 %, except for coarse durum wheat meal, for which this figure is 20 %.

- **Fine meal:** meal whose particle size is uniformly distributed in the interval of 132 to 600 micras, admitting a tolerance of 10 %, except for fine durum wheat meal for which it is 25 %.

Durum wheat meals have certain specific characteristics:

- Moisture:  $\leq 15$  %, admitting a tolerance of 0.5 % that includes the value of the uncertainty of the analytical method.
- Fine durum wheat meals are classified as:
  - Superior quality meal for the preparation of pasta
  - Meal for other industrial uses
- Ash (over dry substance), admitting a tolerance of 0.05 %:
  - Course meal or “sémola de boca”:  $\leq 0.9$  %
  - Superior quality fine durum wheat meal for the preparation of pastas:  $\leq 0.9$  %
  - Fine durum wheat meal for other industrial uses:  $> 0.9$  %
- Proteins (expressed as % over dry substance):
  - Course meal or “sémola de boca”:  $\geq 10.5$  %
  - Superior quality fine durum wheat meal for the preparation of pastas:  $\geq 11.0$  %
  - Fine durum wheat meal for other industrial uses:  $\geq 9.5$  %

**Bran** is the product resulting from the process of milling the outer layers or husks of the cereal grain that remain after the flour or meal has been extracted ([Real Decreto 677/2016](#)).

Wheat bran has the following characteristics:

- Moisture:  $\leq 15$  %, with an accepted tolerance of 0.5 %, including the value of the uncertainty of the analytical method.
- Ash over dry substance:  $\leq 8.5$  %.

In regard to **pulses**, Decree 2484/1967, which approves the text of the Spanish Food Code, defines leguminous derivatives as the products obtained from the preparation of dry pulses suitable for food, or intended to serve as the raw material for the manufacture of food products.

Leguminous derivatives are classified as ([Decreto 2484/1967](#)):

- Peeled pulses: cotyledon without seedpods from the dry seeds of leguminosae.
- Pulses purées: products obtained by grinding the dry seeds of peeled leguminosae.

- **Pulses flours:** product resulting from milling dry pulses after removing the cortex.

Both dry pulses and their derivatives (including pulses flours) must have a normal appearance, smell and taste, with no signs of having been attacked by fungi, bacteria, insects, mites or rodents. Additionally, the moisture content of these products cannot exceed 15 %. The legislation establishes that pulses flours must contain a minimum of 20 % proteins, with a maximum tolerance of 3 % fats and 6 % ash. A minimum of 70 % of proteins and a maximum of 8 % of fat is tolerated in the specific case of chickpea flours, whereas a minimum of 40 % of proteins is admitted for defatted soy flour ([Decreto 2484/1967](#)).

## 1.2. BIOACTIVE COMPOUNDS IN CEREALS AND PULSES AND THEIR RELATION TO HUMAN HEALTH

**Bioactive compounds** in foods are considered as food components, which have benefits health in addition to their nutritional properties. These compounds are usually found in small quantities in foods of plant origin. They are characterized by their human health benefits and they could improve the health status or reduce the risk of several chronic diseases including cardiovascular diseases, type 2 diabetes or certain types of cancer (Gani et al., 2012; Herrera Chalé et al., 2014).

During the last century notable advances took place in knowledge about food science, nutrition and health, which have contributed to identify some dietary bioactive compounds as potential factors involved in the prevention of some pathological processes. These advances have also conducted to the development of intervention studies, with isolated bioactive compounds, in order to prove their effectiveness (Gani et al., 2012; Herrera Chalé et al., 2014).

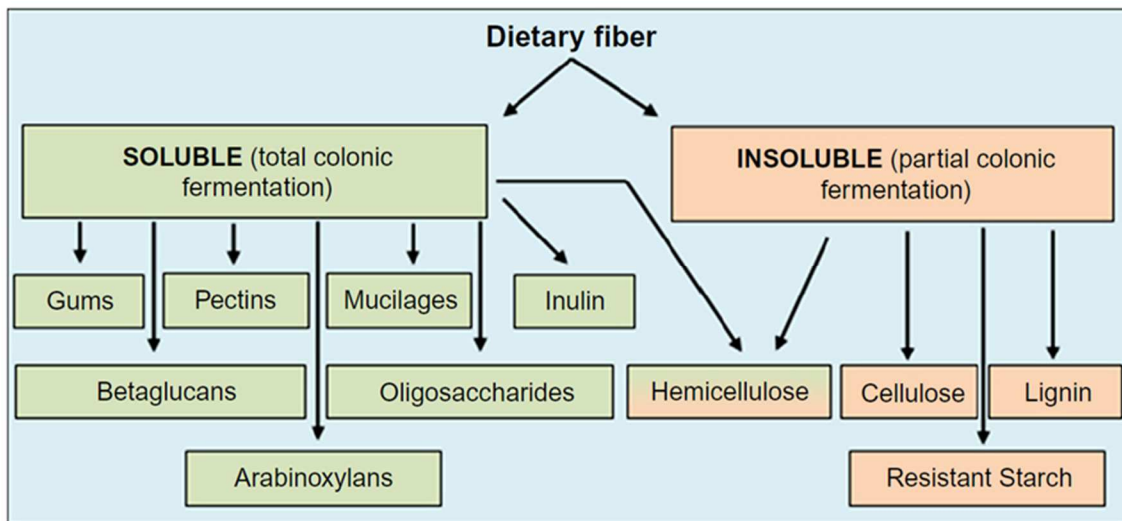
### 1.2.1. Dietary fiber in cereals and pulses

The American Association of Cereal Chemists (AACC) defined dietary fiber as “the remnants of the edible part of plants and analogous carbohydrates that are resistant to digestion and absorption in the human small intestine with complete or partial fermentation in the human large intestine.” It includes polysaccharides, oligosaccharides, lignin and associated plant substances (AACC, 2001).

In the opinion of European Food Safety Authority (EFSA), dietary fiber is defined as non-digestible carbohydrates plus lignin, including non-starch polysaccharides (NSP), resistant oligosaccharides, resistant starch and lignin associated with the dietary fiber polysaccharides. Among NSP, cellulose, hemicelluloses, pectins, hydrocolloids (i.e., gums, mucilages, glucans) are found. Resistant oligosaccharides include fructo-oligosaccharides (FOS) and galacto-oligosaccharides (GOS), among others. Resistant starch consists of physically enclosed starch; some types of raw starch granules, retrograded amylose chemically and/or physically modified starches (EFSA, 2010).

Dietary fiber (DF) can be classified into two large groups according to its solubility (**Figure 3**): **insoluble dietary fiber (IDF)** and **soluble dietary fiber (SDF)**. IDF consists mainly of cell

wall components, including cellulose, some hemicelluloses, lignin and resistant starch, while SDF consists of non-cellulosic polysaccharides as non-digestible oligosaccharides, arabinoxylans,  $\beta$ -glucans, some hemicelluloses, pectins, gums, mucilages and inulin (Dai & Chau, 2017; Dhingra et al., 2012; EFSA, 2010; Gray, 2006; Li & Komarek, 2017).



**Figure 3.** Dietary fiber components

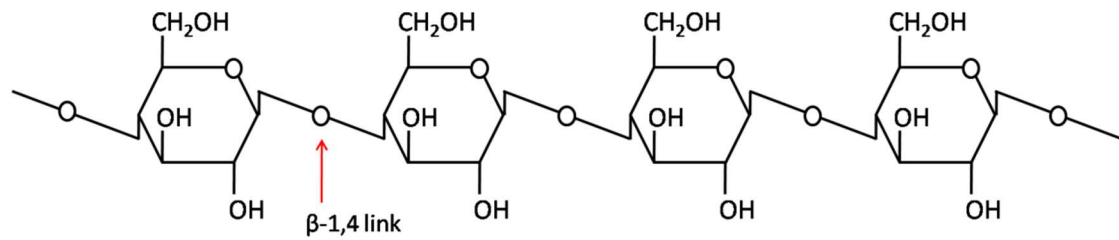
(Ciudad-Mulero et al., 2019; García Peris & Velasco Gimeno, 2007)

### 1.2.1.1. Insoluble dietary fiber (IDF)

IDF can contribute to the normal function of the intestinal tract. Its consumption is related with an increase of stool weight and decrease of colonic transit time. It has an important role in the prevention of colonic diverticulosis and constipation. Insoluble dietary fiber has an antioxidant potential that comes from phenolic compounds, and enhances certain health benefits (Tomic et al., 2017).

#### *Cellulose*

Cellulose is the main load-bearing constituent of the plant cell walls and it is located within a matrix of hemicelluloses, pectin, and also lignin. It is one of the most abundant natural biopolymers available which consists of linear chains of  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) linked glucose monomers (Figure 4) that are synthesized at the plasma membrane and are believed to aggregate into highly insoluble net that are often viewed as reinforcing rods in the cell wall composite (Burton & Fincher, 2014; Lattimer & Haub, 2010; Padayachee et al., 2017).



**Figure 4.** Chemical structure of cellulose (Ciudad-Mulero et al., 2019)

Cellulose is water insoluble and resistant to digestive enzymes in the small intestine. However, it can be partially fermented by microbiota in the large intestine in turn producing short chain fatty acids (SCFA) (Lattimer & Haub, 2010). Moreover, cellulose has a key role on colon health by increasing the number of apoptotic epithelial cells in the large intestine, playing a protective role in the development of colon cancer. Due to its ability to capture water, it makes the stool bulky, improving the elimination of possible carcinogens and shortening bowel transit time (Dodevska et al., 2013; Dodevska et al., 2015).

Cellulose is commonly present in cereals, legumes, fruits and vegetables, constituting about one quarter of the DF in grains and fruits and one third in vegetables and nuts (Gray, 2006; Mudgil & Barak, 2013; Yangilar, 2013).

### ***Hemicellulose***

Hemicellulose is a non-cellulosic component of both primary and secondary cell walls and it follows cellulose in abundance. Whereas cellulose is formed from units of glucose, different monomer units constitute hemicellulose. Hemicellulose consists in a heterogeneous group of polysaccharides made up of pyranoses and furanoses sugar units, including xylose, mannose, arabinose, glucose and galacturonic acid. Xylose and glucose are often the most abundant monomers found in hemicelluloses (Farhat et al., 2017; Mudgil & Barak, 2013; Ozyurt & Ötles, 2016; Padayachee et al., 2017).

Chemically, hemicelluloses can be grouped into four classes: xylans, xyloglucans, glucomannans and mixed linkage  $\beta$ -glucans. Xylans are composed of a backbone of  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-D-xylose units with side chains that contain different sugars and sugar acid residues. These side chains include arabinose, glucose, galactose and in lower amounts, rhamnose, glucuronic acid and galacturonic acid. Xyloglucans are similar to the backbone of cellulose, consisting of  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-linked D-glucopyranose units, but with frequent branching of  $\alpha$ -D-xylose residues.

Glucomannans consist of a branched backbone of  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-linked D-mannose and D-glucose units. Mixed linkage (1 $\rightarrow$ 3, 1 $\rightarrow$ 4)  $\beta$ -glucans are other type of hemicelluloses that are restricted to grass species and some pteridophytes (Ozyurt & Ötles, 2016).

Hemicelluloses promote regular bowel movements by increasing hydration of the stool. These compounds bind cholesterol in the gut, preventing cholesterol absorption. They are digested by microbiota increasing the number of beneficial bacteria in the gut and producing SCFA, which are used by colon cells as energetic substrate (Mudgil & Barak, 2013).

Hemicelluloses are principally present in cereal grains and about one third of the DF in vegetables, fruits, legumes and nuts consists of hemicelluloses (Dhingra et al., 2012; Mudgil & Barak, 2013).

### ***Lignin***

Lignin is not a polysaccharide but it is a complex random polymer containing about 40 oxygenated phenylpropane units including coniferyl, sinapyl and p-coumaryl alcohols that have undergone a complex dehydrogenative polymerization. Molecules of lignin vary in molecular weight and methoxyl content (Dhingra et al., 2012; Fuller et al., 2016).

Lignin is one of the most chemically active components of the cell walls, being responsible for interactions with other dietary components and for decreasing bioavailability of nutrients. It also influences gastrointestinal physiology due to its water-holding capacity, increasing fecal bulk and stimulating the intestinal transit (Mudgil & Barak, 2013; Žilić et al., 2011).

Lignin is commonly found in foods with a woody component, as celery, and it is also present in the outer layer of cereal grains (Fuller et al., 2016; Mudgil & Barak., 2013).

### ***Resistant starch***

Starch is classified into three general types based on its rate of digestion: rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch (Mohebbi et al., 2018). Resistant starch is defined as a portion of starch that resists digestion by human pancreatic amylase and brush border glycosidases in the small intestine of healthy humans and reaches the colon becoming available for fermentation by the microbiota (Chen et al., 2017). Chemically, resistant starch is a linear polysaccharide of (1 $\rightarrow$ 4)  $\alpha$ -D-glucan, essentially derived from the retrograded amylose fraction, and it has a relatively low molecular weight ( $1.2 \times 10^5$  Da) (Mohebbi et al., 2018). It is classified into five subtypes based on their mechanism of resistance to enzymatic digestion:

I (encapsulated and physically inaccessible starch), II (resistant granules), III (retrograded amylose), IV (chemically modified starch) and V (amylase-lipid complex) (Kumar et al., 2018; Zhao et al., 2018).

Resistant starch type I is physically inaccessible to amylolytic and digestive enzymes and it passes the small intestine as such. It is present in whole kernel grain products (e.g., bread, seeds, pasta and legumes) (Fuentes-Zaragoza et al., 2010; Lockyer & Nugent, 2017; Raigond et al., 2015).

Resistant starch type II is found in raw starch granules, which are relatively dehydrated and have a compact structure that limits digestive enzymes ability to access it. It is present in raw potatoes, green bananas, high-amylose maize, ginkgo starch and some legumes (Chen et al., 2017; Fuentes-Zaragoza et al., 2010; Lockyer & Nugent, 2017).

Resistant starch type III is retrograded starch, primarily formed from amylose that has leached from starch granules after hydration. It is found in cooked potatoes, bread, corn flakes and food products with prolonged and/or repeated moist heat treatment (Chen et al., 2017; Fuentes-Zaragoza et al., 2010).

Type IV resistant starch is a group of chemically modified starches with similarity to resistant oligosaccharides and polydextrose, resistant to enzymatic hydrolysis. It is a constituent of some drinks and some foods in which modified starches have been used (certain breads and cakes) (Chen et al., 2017; Fuentes-Zaragoza et al., 2010; Raigond et al., 2015).

Finally, type V resistant starch is a kind of resistant starch arising from the formation of amylose–lipid complexes that can be formed during food processing and can also be prepared under controlled conditions. It comprises polysaccharides of water insoluble linear poly- $\alpha$ -(1→4)-glucans and it is resistant to degradation by  $\alpha$ -amylase. These polysaccharides promote the formation of SCFA, particularly butyrate. It is found in foods that contain naturally occurring amylose–lipid complexes, such as bread containing fat as an ingredient, or foods containing artificially made amylose–lipid complexes (Lockyer & Nugent, 2017; Raigond et al., 2015).

Due to its prebiotic effect, resistant starch contributes to maintenance of colonic health. During fermentation of resistant starch, it is produced high amount of butyrate, which is the principal nutrient of colonocytes and for this reason, resistant starch can reduce the risk of some colonic diseases, including colon cancer (Lockyer & Nugent, 2017). Resistant starch also presents

hypoglycemic and hypocholesterolemic effects. It is not accessible to digestive enzymes, such as  $\alpha$ -amylase and isoamylase and reduces postprandial blood glucose and insulin response, reducing glycemic and insulinemic responses to food. Due to hypocholesterolemic properties, resistant starch can improve cardiovascular health. For these reasons, the consumption of resistant starch improves gut health and can reduce the risk of several diseases, including colon cancer, diabetes and cardiovascular diseases (Chen et al., 2017; Raigond et al., 2015).

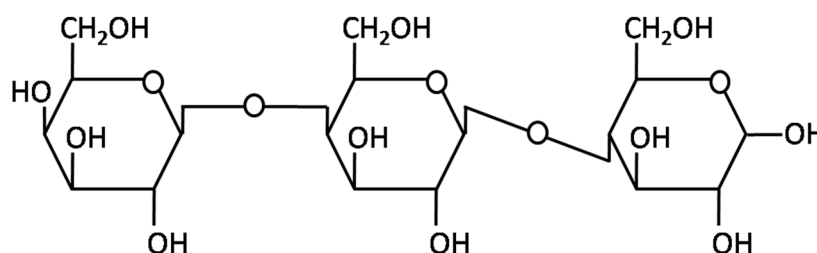
According to European Commission (2012), resistant starch has approved the following health claim: “Replacing digestible starches with resistant starch in a meal contributes to a reduction in the rise of blood glucose after that meal”. This claim may be used in the label only for foods in which digestible starch has been replaced by resistant starch so that the final content of resistant starch is at least 14% of total starch.

#### 1.2.1.2. Soluble dietary fiber (SDF)

SDF is hydrophilic, non-crystalline, and easily wetted by the aqueous gastrointestinal fluid, forming viscous colloidal dispersions or gels when hydrated. It is extensively fermented by gut microflora and it is associated with carbohydrate and lipid metabolism, showing hypocholesterolemic properties (Nair et al., 2010). Due to their properties SDF are widely used in food industry to modify texture and rheology and to influence the colligative properties of food systems, thus improving the market-ability of the food product as health promoting or functional foods (Li et al., 2017).

#### *Oligosaccharides*

Recent definitions of dietary fiber have included oligosaccharides, such as fructo-oligosaccharides (FOS) and galacto-oligosaccharides (GOS) (Figure 5), as sources of DF based on their physiological effects (Shortt et al., 2018).



**Figure 5.** Chemical structure of galacto-oligosaccharides (Ciudad-Mulero et al., 2019)

Oligosaccharides are low molecular weight carbohydrates containing between 3 and 10 sugar units depending on degree of polymerization (Kothari et al., 2014).

Non-digestible oligosaccharides are natural constituents of many foods and often referred to as DF that resists digestion in the human small intestine, such as xylo-oligosaccharides (XOS).

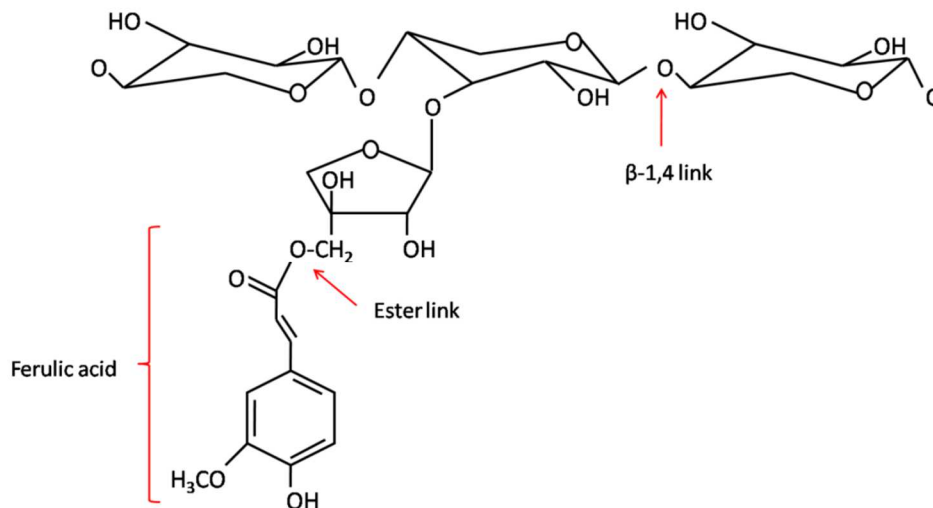
They are associated with many health benefits, including positive effects on fermentation, mineral absorption, barrier function, fat metabolism, as well as, glycemic and insulin responses (Nauta & Garssen, 2013; Ou et al., 2016; Tanabe et al., 2014). In particular, oligosaccharides positively affect to colon health by increasing bifidobacteria and lactic acid bacteria (Rainakari et al., 2016). Non-digestible oligosaccharides act as dietary prebiotics that are selectively fermented ingredients that result in specific changes, in the composition and/or activity of the gastrointestinal microbiota, thus conferring benefits upon consumer's health. Moreover, functional oligosaccharides, as feruloylated oligosaccharides, promote normal flora proliferation and pathogen suppression in the gastrointestinal tract (Fan et al., 2015; Ou et al., 2016, Singh et al., 2017).

FOS are naturally present in asparagus (*Asparagus* spp.), sugar beet (*Beta vulgaris* L.), garlic (*Allium sativum* L.), chicory (*Cichorium intybus* L.), onion (*Allium cepa* L.), Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), wheat (*Triticum* spp.), honey, banana (*Musa* spp.), barley (*Hordeum vulgare* L.), tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and rye (*Secale cereale* L.), whereas, milk (specially breast milk) is the main source of GOS (Singh et al., 2017).

### ***Arabinoxylans***

The arabinoxylans (AX) highlight within the dietary fiber components for its functional effect, both technological and nutritional, providing beneficial effects for the health of consumers.

These compounds are the main non cellulosic polysaccharides in cereals being part of the soluble fraction of the DF (Mendis & Simsek, 2014) and they are made up of a backbone of a linear chain of  $\beta$ -D-(1 $\rightarrow$ 4)-xylopyranose. This chain is substituted on the hydroxyl groups ( $-OH$ ) of the 2- and 3-positions by L-arabinofuranosyl residues linked by  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) glycosidic bonds. Position 5 is commonly replaced with ferulic acid residues (**Figure 6**), allowing cross-link bond formation by the oxidation of ferulic acid present in adjacent AX chains (Belitz & Grosch, 1997; Broekaert et al., 2011; Ciudad-Mulero et al., 2018; Lafiandra et al., 2014).



**Figure 6.** Chemical structure of ferulated arabinoxylan  
(Ciudad-Mulero et al., 2019)

The enzymatic hydrolysis of AX by xylanases and arabinofuranosidases produces arabinoxylan oligosaccharides (AXOS) and xylooligosaccharides (XOS) (Adams et al., 2004), which are also considered dietary fiber and have several health effects, including immunomodulatory effect, hypocholesterolemic effect, control of type 2 diabetes, greater absorption of certain minerals, prebiotic effect, among others (Mendis & Simsek, 2014).

AX can be classified according to their physical properties of solubility, such as extractable in water (WEAX) or non-extractable in water (WUAX). The molecular weight of these polysaccharides varies from 10 to 10,000 kDa in the case of WEAX and exceeds 10,000 kDa in the case of WUAX (Niño-Medina et al., 2010). In the case of cereals, the WUAX are kept in the cell wall joined to other AX and other constituents of the cell through non covalent interactions (hydrogen bonding) and covalent interactions (ester type bond). On the other hand, WEAX are weakly bound to the surface of the cell wall through incomplete cross-linking with other components or they may have undergone an initial enzymatic degradation in the grain (Van Craeyveld, 2009).

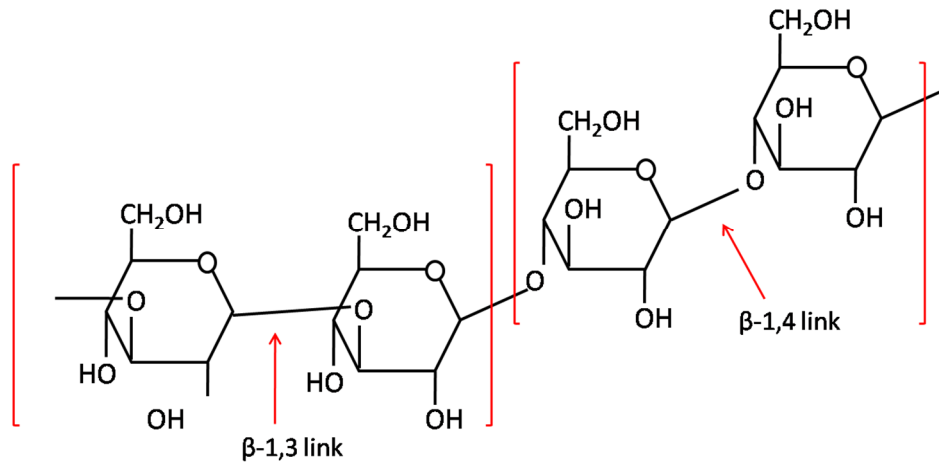
AX and their metabolites have important physiological and metabolic functions and improve health status. These compounds have protective effects against diseases with high prevalence in developed societies such as cardiovascular diseases, diabetes and certain types of cancer. Prebiotic effect of AX has been revealed. These compounds are resistant to gastric acidity, enzymatic hydrolysis and gastrointestinal absorption and they are also fermentable by gut

microbiota. Moreover, AX can selectively stimulate growth and/or activity of intestinal bacteria, such as *Bifidobacterium* or *Lactobacillus*, which are beneficial to health (Broekaert et al., 2011; Gong et al., 2018; Grootaert et al., 2007; Neyrinck et al., 2011; Van Craeyveld, 2009). These compounds also influence the lipidic metabolism by reducing cholesterol and triglyceride levels, because AX promote the excretion of lipids and regulates the activity of HMG-CoA reductase (Grootaert et al., 2007; Neyrinck et al., 2011; Saeed et al., 2011; Tong et al., 2014a). Moreover, AX regulate glycemic metabolism improving blood glucose levels (Lu et al., 2004; Neyrinck et al., 2011). In this sense, according to European Commission (2012), particularly, AX obtained from wheat endosperm have approved the following health claim: “Consumption of AX as part of a meal contributes to a reduction of the blood glucose rise after that meal.” This claim may be used only for food, which contains at least 8 g of AX-rich fiber produced from wheat endosperm (at least 60 % AX by weight) per 100 g of available carbohydrates in a quantified portion as part of the meal. In addition to these health benefits, it is known that AX have antioxidant properties and immunomodulatory effects. This fact can be explained because AX are usually associated with ferulic acid, which is a polyphenol that has antioxidant activity. The increase of antioxidant activity is related with high immune cell functions (Akhtar et al., 2012; Ayala-Soto et al., 2014; Broekaert et al., 2011; Cao et al., 2011; Mendis & Simsek, 2014). Due to their prebiotic effect and their antioxidant and immunomodulatory activities, AX have also an important role in the prevention of colon cancer (Broekaert et al., 2011; Femia et al., 2010; Grootaert et al., 2007).

The main sources of AX are cereals, although they are also found in other foods as bamboo shoots (Dodevska et al., 2013; Qiu et al., 2017).

### ***β-glucans***

β-Glucans are polysaccharides of D-glucose units connected through glycosidic linkages (Figure 7). Their activity is influenced by differences in their structure, size of the polysaccharide chain, branches, and molecular weight. These compounds can be also classified according to its solubility, in soluble or insoluble β-glucans. Soluble viscous β-glucans fibers consist of β-(1→3/1→6)-D-linked glucose, whereas insoluble β-glucans fibers consist of β-(1→3/1→4)-D-linked glucose units (Baldassano et al., 2017; Maheshwari et al., 2017; Sima et al., 2018).



**Figure 7.** Chemical structure of  $\beta$ -glucans (Ciudad-Mulero et al., 2019)

During the later years, the  $\beta$ -glucans have gained much interest in the field of functional foods and actually these compounds are regarded as a potentially health promoting food ingredients (Baldassano et al., 2017). These compounds exhibit a broad spectrum of biological activities including anti-tumor, immune-modulating, anti-aging and anti-inflammatory properties (Zhu et al., 2016). Due to their functional effect and their benefits to human health,  $\beta$ -glucans have approved the following health claim according to European Commission (2012): “ $\beta$ -glucans contribute to the maintenance of normal blood cholesterol levels.” This claim may be used only for food that contains at least 1 g of  $\beta$ -glucans from oats (*Avena sativa* L.), oat bran, barley (*Hordeum vulgare* L.), barley bran, or from mixtures of these sources per quantified portion.

$\beta$ -Glucans are mainly present in endosperm cell walls of cereals, baker’s yeast, certain mushrooms, algae and bacteria (Baldassano et al., 2017; Mohebbi et al., 2018).

The content of dietary fiber (total, insoluble and soluble), arabinoxylans and  $\beta$ -glucans in different **cereals and pulses** is shown in **Table 2**.

**Table 2.** Dietary fiber (total, insoluble and soluble),  $\beta$ -glucans and arabinoxylans content in cereals and pulses (g/100g edible portion)

CEREALS						
	TDF	IDF	SDF	BG	AX	References
<b>Wheat</b> ( <i>Triticum aestivum</i> L., <i>Triticum durum</i> Desf.)	9.2	-	-	0.4	0.5	<a href="#">Dodevska et al., 2013</a>
	12.4	5.4	4.4	0.5	6.9	<a href="#">Escarnot et al., 2015</a> ; <a href="#">Amalraj &amp; Pius, 2015</a>
	11.6-17.0	10.2-14.7	1.4-2.3	-	4.0	<a href="#">De Santis et al., 2018</a> ; <a href="#">Vitaglione et al., 2008</a>
	10.2-15.7	7.2-11.4	1.9-2.9	0.4-0.8	5.1-8.8	<a href="#">Rainakari et al., 2016</a> ; <a href="#">Messia et al., 2017</a>
	-	-	-	-	4.6	<a href="#">Ciccoritti et al., 2011</a>
	12.7-20.0	10.2-18.1	1.8-3.7		2.7-3.6	<a href="#">Marotti et al., 2012</a>
	14.2	-	-	0.6	7.1	<a href="#">Knudsen et al., 2017</a>
13.5	-	-	0.8	5.6	<a href="#">Frølich et al., 2013</a>	
<b>Rice</b> ( <i>Oryza sativa</i> L.)	9.2	1.0-3.8	2.9-5.2	0.4	0.5	<a href="#">Dodevska et al., 2013</a> ; <a href="#">Cáceres et al., 2014</a>
	9.9	5.4	4.4	-	-	<a href="#">Amalraj &amp; Pius, 2015</a>
	2.5	-	-	0.1	0.4	<a href="#">Knudsen et al., 2017</a>
	2.7-4.9	1.9-4.2	0.6-1.1	-	-	<a href="#">Prasad et al., 2018</a>
<b>Corn</b> ( <i>Zea mays</i> L.)	9.2	-	-	nd	1.4	<a href="#">Dodevska et al., 2013</a>
	14.9	9.4	5.4	-	-	<a href="#">Amalraj &amp; Pius, 2015</a>
	13.1-19.6	11.6-16.0	1.5-3.6	-	-	<a href="#">Vitaglione et al., 2008</a>
	11.6	-	-	0.1	4.7	<a href="#">Knudsen et al., 2017</a>
	3.7-8.6	3.1-6.1	0.5-2.5	-	-	<a href="#">Prasanthi et al., 2017</a>
	8.3-10.7	8.0-9.1	0.3-1.6	-	-	<a href="#">Srichuwong et al., 2017</a>

TDF: Total dietary fiber, IDF: Insoluble dietary fiber, SDF: Soluble dietary fiber, BG:  $\beta$ -glucans, AX: Arabinoxylans. nd: non-detected

**Table 2** (continuation).

CEREALS						
	TDF	IDF	SDF	BG	AX	References
<b>Oat</b> <i>(Avena sativa L.)</i>	13.7-30.1	-	11.5-20.0	2.7-3.5	-	Sterna et al., 2016
	10.3	6.5	3.8	2.3-8.5	-	Dhingra et al., 2012; Rasane et al., 2015
	10.6	-	-	4.6-5.6	-	Khan et al., 2016; Tang & Tsao, 2017
	11.5-37.7	8.6-33.9	2.9-3.8	-	-	Vitaglione et al., 2008
	9.8	-	-	3.8	2.1	Knudsen et al., 2017
	10.2-12.1	6.0-7.1	4.1-4.9	-	-	Manthey et al., 1999
	10.2	-	-	5.0	2.0	Frølich et al., 2013
<b>Barley</b> <i>(Hordeum vulgare L.)</i>	15.4-18.1	7.1-10	6.1-9.3	4.7-8.0	3.1-4.1	Honcú et al., 2016
	17.4	11.5	5.9	5.2	4.0-5.4	Collar & Angioloni, 2014; Saeed et al., 2011
	18.0-24.1	-	1.7-3.3	2.3-3.9	8.4-11.4	Teixeira et al., 2016
	16.8-27.9	-	-	3.3-9.2	5.1-9.1	Djurle et al., 2016
	10.1	-	-	3.9-9.5	4.3-9.8	Messia et al., 2017; Tang & Tsao, 2017
	20.8	-	3.0	4.2	-	Šterna et al; 2017
	14.6-27.1	12.0-22.1	2.6-5.0	-	-	Vitaglione et al., 2008
<b>Rye</b> ( <i>Secale cereale L.</i> )	19.9	-	-	1.5	8.9	Frølich et al., 2013
	15.2-20.9	11.1-16.0	3.7-4.5	1.7-2	3.1-4.3	Vitaglione et al., 2008; Nyström et al., 2008
	20.5	-	-	2.0	9.6	Knudsen et al., 2017
	14.7-20.9	10.8-15.9	3.4-6.6	1.3-2.2	8-12.1	Hansen et al., 2003
	9.6	-	3.6	1.5	5.3	Bucsell et al., 2016

TDF: Total dietary fiber, IDF: Insoluble dietary fiber, SDF: Soluble dietary fiber, BG:  $\beta$ -glucans, AX: Arabinoxylans. nd: non-detected

**Table 2** (continuation).

PULSES						
	TDF	IDF	SDF	BG	AX	References
<b>Common bean</b> ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	26.30	20.40	5.93	nd	0.97 – 2.21	Pérez-Hidalgo et al., 1997; Dodevska et al., 2013
	23.00 – 32.00	20.00 – 28.00	3.00 – 6.00	2.40 – 3.50	-	Tosh & Yada, 2010; Demirbas, 2005
	25.60 – 37.60	25.20 – 36.10	0.30 – 1.60	-	-	Campos-Vega et al., 2009
<b>Fava bean</b> ( <i>Vicia faba</i> L.)	13.80	9.07	4.74	-	-	Millar et al., 2019
	24.70	22.70	2.00	-	-	Mattila et al., 2018
<b>Chickpea</b> ( <i>Cicer arietinum</i> L.)	21.05	19.54	1.51	-	-	Martín-Cabrejas et al., 2006
	17.60	12.60	5.00	-	-	Pérez-Hidalgo et al., 1997;
	18.00 – 22.00	10.00 – 18.00	4.00 – 8.00			Tosh & Yada, 2010
<b>Lentil</b> ( <i>Lens culinaris</i> L.)	26.86	24.46	2.40	nd	1.03	Dueñas et al., 2016; Dodevska et al., 2013
	13.11 – 14.70	11.41 – 12.83	1.52 – 2.00	0.40 – 1.10	-	Wang et al., 2009; Demirbas, 2005
	24.31	21.63	2.68	-	-	Martín-Cabrejas et al., 2006
	13.11	8.93	4.17	-	5.49	Ciudad-Mulero et al., 2018
	19.20	17.30	1.83	-	-	Pérez-Hidalgo et al., 1997;
	18.00 – 20.00	11.00 – 17.00	2.00 – 7.00	-	-	Tosh & Yada, 2010
<b>Pea</b> ( <i>Pisum sativum</i> L.)	14.00 – 26.00	10.00 – 15.00	2.00 – 9.00	nd	1.07	Tosh & Yada, 2010; Dodevska et al., 2013
	14.84 – 15.58	9.77 – 10.88	4.92 – 5.08	-	-	Millar et al., 2019
<b>Lupins</b> ( <i>Lupinus</i> sp.)	47.50	42.00	5.50	-	-	Mattila et al., 2018

TDF: Total dietary fiber, IDF: Insoluble dietary fiber, SDF: Soluble dietary fiber, BG:  $\beta$ -glucans, AX: Arabinoxylans. nd: non-detected

### 1.2.1.3. Functional dietary fiber effect and its relation to human health

Whereas dietary fiber (DF) consists of “non digestible carbohydrates and lignin that are intrinsic and intact in plants,” it is reported that functional dietary fiber consists of “isolated, non-digestible carbohydrates that have beneficial physiological effects in humans” (FNB, 2001).

The diets with a high content of DF, such as those rich in cereals, fruits and vegetables, have a demonstrated positive effect on human health. It is known that DF plays an important role in preventing several chronic diseases like obesity, coronary heart disease, and diabetes, and it is also associated with decreasing the prevalence of certain cancers (Dhingra et al., 2012; Kurek et al., 2018).

DF intake, especially intake of whole grains or cereal fiber, tends to delay gastric emptying and create a sense of fullness and increased fiber intake is associated with increases in satiating gut hormones (Anderson et al., 2009).

Soluble dietary fiber (SDF) stimulates postprandial satiety in healthy humans by increasing postprandial levels of gastrointestinal hormones related with satiety (glucagon-like peptide and peptide YY), decreasing postprandial levels of the hormone that stimulates hunger (ghrelin) and by delaying the gastric emptying rate. For these reasons, DF can be useful against *obesity* (Anderson et al., 2009; Giacco et al., 2016; Grooms et al., 2013; Shinozaki et al., 2015).

Moreover, DF, and particularly insoluble dietary fiber (IDF), plays an important role in the *gastrointestinal function*. IDF is especially effective in increasing fecal mass, decreasing intestinal transit time and promoting intestinal regularity. IDF can accelerate colonic transit by the colonic mucosa with mechanical stimulation/irritation with the increasing of secretion and peristalsis process (Anderson et al., 2009; Davison & Temple, 2018; El-Salhy et al., 2017). IDF is used in the management of intestinal disorders, such as constipation, or in the prevention of the development of diverticulosis and diverticulitis (Nandi & Ghosh, 2015). Most non-absorbed carbohydrates have laxative effects, both by increasing bacterial mass or osmotic effects, and by water binding to remaining unfermented fiber (Mudgil & Barak, 2013). In general, cereal fibers are the most effective ones by increasing stool weight and the laxative effect of wheat bran is higher than other food matrix fibers (Slavin, 2013).

As it was already mentioned, different components of DF, including inulin, oligosaccharides, AX and resistant starch, have been reported to have a *prebiotic* role. Prebiotics are defined as selectively fermented ingredients that allow specific changes, both in the composition and/or

activity in the gastrointestinal microbiota, that confer health benefits. This typically turns the composition of intestinal microbiota toward a relative increase in *Bifidobacterium* and/or *Lactobacillus* species (Fuller et al., 2016; Neyrinck et al., 2011; Slavin, 2013). The following requirements must be scientifically demonstrated to consider an ingredient as a prebiotic (García-Amezquita et al., 2018; Slavin, 2013):

- Resistance to gastric acidity, hydrolysis by mammalian enzymes, and gastrointestinal absorption;
- Be fermented by the intestinal microbiota; and
- Selectively stimulate the growth and/or activity of specific intestinal bacteria potentially associated with health benefits.

The intake of prebiotics modifies the intestinal microbiota, promoting growth of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* sp., which are the main bacteria responsible of gut carbohydrate fermentation. The major products from the microbial fermentative activity in the gut are SCFA (short chain fatty acids), in particular, acetate, propionate, and butyrate. These SCFA reduced intestinal pH, improving the bioaccessibility of some minerals, as calcium and magnesium, and increasing the absorption of iron, being useful for the prevention of certain diseases as anemia and osteoporosis (Koh et al., 2016; MacFarlane et al., 2006; Ötles & Ozgoz, 2014; Teitelbaum & Walker, 2002).

Several authors reported a protective correlation between DF intake and *colon cancer* incidence. Especially, fibers from cereals and fruits showed a notable association with decreased colon cancer risk (Ötles & Ozgoz, 2014; Tao et al., 2018). It is accepted that the beneficial effects of a diet rich in DF are derived from the products of their fermentation by colonic microbiota, particularly, the production of butyrate. Among the SCFA, butyrate has been investigated most extensively. It is present at high levels (mM) in the gut lumen, is the primary energy source for colonocytes and also protects against colorectal cancer and inflammation (Encarnação et al., 2015; Koh et al., 2016; Ötles & Ozgoz, 2014; Teitelbaum & Walker, 2002). This SCFA is selectively absorbed in the colonic epithelium and it contributes to colonic homeostasis, having important functions as anti-inflammatory, antioxidant, and anti-carcinogenic actions. The butyrate capacity to act as a chemopreventive agent in a primary phase of colorectal cancer progression is based on its importance in the colon homeostasis, in activation of drug metabolizing enzymes and in its capability to modulate the inflammatory process. Butyrate is also able to inhibit the growth of tumor cells, increasing apoptosis in human

colonic tumor cell lines (Encarnação et al., 2015; Encarnação et al., 2018;  tles & Ozgoz, 2014). As consequence of prebiotic effect of fermentable DF, the amount of pathogenic bacteria decreases in colon and therefore the production of carcinogenic substances are reduced ( tles & Ozgoz, 2014).

A diet based on carbohydrate-rich foods with high fiber content, particularly whole grain products, may also contribute to prevent the metabolic syndrome, type 2 diabetes and cardiovascular diseases (Giacco et al., 2016; Johns et al., 2015; McRae, 2018).

There is an inverse association between DF intake, especially from cereals fibers, and *type 2 diabetes* prevalence (McRae, 2018; Yao et al., 2014). This protective effect of cereal fibers may be explained by the modulating impact of gut microbiota in different ways: improving glucose tolerance by different energy metabolism pathways (colonic fermentation and generation of SCFA), reducing inflammation and altering the immune response (Davison & Temple, 2018), as it will be detailed below:

- SDF can reduce postprandial glucose levels and the average daily blood glucose profile. When SDF is hydrated forming gel can increase the viscosity of stomach content, reducing the postprandial glycemic response. This reduction in postprandial blood glucose is correlated with the viscosity of the meal and the gastric transit time. Therefore, the SDF ability to delay both digestion and absorption of carbohydrates in the small intestine can explain their beneficial effects on postprandial glucose levels. However, the benefits of fiber-rich foods on postprandial glucose response depend not only on their viscosity but also on their ability to reduce the accessibility of starch to digestive enzymes. It is usually that starch granules present in natural fiber-rich foods are enveloped in fiber in order to reduce their interaction with  $\alpha$ -amylases, reducing carbohydrate digestion.

Cereal DF may induce a relatively fast modification of colonic microbiota that, in turn, increases fiber fermentation and SCFA production. SCFA, in particular, propionate may contribute to improve insulin sensitivity, reducing insulin concentrations (Giacco et al., 2016).

- Diets high in fiber (specifically from cereal or vegetable sources) are significantly associated with a lower risk of cardiovascular disease and coronary heart disease (Johns et al., 2015; Threapleton et al., 2013). It is known that SDF has hypocholesterolemic properties; because its intake is related to a decrease of serum cholesterol and LDL

cholesterol concentrations and higher DF consumption is also associated with increased plasma HDL cholesterol, which may contribute to their protective role against coronary heart disease. The hypocholesterolemic mechanisms of SDF include binding bile acids during the formation of micelles in the intestinal lumen, enhancing bile acid excretion and the physiological effects of fermentation products of SDF, mainly propionate (McRae, 2017; Thompkinson et al., 2014; Zhang et al., 2018; Zhou et al., 2015).

- DF plays a multifaceted role in modulating tissue immune responses, inflammation in the intestine, and systemic inflammation. It seems that there is a beneficial relation between ingestion of DF and inflammatory processes. The amount of fiber intake is inversely related to the secretion of IL-6 and C-reactive protein. Butyrate and propionate show anti-inflammatory properties by inhibiting TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-10, and IL-12 cytokines in immune and colonic cells. Diet with high fiber content can increase the proportion of CD8<sup>+</sup> T cells and CD4<sup>+</sup> T cells and increase NK cell activity (Janakiram et al., 2016).

The *metabolic syndrome* is a growing epidemic worldwide characterized by obesity, hyperlipidemia, hypertension, and insulin resistance. DF exerts protective cardiovascular benefits on several aspects of the metabolic syndrome, including waist circumference, blood glucose, dyslipidemia, blood pressure, insulin control, and the regulation of certain inflammatory markers (Jakobsdottir et al., 2014; Merriam et al., 2012).

Due to their functional effect and their benefits to human health, there are some components of dietary fiber with approved health claims that can be included on the food labels in Europe according to the current food labelling regulation (European Commission, 2012; Regulation (EC) No 1924/2006; Regulation (EU) No 1169/2011). These components, their correspondent health claim and the conditions of use of the claim are summarized in **Table 3**.

**Table 3.** Approved health claims related to dietary fiber components ([Regulation \(EU\) No 432/2012](#))

Nutrient, substance, food or food category	Claim	Conditions of use of the claim	Conditions and/or restrictions of use of the food and/or additional statement or warning
<b>Arabinoxylan produced from wheat endosperm</b>	Consumption of arabinoxylan as part of a meal contributes to a reduction of the blood glucose rise after that meal	The claim may be used only for food, which contains at least 8 g of arabinoxylan (AX)-rich fiber produced from wheat endosperm (at least 60 % AX by weight) per 100 g of available carbohydrates in a quantified portion as part of the meal. In order to bear the claim information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained by consuming the arabinoxylan (AX)-rich fiber produced from wheat endosperm as part of the meal.	
<b>Barley grain fiber</b>	Barley grain fiber contributes to an increase in fecal bulk	The claim may be used only for food which is high in that fiber as referred to in the claim 'high fiber' as listed in the Annex to Regulation (EC) No 1924/2006	
<b><math>\beta</math>-glucans</b>	$\beta$ -glucans contribute to the maintenance of normal blood cholesterol levels	The claim may be used only for food, which contains at least 1 g of $\beta$ -glucans from oats, oat bran, barley, barley bran, or from mixtures of these sources per quantified portion. In order to bear the claim information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained with a daily intake of 3 g of $\beta$ -glucans from oats, oat bran, barley, barley bran, or from mixtures of these $\beta$ -glucans.	
<b><math>\beta</math>-glucans from oats and barley</b>	Consumption of $\beta$ -glucans from oats or barley as part of a meal contributes to the reduction of the blood glucose rise after that meal	The claim may be used only for food, which contains at least 4 g of $\beta$ -glucans from oats or barley for each 30 g of available carbohydrates in a quantified portion as part of the meal. In order to bear the claim information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained by consuming the $\beta$ -glucans from oats or barley as part of the meal.	

**Table 3** (continuation).

Nutrient, substance, food or food category	Claim	Conditions of use of the claim	Conditions and/or restrictions of use of the food and/or additional statement or warning
<b>Guar Gum</b>	Guar gum contributes to the maintenance of normal blood cholesterol levels	The claim may be used only for food, which provides a daily intake of 10 g of guar gum. In order to bear the claim, information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained with a daily intake of 10 g of guar gum.	Warning of choking to be given for people with swallowing difficulties or when ingesting with inadequate fluid intake (advice on taking with plenty of water to ensure substance reaches stomach).
<b>Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)</b>	Consumption of Hydroxypropyl methylcellulose with a meal contributes to a reduction in the blood glucose rise after that meal	The claim may be used only for food, which contains 4 g of HPMC per quantified portion as part of the meal. In order to bear the claim information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained by consuming 4 g of HPMC as part of the meal.	Warning of choking to be given for people with swallowing difficulties or when ingesting with inadequate fluid intake (advice on taking with plenty of water to ensure substance reaches stomach).
<b>Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)</b>	Hydroxypropyl methylcellulose contributes to the maintenance of normal blood cholesterol levels	The claim may be used only for food, which provides a daily intake of 5 g of HPMC. In order to bear the claim information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained with a daily intake of 5 g of HPMC.	Warning of choking to be given for people with swallowing difficulties or when ingesting with inadequate fluid intake (advice on taking with plenty of water to ensure substance reaches stomach).

**Table 3** (continuation).

Nutrient, substance, food or food category	Claim	Conditions of use of the claim	Conditions and/or restrictions of use of the food and/or additional statement or warning
<b>Oat grain fiber</b>	Oat grain fiber contributes to an increase in fecal bulk	The claim may be used only for food which is high in that fiber as referred to in the claim 'high fiber' as listed in the Annex to Regulation (EC) No 1924/2006.	
<b>Pectins</b>	Pectins contribute to the maintenance of normal blood cholesterol levels	The claim may be used only for food, which provides a daily intake of 6 g of pectins. In order to bear the claim information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained with a daily intake of 6 g of pectins.	Warning of choking to be given for people with swallowing difficulties or when ingesting with inadequate fluid intake (advice on taking with plenty of water to ensure substance reaches stomach).
<b>Pectins</b>	Consumption of pectins with a meal contributes to the reduction of the blood glucose rise after that meal	The claim may be used only for food, which contains 10 g of pectins per quantified portion. In order to bear the claim, information shall be given to the consumer that the beneficial effect is obtained by consuming 10 g of pectins as part of the meal.	Warning of choking to be given for people with swallowing difficulties or when ingesting with inadequate fluid intake (advice on taking with plenty of water to ensure substance reaches stomach).
<b>Resistant starch</b>	Replacing digestible starches with resistant starch in a meal contributes to a reduction in the blood glucose rise after that meal.	The claim may be used only for food in which digestible starch has been replaced by resistant starch so that the final content of resistant starch is at least 14 % of total starch.	

**Table 3** (continuation).

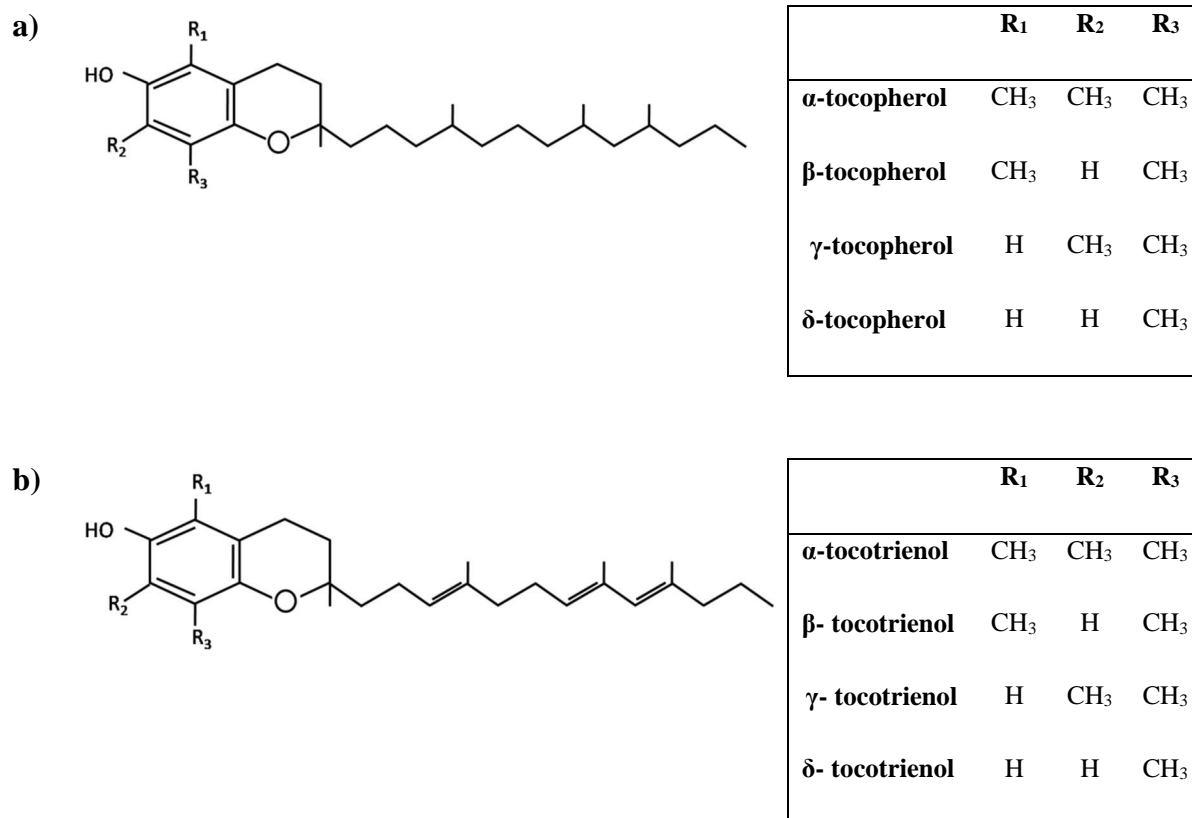
Nutrient, substance, food or food category	Claim	Conditions of use of the claim	Conditions and/or restrictions of use of the food and/or additional statement or warning
<b>Rye fiber</b>	Rye fiber contributes to normal bowel function	The claim may be used only for food which is high in that fiber as referred to in the claim 'high fiber' as listed in the Annex to Regulation (EC) No 1924/2006.	
<b>Wheat bran fiber</b>	Wheat bran fiber contributes to an acceleration of intestinal transit	The claim may be used only for food which is high in that fiber as referred to in the claim 'high fiber' as listed in the Annex to Regulation (EC) No 1924/2006. In order to bear the claim information shall be given to the consumer that the claimed effect is obtained with a daily intake of at least 10 g of wheat bran fiber.	
<b>Wheat bran fiber</b>	Wheat bran fiber contributes to an increase in fecal bulk	The claim may be used only for food which is high in that fiber as referred to in the claim 'high fiber' as listed in the Annex to Regulation (EC) No 1924/2006.	
<b>Sugar beet fiber</b>	Sugar beet fiber contributes to an increase in fecal bulk	The claim may be used only for food which is high in that fiber as referred to in the claim 'high fiber' as listed in the Annex to Regulation (EC) No 1924/2006.	
<b>Native chicory inulin</b>	Chicory inulin contributes to normal bowel function by increasing stool frequency	Information shall be provided to the consumer that the beneficial effect is obtained with a daily intake of 12 g chicory inulin. The claim can be used only for food, which provides at least a daily intake of 12 g of native chicory inulin, a non-fractionated mixture of monosaccharides (< 10 %), disaccharides, inulin-type fructans and inulin extracted from chicory, with a mean degree of polymerisation $\geq 9$ .	

Table 3 (continuation).

Nutrient, substance, food or food category	Claim	Conditions of use of the claim	Conditions and/or restrictions of use of the food and/or additional statement or warning
Non-fermentable carbohydrates	Consumption of foods/drinks containing non-fermentable carbohydrates instead of fermentable carbohydrates contributes to the maintenance of tooth mineralization.	In order to bear the claim, fermentable carbohydrates (1) should be replaced in foods or drinks by non-fermentable carbohydrates (2) in such amounts that consumption of such foods or drinks does not lower plaque pH below 5,7 during and up to 30 minutes after consumption. (1) Fermentable carbohydrates are defined as carbohydrates or carbohydrate mixtures as consumed in foods or beverages that lower plaque pH below 5,7, as determined <i>in vivo</i> or <i>in situ</i> by plaque pH telemetry tests, by bacterial fermentation during and up to 30 minutes after consumption. (2) Non-fermentable carbohydrates are defined as carbohydrates or carbohydrate mixtures as consumed in foods or beverages that do not lower plaque pH, as determined <i>in vivo</i> or <i>in situ</i> by plaque pH telemetry tests, below a conservative value of 5,7 by bacterial fermentation during and up to 30 minutes after consumption.	
Non-digestible carbohydrates	Consumption of foods/drinks containing non-fermentable carbohydrates instead of sugars induces a lower blood glucose rise after their consumption compared to sugar-containing foods/ drinks.	In order to bear the claim, sugars should be replaced in foods or drinks by non-digestible carbohydrates, which are carbohydrates neither digested nor absorbed in the small intestine, so that foods or drinks contain reduced amounts of sugars by at least the amount referred to in the claim REDUCED [NAME OF NUTRIENT] as listed in the Annex to Regulation (EC) No 1924/2006.	

### 1.2.2. Tocopherols in cereals and pulses

The term “vitamin E” is usually applied to designate a family of eight chemically related fat-soluble compounds, namely tocopherols ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ - and  $\gamma$ - tocopherol) and tocotrienols ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ - and  $\gamma$ - tocotrienol). These compounds share a common chemical structure constituted by a chromanol head and an isoprene side chain. Tocopherols and tocotrienols differ in the saturation of the side chain, which is saturated in the case of tocopherols, while in tocotrienols it has three double bonds between positions 3, 7 and 11 (**Figure 8**). This side chain is hydrophobic and can penetrate biological membranes. The chromanol ring has a –OH group with the ability to donate a hydrogen atom in order to reduce free radicals. The isoform of vitamin E with the highest biological activity is  $\alpha$ -tocopherol (Gülçin et al., 2012; Heleno et al., 2010).



**Figure 8.** Chemical structure of tocopherols (a) and tocotrienols (b)

(adapted from Peh et al., 2016)

The major isoforms in cereal grains are  $\alpha$ - and  $\beta$ -tocopherol (Hussain et al., 2012), while  $\gamma$ -tocopherol is the most abundant vitamer in pulses (Boschin & Arnoldi, 2011; Padhi et al., 2017; Frias et al., 2005; Zhang et al., 2014; Kan et al., 2017). Moreover,  $\gamma$ -tocopherol is referred to be the most efficient vitamer in preventing food autoxidation (Boschin & Arnoldi, 2011). **Table 4** shows the content of tocopherols in different cereals and pulses.

**Table 4.** Tocopherols content in cereals and pulses (mg/100 g, dry weight)

CEREALS						
	$\alpha$ -tocopherol	$\beta$ -tocopherol	$\gamma$ -tocopherol	$\delta$ -tocopherol	total-tocopherol	References
<b>Wheat</b> ( <i>Triticum aestivum</i> L., <i>Triticum durum</i> Desf.)	0.85 – 1.37	0.43 – 0.52	-	-	-	Hejtmánková et al., 2010
	2.40	0.64	-	-	-	Kim & Kim, 2016
	1.52	0.78	-	-	-	Nielsen & Hansen, 2008
	1.33	0.64	-	-	-	Labuschagne et al., 2017
	1.44	0.64	-	-	-	Lampi et al., 2010
	0.45 – 1.97	0.21 – 0.61	nd	nd	-	Lachman et al., 2018
	0.07 – 0.52	0.12 – 0.29	nd – 0.13	nd	-	Okarter et al., 2010
	1.57	-	-	-	1.57	Wyatt et al., 1998
	0.64	0.21	-	-	0.84	Zielinski et al., 2001a
<b>Rice</b> ( <i>Oryza sativa</i> L.)	0.11	-	-	-	0.11	Wyatt et al., 1998
	nd – 0.85	-	0.40 – 0.67	-	0.67 – 1.33	Aguilar-Garcia et al., 2007
	0.28 – 1.10	0.03 – 0.06	0.14 – 0.70	0.02 – 0.05	-	Shammugasamy et al., 2015
	0.24 – 4.91	0.01 – 0.76	0.13 – 2.75	0.003 – 0.47	0.30 – 10.55	Goufo & Trindade, 2014
<b>Corn</b> ( <i>Zea mays</i> L.)	1.60	-	-	-	-	Ryan et al., 2007
	2.26	-	5.80	-	8.06	Wyatt et al., 1998
	0.40 – 7.48	-	0.28 – 7.82	0.02 – 0.53	1.96 – 12.07	Chander et al., 2008

nd: non-detected

**Table 4** (continuation).

CEREALS						
	$\alpha$ -tocopherol	$\beta$ -tocopherol	$\gamma$ -tocopherol	$\delta$ -tocopherol	total-tocopherol	References
<b>Oat</b> ( <i>Avena sativa</i> L.)	0.76	-	-	-	0.76	Wyatt et al., 1998
	0.70 – 1.80	-	-	-	-	Van den Broeck et al., 2016
	0.02 – 0.58	1.24 – 1.38	-	-	-	Bryngelsson et al., 2002
	0.21	0.05	-	-	0.26	Zielinski et al., 2001a
<b>Barley</b> ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	0.54	0.05	0.17	0.04	-	Nielsen & Hansen, 2008
	0.95 – 1.06	-	0.06 – 0.34	nd – 0.03	-	Lachman et al., 2018
	1.50	-	-	-	-	Ryan et al., 2007
	0.29	0.01	-	0.02	0.32	Zielinski et al., 2001a
<b>Rye</b> ( <i>Secale cereale</i> L.)	0.94	0.25	-	-	-	Nielsen & Hansen, 2008
	0.30	-	-	-	-	Ryan et al., 2007
	1.10	0.21	-	0.003	1.31	Zielinski et al., 2001a
PULSES						
	$\alpha$ -tocopherol	$\beta$ -tocopherol	$\gamma$ -tocopherol	$\delta$ -tocopherol	total-tocopherol	References
<b>Common bean</b> ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	nd	-	2.56 – 4.85	4.74 – 5.60	6.44 – 8.60	Boschin & Arnoldi, 2011
	nd – 0.23	-	2.25 – 3.37	nd	2.25 – 3.58	Padhi et al., 2017
	nd	-	1.0 – 2.38	0.18 – 5.31	1.22 – 6.75	Kan et al., 2018
	-	-	1.28 - 3.06	nd – 5.15	1.28 – 6.84	Kan et al., 2017
<b>Fava bean</b> ( <i>Vicia faba</i> L.)	0.49 – 0.84	-	4.74 – 5.60	0.09 – 0.10	5.43 – 6.19	Boschin & Arnoldi, 2011
	-	-	-	-	0.94	Fernández-Marín et al., 2014
	nd	-	0.78 – 1.16	0.12 – 0.18	0.90 – 1.33	Kan et al., 2018

nd: non-detected

**Table 4** (continuation).

PULSES						
	$\alpha$ - tocopherol	$\beta$ - tocopherol	$\gamma$ - tocopherol	$\delta$ - tocopherol	total- tocopherol	References
<b>Chickpea</b> ( <i>Cicer arietinum</i> L.)	1.76 – 2.11	-	6.44 – 8.60	0.47 – 0.60	8.67 – 11.3	Boschin & Arnoldi, 2011
	-	-	-	-	6.49	Fernández-Marín et al., 2014
	0.32 – 2.16	-	12.60 – 14.18	0.71 – 1.26	15.03 – 17.05	Padhi et al., 2017
	2.36	-	8.52	0.76	11.71	Sarmiento et al., 2015
<b>Lentil</b> ( <i>Lens culinaris</i> L.)	0.25 – 0.40	-	3.72 – 5.00	0.05 – 0.06	4.02 – 5.46	Boschin & Arnoldi, 2011
	0.05	-	2.50	-	2.55	Ciudad-Mulero et al., 2018
	0.16	-	5.95	0.06	6.17	Morales et al., 2015b
	-	-	-	-	0.91	Fernández-Marín et al., 2014
	0.22 – 0.44	-	2.75 – 4.18	nd	2.97 – 4.62	Padhi et al., 2017
	nd	-	1.62 – 3.75	0.38 – 0.44	2.06 – 4.13	Kan et al., 2018
	0.02 – 0.09	-	3.63 – 6.35	0.03 – 0.13	3.74 – 6.44	Zhang et al., 2014
<b>Pea</b> ( <i>Pisum sativum</i> L.)	0.07 – 0.15	-	5.65 – 13.30	0.16 – 0.89	6.54 – 14.00	Boschin & Arnoldi, 2011
	-	-	-	-	3.15 – 3.18	Fernández-Marín et al., 2014
	0.21 - 0.24	-	4.61 – 5.42	nd	4.84 – 5.70	Padhi et al., 2017
	nd – 0.96	-	0.62 – 1.90	0.04 – 5.14	0.85 – 6.26	Kan et al., 2018
<b>Lupins</b> ( <i>Lupinus</i> spp.)	nd – 0.55	-	6.12 – 13.00	nd – 0.26	6.32 – 13.40	Boschin & Arnoldi, 2011
	0.19	-	20.1	0.25	-	Frias et al., 2005

nd: non-detected

### 1.2.2.1. Tocopherols relation to human health

Tocopherols are potent antioxidants as they are able to interrupt the chain reactions that are responsible for lipid peroxidation processes (Boschin & Arnoldi, 2011). These compounds play an important role in anti-inflammatory processes, and a deficiency in tocopherols is related to several disorders, including coronary diseases and neuromuscular problems (Fernández-Marín et al., 2014). A healthy dietary pattern that includes cereals, pulses, fruits and vegetables produces a higher serum concentration of tocopherols and is associated with a reduction in serum inflammation biomarkers and a lower risk of cardiovascular disease (Wood et al., 2014).

Several clinical trials have assessed the health effects of vitamin E. Overall these studies tested the effect of tocopherol supplementation on the prevention of various pathologies.

In regard to the effect of tocopherols on *cardiovascular health*, various studies have found that tocopherol dietary supplementation has a beneficial effect on the prevention of a range of cardiovascular diseases (Mah et al., 2013; Nagao et al., 2012). However, other studies have reported that vitamin E supplementation had no significant effect on the prevention of cardiovascular risk (Sesso et al., 2008). In 2012, Nagao et al. conducted a nested case-control study with the aim of evaluating the link between serum levels of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol and the risk of mortality from cardiovascular disease among the Japanese population. They found no association between levels of  $\alpha$ - or  $\gamma$ -tocopherol and mortality from coronary heart disease in men or women. However, in the same study the authors observed that the serum levels of these tocopherols were associated with mortality from hemorrhagic and ischemic stroke, although this association differed in men or women. In men, serum levels of  $\gamma$ -tocopherol were associated with lower mortality from ischemic stroke, whereas in women, serum  $\gamma$ -tocopherol was related to increased mortality from hemorrhagic stroke, and serum  $\alpha$ -tocopherol with lower mortality from total and hemorrhagic strokes (Nagao et al., 2012). In 2013, Mah et al. studied the protective role of tocopherols against vascular dysfunction caused by postprandial hyperglycemia, which is associated with higher oxidative stress. The authors designed a randomized crossover single-blind study and observed that tocopherol supplementation preserved vascular endothelial function in healthy young men (Mah et al., 2013).

On the other hand, Sesso et al. (2008) designed a randomized double-blind placebo-controlled factorial trial to evaluate the positive (benefit) or negative (risk) effect of vitamin E supplementation (400 IU of synthetic  $\alpha$ -tocopherol) in the prevention of cardiovascular disease. This study enrolled 14,641 participants (male physicians aged  $\geq 50$  years) who were treated

with placebo or vitamin supplement during an average of eight years. The authors found that vitamin E supplementation did not reduce either the risk of major cardiovascular events (myocardial infarction, total stroke, cardiovascular death) or of other cardiovascular events such as congestive heart failure, coronary revascularization, angina or total mortality. The results of this study did not support the notion that vitamin E supplements were effective in preventing cardiovascular disease in men over 50 years (Sesso et al., 2008).

In view of their anti-inflammatory properties, the beneficial effect of tocopherols has also been studied on *respiratory pathologies*. Burbank et al. (2018) performed a double-blind placebo-controlled crossover study in which the participants were asthmatic patients. The results showed that after 14 days of supplementation with  $\gamma$ -tocopherol, there was a reduction in sputum mucin content and in eosinophilic inflammation of the airways, suggesting that  $\gamma$ -tocopherol could be used to improve several symptoms of asthma such as mucous production and airway inflammation (Burbank et al., 2018).

Tocopherols have also demonstrated *anticarcinogenic activities*. Yang et al. (2010) reported the anti-inflammatory and anticarcinogenic activities of  $\gamma$ -tocopherol, specifically in the lung and colon (Yang et al., 2010). In a multicenter cohort study, it was also observed that higher plasma concentrations of  $\alpha$ -tocopherol tended to be inversely associated with pancreatic cancer (Jeurnink et al., 2015). However, the results obtained by Lance et al. (2017) for colorectal cancer in a randomized trial suggested that vitamin E (as  $\alpha$ -tocopherol) supplementation cannot be recommended for the prevention of colorectal adenoma as it had no effect on either the occurrence or location of the adenoma (Lance et al., 2017). Tocopherol supplementation had a negative effect in the case of prostate cancer, as shown by the results obtained by Klein et al. (2011), who conducted a study of healthy men with average risk of this cancer. Participants were randomized into different groups in order to study the effect of vitamin E supplementation (400 IU/day of  $\alpha$ -tocopherol), and the authors observed that this supplementation significantly increased the risk of prostate cancer among healthy men (Klein et al., 2011).

### 1.2.3. Phenolic compounds in cereals and pulses

Phenolic compounds are bioactive secondary plant metabolites synthesized during the normal development of the plant or as a response to stress conditions in order to protect against predators, pathogens, parasites or UV radiation. They are essential for plant growth and

reproduction and contribute to sensory and pigment characteristics. Phenolic compounds can also neutralize the actions of free radicals as they have radical scavenging properties, and can modulate the activity of enzymes implicated in oxidation processes. The chemical structure of phenolic compounds is constituted by an aromatic ring that has one or more hydroxyl groups. This group of bioactive compounds comprises a wide range of molecules usually known as “polyphenols” that can be classified in different groups according to their structure. The most abundant polyphenols in cereals and pulses are phenolic acids, flavonoids and tannins (Balasundram et al., 2006; Barros Santos et al., 2019; Carvalho et al., 2015; Sreerama et al., 2010; Stojanović et al., 2014). **Table 5** shows the total phenolic content in different cereals and pulses.

**Table 5.** Total phenolic content in cereals and pulses (mg/100 g, dry weight)

CEREALS		
	Total phenolic content	References
<b>Wheat</b> ( <i>Triticum aestivum</i> L., <i>Triticum durum</i> Desf.)	170.9 – 199.0	Mpofu et al., 2006
	346.7	Prajapati et al., 2013
	105 - 257	Abozed et al., 2014
<b>Rice</b> ( <i>Oryza sativa</i> L.)	80.3 – 88.5	Gujral et al., 2012
	38.9	Prajapati et al., 2013
<b>Corn</b> ( <i>Zea mays</i> L.)	244.9	Prajapati et al., 2013
	115.4 – 175.5	Bacchetti et al., 2013
<b>Oat</b> ( <i>Avena sativa</i> L.)	101.7 – 151.9	Tong et al., 2014b
	120.1 – 168.4	Multari et al., 2018
<b>Barley</b> ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	106	Ha et al., 2016
	25.14 – 40.38	Kim et al., 2007
<b>Rye</b> ( <i>Secale cereale</i> L.)	48.2 – 58.6	Warechowska et al., 2019
	120 - 219	Mishra et al., 2017

**Table 5** (continuation).

PULSES		
	Total phenolic content	References
<b>Common bean</b> ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	418.4	Grela et al., 2017b
	14.70	Lafarga et al., 2019
<b>Fava bean</b> ( <i>Vicia faba</i> L.)	366.7	Grela et al., 2017b
	32.08	Lafarga et al., 2019
	2.88 – 36.67	Magalhães et al., 2017
<b>Chickpea</b> ( <i>Cicer arietinum</i> L.)	459.7	Grela et al., 2017b
	14.24	Lafarga et al., 2019
	2.75 - 12.78	Magalhães et al., 2017
<b>Lentil</b> ( <i>Lens culinaris</i> L.)	220	Han & Baik, 2008
	398.3	Grela et al., 2017b
	19.06	Lafarga et al., 2019
<b>Pea</b> ( <i>Pisum sativum</i> L.)	1180 - 1200	Han & Baik, 2008
	189.7 – 225.6	Grela et al., 2017b
	17.93	Lafarga et al., 2019
<b>Lupins</b> ( <i>Lupinus</i> spp.)	120 - 250	Han & Baik, 2008
	273.5 – 328.9	Grela et al., 2017b
	13.03 - 115.68	Magalhães et al., 2017

### 1.2.3.1 Phenolic acids and its relation to human health

Phenolic acids can be classified in two subgroups, namely hydroxybenzoic (p-hydroxybenzoic, gallic, vanillic, syringic and protocatechuic acids) and hydroxycinnamic acids (p-coumaric, ferulic, caffeic and sinapic acids). These compounds have been found to have antioxidant and anti-inflammatory properties (Balasundram et al., 2006; Durazzo et al., 2019).

Phenolic acids are associated with health benefits. In particular, Bumrungpert et al. (2018) reported a positive effect on different parameters associated with *cardiovascular diseases* thanks to diet supplementation with ferulic acid. These authors designed a randomized, double-blind placebo-controlled trial in which participants were randomly assigned to two groups. The

treatment group received ferulic acid supplementation, while the control group received maltodextrin as placebo. As a result of this clinical trial, the researchers reported that ferulic acid supplementation can decrease the risk of cardiovascular pathology as it may improve lipid profiles and reduce inflammation and oxidative stress in hyperlipidemic subjects (Bumrungpert et al. 2018).

In regard to *neurodegenerative diseases*, derivative compounds of ferulic acid are currently being studied in mice models as protective agents against Alzheimer's disease (Jung et al., 2016; Zhu et al., 2018).

Ferulic acids have also demonstrated important *antitumor activities*, and this compound is known to inhibit the growth and the metastasis of breast cancer cells *in vitro* and in mice (Zhang et al., 2016). It has also been suggested that ferulic acid exhibits *in vitro* anticarcinogenic properties against human pancreatic cancer cell lines (Fahrioglu et al., 2016).

### 1.2.3.2. Flavonoids and its relation to human health

Flavonoids are antioxidant compounds that reduce markers for oxidative and inflammatory processes. Their antioxidant activity is attributed to the presence of an ortho-phenolic hydroxyl group (López et al., 2013). This family of phenolic compounds comprises flavones, isoflavones, flavonols, flavanols, flavanones and anthocyanins (Maleki et al., 2019; Petrilli et al., 2016).

Due to their antioxidant properties, flavonoids may be used by the food industry as functional ingredients, and these compounds can also be consumed as dietary supplements since they offer numerous benefits for human health (Sreerama et al., 2010). The effects of supplementation with pure epicatechin and quercetin on vascular function and *cardiometabolic health* has been investigated by designing a randomized double-blind placebo-controlled crossover study in which participants received epicatechin, quercetin or placebo supplementation. The results of this study showed that epicatechin plays a positive role on insulin resistance, while neither epicatechin nor quercetin had effects on endothelial function or other markers of cardiometabolic health (Dower et al., 2015).

Rossi et al. (2019) analyzed data from a multicentric case-control study with the aim of investigating the relation between several classes of flavonoids and total flavonoids and the risk of developing bladder *cancer*. The authors used a validated and reproducible food-frequency questionnaire in order to estimate the participants' flavonoid intake (derived mainly from the consumption of fruits, pulses, tea and wine). The flavonoids considered included flavan-3-ols

(epicatechin and catechin), flavanones (hesperetin and naringenin), flavonols (quercetin), flavones (cyanidin, apigenin and luteolin), isoflavones (genistein) and anthocyanidins (malvidin), and the results pointed to an inverse relationship between the dietary intake of flavones and isoflavones and the risk of bladder cancer. However, the other classes of flavonoids (e.g. anthocyanidins) did not show any significant results (Rossi et al., 2019). Prospective studies have also suggested that treatment with flavonoids appears to be effective in preventing other types of cancer, such as colon neoplasia (Hoensch et al., 2008) and ovarian cancer (Gates et al., 2007).

### 1.2.3.3. Tannins and its relation to human health

Tannins are complex procyanidin compounds formed from the condensation of monomeric units of catechins and epicatechins, and can be classified as hydrolyzable (formed by the esterification of gallic acid and glucose) or condensed tannins, also known as proanthocyanidins (formed by polymerization of flavan-3-ol monomers). Condensed tannins are abundant in foods of plant origin and have sensory properties; they also exhibit several biochemical activities, including antioxidant and protein-binding capacity, lipid-lowering effect and metal chelating activity (Li et al., 2019; Petrilli et al., 2016).

Most of the studies that evaluate the health benefits of tannins are performed in experimental animals. Tannins have been reported to have beneficial effects against *cardiovascular disease*. These compounds exert a hypolipidemic effect by binding bile acids in mice (Matsumoto et al., 2010) and, tannic acid in particular has exhibited a lowering effect on blood pressure in hypertensive rats (Coşan et al., 2015). Proanthocyanidins (condensed tannins) can also modify levels of oxidative stress enzyme in rats, inhibit cell proliferation, and have protective properties against liver *cancer* (Sherif et al., 2017).

Proanthocyanidins (condensed tannins) have exhibited *renoprotective effects* in humans. Ivey et al. (2013) investigated the association between the dietary intake of proanthocyanidins and renal outcomes in elderly women, and observed that the consumption of proanthocyanidins may improve renal function by preventing the risk of chronic kidney diseases. The authors specifically indicate that the beneficial effects were observed with a daily consumption of 141 mg of proanthocyanidins (considered as moderate intake), equivalent to an approximate intake of 50 grams of beans (Ivey et al., 2013).

### 1.3. STRATEGIES FOR IMPROVING THE NUTRITIONAL PROFILE AND BIOACTIVE COMPOUNDS OF FLOURS

Given that both cereals and pulses are staple foods that play a key role in the human diet, it is highly desirable to find ways to improve their nutritional quality. There are a range of techniques currently available for this purpose which are able to increase the content of bioactive compounds and reduce the presence of compounds that act as anti-nutrients.

In the case of cereals, and specifically wheat, **programmes for improving traditional genetics** are being developed in order to obtain varieties of soft wheat (*Triticum aestivum* L.) and durum wheat (*Triticum turgidum* L.) that have a greater content in mineral elements (Fe, Zn, Cu, Mg, K, etc.) and other bioactive compounds such as fibre, arabinoxylans and phenolic compounds, which have numerous benefits for human health ([Proyecto AGL2012-38345](#)).

The food industry is increasingly using pulses as ingredients for the development and preparation of new products such as snacks. This has required the application of various technological processes, including particularly extrusion, to achieve suitable organoleptic characteristics for these food products. This technology enables food products to be obtained from pulses that are characterised by their high nutritional value, as the conditions in the extrusion process (short bursts of high temperatures and high pressure) reduce the presence of compounds considered anti-nutrients (trypsin inhibitors, phytates, lectins) and increase the content of certain beneficial compounds such as fibre, while simultaneously developing certain unique organoleptic features in terms of texture, aromas, etc.

#### 1.3.1. Traditional genetic improvement

Genetic improvement was first practised when humans ceased to be nomadic and began to settle in one place, when they began the cultivation of plant species intended for food for humans. Primitive man thus embarked on a process of empirical improvement that consisted of observing plants and subsequently selecting from among their descendants. This whole process was carried out without any scientific knowledge of genetics based on mere observation ([Cubero, 2003](#); [Socias et al., 2014](#)).

This automatic selection process gave rise to the first “varieties”, which were almost identical to their parents in the wild, but already different in certain fundamental aspects, as their

reproduction was controlled by humans. This process of *intuitive improvement* lasted until the necessary scientific knowledge was acquired to operate in a different way, coinciding with the emergence of what is known as *scientific agriculture*, which arose when agricultural techniques began to be applied from a more scientific point of view than in traditional agriculture in order to solve problems deriving from food shortages caused by the depopulation of the countryside and the increasing overcrowding of cities during the industrial revolution in the 18th century.

One essential characteristic of this new agriculture is the application of *scientific improvement*, based on the discovery of the sexual reproduction of plants. Thanks to this knowledge, crosses began to be designed between different varieties. Soft wheats and durum wheats were first crossed in 1878 in order to increase their yield and productivity (Cubero, 2003).

Subsequently in the 20th century, Mendel's laws laid the scientific foundations for traditional genetic improvement, consisting of applying selection processes combined with crosses between different species or varieties with the aim of obtaining plants with certain characteristics (Cubero, 2003; Socias et al., 2014). These traditional techniques for genetic improvement have been constantly used and have undergone numerous advances designed to resolve problems concerning crop yields, adaptation to the geographic environment and pest resistance, among others. Genetic improvement techniques have also been applied to improve the quality of many plant-based foods (Socias et al., 2014).

The quality of the raw materials conditions their use in all the links of the food chain, from primary production until they reach the final consumer, including their different stages of transformation into numerous food products. The term quality is a complex concept covering several aspects, including agronomic quality, functional or technological quality and nutritional quality (Rubianes Manzano, 2007).

Specifically, the *agronomic quality* of wheat refers to the productivity and yield of the grains, which depend on the capacity of the wheat varieties to adapt to different environmental conditions. Genetic improvement brings advantages in this field, as it produces varieties that are resistant to adverse environmental situations (periods of drought, extreme temperatures, terrain with a high salt concentration, etc.), so that the high yield of the seeds is guaranteed in areas with unfavourable conditions (Kong et al., 2013; Rubianes Manzano, 2007).

The *functional or technological quality* of the wheat is defined by the suitability of the flours or meals for making bread or pasta respectively. This aspect of quality is influenced mainly by

the type and quantity of the proteins present in the endosperm of the wheat grain, as these proteins (mainly glutenins and gliadins) determine the rheological properties of the dough. It is difficult to improve the quantity of the proteins in the endosperm due to their low heritability and their negative correlation with yield, thus making it important to identify the specific proteins present in the different varieties of wheat and study their relation with the technological quality of the grains. By identifying the proteins that confer good functional properties on the flour, it is possible to selectively transfer genes by crossing, in order to obtain new and higher-quality varieties of soft wheat and durum wheat (Carrillo et al., 2000; Metakovsky et al., 2019; Proyecto AGL2012-38345). The functional or technological quality of the wheat flour is also conditioned by the hardness of the grain. This parameter determines the behaviour of the starch during milling and affects the flour's capacity to absorb water (Gómez Pallarés et al., 2007; Proyecto AGL2012-38345). The genetic factor with the greatest influence over this factor is related with two proteins in the friabilin family known as puroindolines a and b. Several mutations of puroindolines have been found with different repercussions on flour texture (Ikeda et al., 2005; Proyecto AGL2012-38345).

Finally, the grain's *nutritional content* refers to the nutrient value of the products that are prepared from this cereal (Rubianes Manzano, 2007). Techniques for traditional genetic improvement are currently being applied to improve the nutritional quality and content of various bioactive compounds in different soft wheat (*Triticum aestivum* L.) and durum wheat (*Triticum turgidum* L.) flours. To achieve these objectives, the genetic improvement focuses on different aspects such as: (1) the genetic analysis of mutations with a greater amylose content, (2) the analysis of variability in the genetic basis of the mineral content, and (3) the analysis of the composition and variability of bioactive compounds of a carbohydrate (fibre, arabinoxylans, etc.) and phenolic nature (Carrillo, 2012; Proyecto AGL2012-38345). The application of genetic improvement techniques aimed at improving the nutritional quality of various wheat flours is extremely important from the point of view of public health, as this cereal plays a vital role in feeding the world's population. These techniques may potentially lead to the acquisition of wheat varieties whose starch has a greater proportion of amylose and a low or null amylopectin content (Hallström et al., 2011; Lafiandra et al., 2010; Morell et al., 2005). The high amylose content alters the properties of the starch as the granules become distorted, thus significantly reducing their digestibility. Starch with a high amylose content represents a source of resistant starch, whose numerous benefits for the health have been described previously (see section 1.2.1.1.). However it is important to note that the acquisition of high-amylose wheats is

very complex due to the high number of enzymes involved in the process ([Proyecto AGL2012-38345](#)).

The improvement in wheat nutritional quality using traditional genetic improvement techniques may focus on obtaining varieties that are enriched in mineral elements. Although the quantity of the minerals present in the soil largely conditions their concentration in the plant, it is known that in the specific case of wheat there is sufficient genetic variability to allow a genetic improvement that would increase the content of these nutrients ([Carrillo, 2012](#)). The aim of applying these improvement strategies is to obtain wheat flours with a greater content in certain bioactive compounds such as dietary fibre, arabinoxylans or phenolic compounds ([Carrillo, 2012](#)), all components with important health benefits, as described above (see sections 1.2.1. and 1.2.3.).

### 1.3.2. Technological processes: Extrusion process

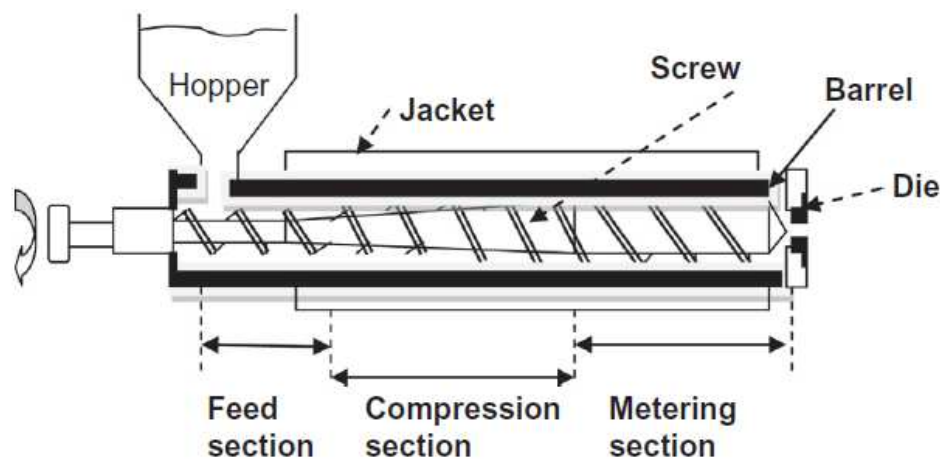
Extrusion deserves a special mention among the various technological processes applicable to pulses. This technology was first applied for food in 1980s and it is a continuous mixing, kneading and shaping process, which is currently used in the food industry to manufacture a wide range of food products, including snacks, textured vegetable proteins, ready-to-eat cereals, confectionery products, baby foods, pet foods and others. This process is based on the application of pressure and high temperatures during short periods of time ([Leonard et al., 2020](#); [Morales et al., 2015a](#); [Nikmaram et al., 2017](#); [Oliveira et al., 2015](#); [Zhao et al., 2011](#)).

An extruder-cooker could be considered as a continuous high-pressure–high-temperature reactor constituted by a barrel, certain screw and mixing elements ([Berk, 2018](#); [De Pilli & Alessandrino, 2020](#)). When a food matrix is extruded, it is forced through an opening called the die and the pressure necessary depends on the geometry of the die, the flow properties of the material, and the flow rate ([Rauwendaal, 2014](#)).

In a single-screw extrusion system (**Figure 9**), the extrudate is moved through the barrel by a single screw. This extruder-type has three different sections, namely feed section, compression section and metering section. The food matrix is introduced in the equipment through the feed section and an initial mixing takes place. The ingredients are moved to the compression section by the rotating action of the screw and in this part of the extruder, the material is compressed and subjected to high pressure and temperature. It is a kneading section, where significant

changes in the physical and chemical characteristics of the ingredients take place. Finally, in metering section, also known as cooking section, the shearing action is increased and the extrudate is compressed and reduced to the dimensions of the flow channel (Shing, 2014).

For food applications, the most usually system is the twin-screw extruder, which incorporates two parallel screws into the extruder barrel. This system is characterized by self-cleaning and better mixing properties. Moreover, it has moderate shear force and higher capacity than the single-screw extruder (Shing, 2014).



**Figure 9.** Basic structure of a single-screw extruder (Berk, 2018).

Extrusion cooking has several advantages (De Pilli & Alessandrino, 2020; Zhao et al., 2011):

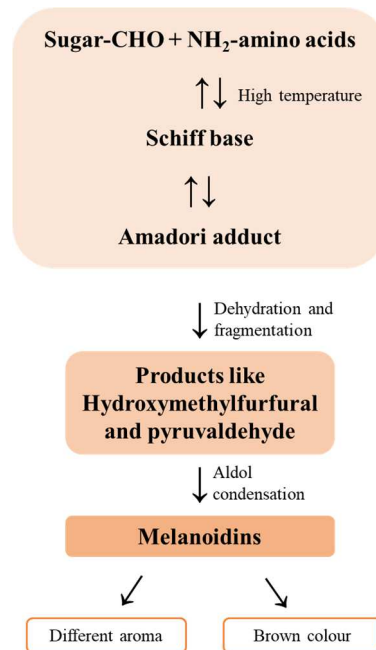
- It is a highly versatile process, which allows food industry to cook and process different food products
- It is an energy efficient process with a high productivity that not needs effluents
- Relatively low cost technology
- Low manpower is required (modern process controls helps in further reducing the manpower requirements for production operations)
- Different types of shaped products are obtained by extrusion
- The extruded products are high quality and safe products as the process conditions (high temperature, high pressure and short time) minimizes the nutrient degradation and destroys the non-nutritional factors as well as the microorganisms
- This technology allows the development of new food products

The extrusion food processing has very few disadvantages, such a costly initial financial investment, and careful selection of process parameters (temperature, moisture content, particle size, screw configuration) (Egal & Oldewage-Theron, 2019).

There are several technological parameters that must be considered in order to improve the quality of the extruded products. In this sense, it is necessary to optimize the barrel temperature, the moisture content, the screw speed and the feed rate. The barrel temperature is the source of thermal energy and plays a key role in the final texture of the products. During extrusion cooking, water acts as a medium of energy transferring and also constitutes the medium where chemical reactions take place. Moreover, the moisture content of the food matrix determines the viscosity as well as the plasticity properties of the extruded material. The adjustment of the screw configuration and the screw speed is important to control the shear force and the mechanical energy of the process (Zhang et al., 2020).

During extrusion cooking, the raw materials are transformed and modified as consequence of the high temperatures, pressures and shear forces. The food constituents that play an important role in the extrusion process are proteins, starch, lipids, low molecular sugars and fiber. Some of these components act as plasticizer by decreasing the viscosity of the food matrix during extrusion process and, as consequence, the expansion properties are affected (De Pilli & Alessandrino, 2020; Zhang et al., 2020).

The functional properties of the food matrix are modified during the extrusion process. This technology has positive effects from a nutritional point of view, as it causes the gelatinization of starch, increases the soluble dietary fiber fraction, improves mineral bioavailability, destroys non-nutritional factors, reduces lipid oxidation and contaminating microorganisms, and improves the retention of foods' natural flavours and colours (Ciudad-Mulero et al., 2018). However, depending on the conditions (temperature, humidity and processing speed) and the food matrix, extrusion may have undesirable nutritional effects such as the development of the Maillard reaction between free amino acids and reducing sugars (**Figure 10**), leading to a loss of nutritional value in proteins and the formation of compounds derived from acrylamide. These effects highlight the importance of optimizing the extrusion conditions in order to reduce undesirable reactions and enhance positive nutritional changes (Alam et al., 2016; Delgado-Nieblas et al., 2015; Singh et al., 2007; Zhao et al., 2011).



**Figure 10.** Schematic representation of “Maillard reaction” and flavor formation in food (adapted from [Tamanna & Mahmood, 2015](#)).

The destruction of anti-nutritional factors achieved with the extrusion process is especially important in the case of pulses, since these food matrixes contain trypsin inhibitors, protease inhibitors, phytates (inositol phosphates), hemagglutinins (lectins), etc. that can reduce both the digestibility and bioavailability of certain nutrients. In general terms, several authors report a decrease in these non-nutritional factors, which are partially or totally degraded by the extrusion process, thus improving the pulses’ nutritional value ([Lopes et al., 2012](#); [Nikmaram et al., 2015](#); [Singh et al., 2012](#); [Singhal et al., 2014](#)).

Conversely, one of the disadvantages of extrusion cooking is the loss of certain vitamins during the process. Vitamins A, E, C, B<sub>1</sub> (thiamine) and B<sub>9</sub> (folic acid) are the most sensitive to extrusion, while other group B vitamins such as B<sub>2</sub> (riboflavin), B<sub>6</sub> (pyridoxine), B<sub>12</sub> (cobalamine), B<sub>3</sub> (niacin), B<sub>7</sub> (biotin) and B<sub>5</sub> (pantothenic acid) are quite stable ([Riaz et al., 2009](#)).

[Alam et al. \(2016\)](#) indicated that the effect of extrusion on the antioxidant capacity of foods depends on the level of bioactive compounds present originally in the food and their type. In the particular case of pulses-based flours, the changes induced by extrusion process on bioactive compounds and antioxidant activity have been studied and it has been observed that extrusion treatment did not affect the content of all the bioactive compounds in the same way. It is reported that extrusion causes an increase in total phenolic content and, in particular, an increase

in hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids as consequence of phenolic release from dietary fiber fraction, with an increase of the phenolic bioavailability as well as an increase of the antioxidant activity of the pulses based flours. However, a reduction in the content of most organic acids (oxalic, tartaric, quinic and malic acid), flavonols and tocopherols has been observed as consequence of the extrusion cooking ([Arribas et al., 2019a](#); [Ciudad-Mulero et al., 2018](#); [Morales et al., 2015b](#)).

In recent years, extruded pulse flours have been used as a new ingredient in the development of new snack-type products ([Arribas et al., 2019b](#); [Ciudad-Mulero et al., 2018](#); [Morales et al., 2015b](#)). This extrusion technology is a good alternative for achieving new gluten-free products with a high dietary fiber content (mainly soluble dietary fiber). Extruded pulse flours are excellent raw materials for developing food products with a high nutritional value that can serve as substitutes for cereal-based snacks ([Ciudad-Mulero et al., 2018](#); [Morales et al., 2015a](#); [Stojceska et al., 2010](#); [Vasanthan et al., 2002](#)).

## **2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO**

## 2.1. OBJETIVOS

Tanto los cereales como las legumbres se han empleado en la alimentación humana desde la antigüedad. Son alimentos importantes que constituyen la base de la alimentación y a partir de los cuales se pueden obtener harinas empleadas en la elaboración de distintos productos alimenticios.

El **objetivo principal** del presente trabajo de investigación es:

*Caracterizar y evaluar el perfil de compuestos bioactivos, aspectos de la calidad nutricional y sensorial, así como la actividad biológica en términos de actividad antioxidante en diferentes harinas (de trigo y lenteja) como ingredientes para la elaboración de productos con propiedades funcionales añadidas.*

Para ello se plantearon los siguientes **objetivos específicos**:

1. Caracterizar y evaluar la variabilidad mostrada en términos de compuestos bioactivos (fibra, arabinoxilanos, tocoferoles, compuestos fenólicos) en las harinas procedentes de los parentales, tanto de trigo blando (*Triticum aestivum* L.) como de trigo duro (*Triticum turgidum* L.), empleados en programas de mejora genética tradicional para incrementar la calidad nutricional y funcional de las distintas variedades de trigo.
2. Evaluar la variabilidad en el contenido de elementos minerales (microelementos: Fe, Cu, Mn, Zn; y macroelementos: Ca, Mg, Na, K) de las harinas de trigo seleccionadas.
3. Evaluar la actividad biológica en términos de la capacidad antioxidante de las harinas de trigo objeto de estudio.
4. Valorar la idoneidad de las harinas de lenteja enriquecidas con levadura nutricional como ingredientes funcionales, evaluando la influencia del proceso de extrusión (a 140 °C y a 160 °C) en el contenido de diferentes compuestos bioactivos (fibra, arabinoxilanos, azúcares solubles,  $\alpha$ -galactósidos, tocoferoles y compuestos fenólicos).
5. Evaluar la influencia del proceso de extrusión (a 140 °C y a 160 °C) sobre distintos compuestos considerados antinutrientes (inositol fosfatos, inhibidores de tripsina, lectinas), en las harinas de lenteja enriquecidas con levadura nutricional.
6. Evaluar el efecto proceso de extrusión (a 140 °C y a 160 °C) sobre la actividad biológica (capacidad antioxidante y capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica) de las distintas formulaciones harinas de lenteja enriquecidas con levadura nutricional.

7. Evaluar la composición nutricional de distintos panes elaborados a base de harinas de cereales.
8. Evaluar distintos atributos sensoriales en panes elaborados a base de harinas de cereales, como parámetros indicadores de su calidad sensorial.
9. Evaluar la aceptación por parte de los consumidores de snacks elaborados a base de harinas de legumbres.

El presente trabajo forma parte del Proyecto AGL2012-38345: “Mejora Genética en trigo blando y trigo duro: Calidad funcional, calidad nutricional y compuestos bioactivos”, MEC (Plan Nacional I + D + I), cuyo investigador principal fue Prof. Dr. José María Carrillo (Universidad Politécnica de Madrid), y del Proyecto “Development of novel gluten free extruded flours”, cuyo investigador principal fue el Dr. José De J. Berrios (Healthy Processed Foods Research Unit, USDA-ARS-WRRC, California, EEUU).

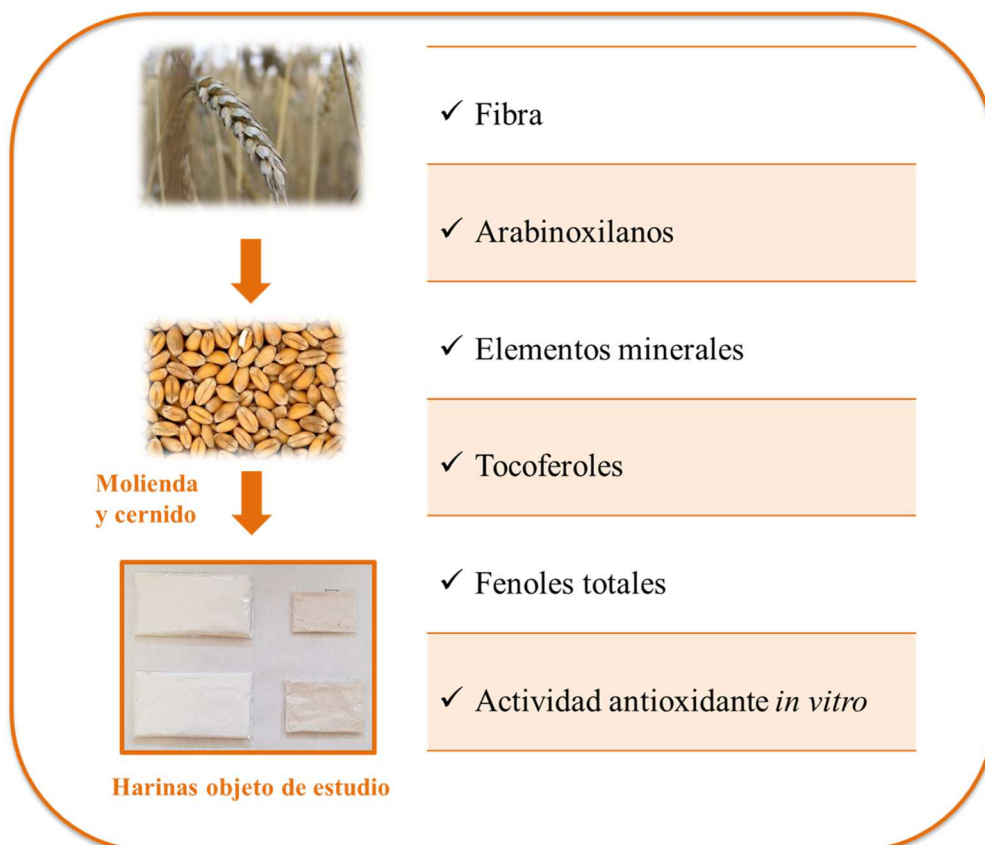
La mayor parte de las determinaciones se llevaron a cabo en el Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos, en los laboratorios de la Unidad Docente de Bromatología en el marco del proyecto mencionado anteriormente. Algunas de las determinaciones realizadas en el presente trabajo (análisis de tocoferoles, compuestos fenólicos y evaluación de la actividad antioxidante) se llevaron a cabo durante una **estancia de investigación predoctoral internacional** realizada entre el 1 de Junio y el 9 de Septiembre de 2016 en el Laboratorio de Química y Bioquímica Aplicada, pertenecientes al Departamento de Biología y Biotecnología (DBB) del Centro de Investigación de Montaña (CIMO), Escuela Superior Agraria del Instituto Politécnico de Bragança (IPB), bajo la dirección de la Dra. Lillian Bouçada de Barros. Por su parte, las determinaciones relativas al análisis azúcares solubles,  $\alpha$ -galactósidos y de algunos compuestos considerados como antinutrientes (inositol fosfatos, inhibidores de tripsina y lectinas), se llevaron a cabo durante una **estancia de investigación predoctoral nacional** en el Departamento de Tecnología de Alimentos del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), bajo la dirección de la Dra. Mercedes Martín Pedrosa, durante el periodo comprendido entre el 16 de Mayo y el 26 de Septiembre de 2018.

## 2.2. PLAN DE TRABAJO

Para la consecución de los objetivos planteados, se desarrolló el siguiente plan de trabajo.

### 2.2.1. Plan de trabajo relativo al estudio de harinas de trigo

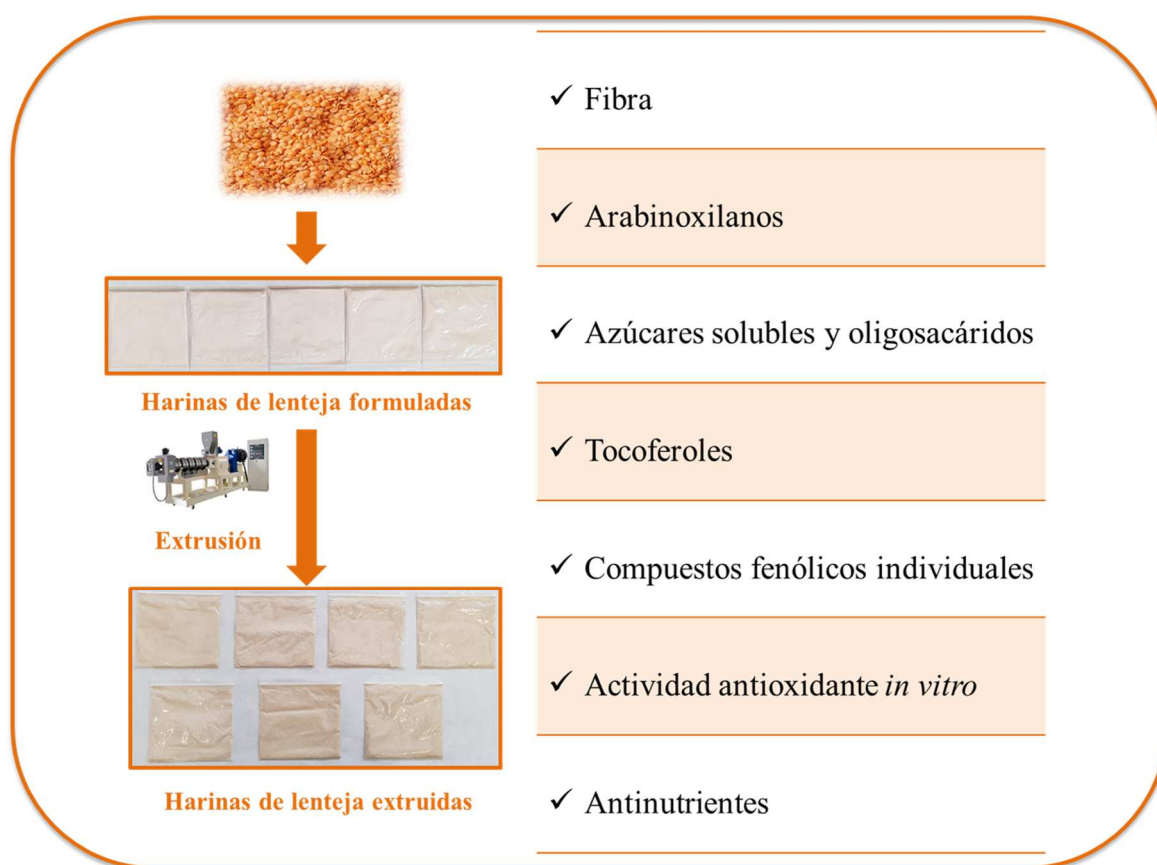
En una primera etapa se llevó a cabo el análisis de compuestos bioactivos presentes en diferentes muestras de harina de trigo procedentes de cuatro variedades distintas, tanto de trigo blando (*Triticum aestivum* L., variedades Cajeme y Marius), como de trigo duro (*Triticum turgidum* ssp. *durum* L., variedades Endural y Aldura) cosechadas en dos años distintos y consecutivos (2013 y 2014). De cada una de estas variedades se estudiaron las fracciones correspondientes a la harina blanca (refinada), harina integral y fracción de salvado, analizándose su contenido de fibra (soluble, insoluble y total), arabinosilanos (totales y solubles en agua), elementos minerales (macroelementos: Ca, Mg, Na, K; y microelementos: Fe, Cu, Zn, Mn), tocoferoles y fenoles totales. Además, se llevó a cabo la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* de las mismas (**Figura 11**).



**Figura 11.** Determinaciones realizadas en las harinas de trigo (harina blanca, harina integral y fracción de salvado) objeto de estudio

### 2.2.2. Plan de trabajo relativo al estudio de harinas de lenteja

En la presente Tesis doctoral se realizó un estudio de distintas muestras de harina de lenteja enriquecidas con levadura nutricional (Lynside Nutri Optimum Yeast®), tanto crudas (sin procesar) como extruidas a 140 °C y a 160 °C. Se realizó la caracterización de los siguientes compuestos bioactivos: fibra dietética (soluble, insoluble y total), arabinosilanos (totales y solubles en agua), azúcares solubles y  $\alpha$ -galactósidos, tocoferoles y compuestos fenólicos individuales. Además, se llevó a cabo la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* de las muestras de harina de lenteja y se determinó su contenido en distintos compuestos considerados antinutrientes (inositol fosfatos, inhibidores de tripsina y lectinas). Se estudió el efecto que el proceso de extrusión tuvo sobre el contenido de los compuestos bioactivos y antinutrientes analizados, así como sobre la actividad antioxidantes de las harinas objeto de estudio (**Figura 12**).

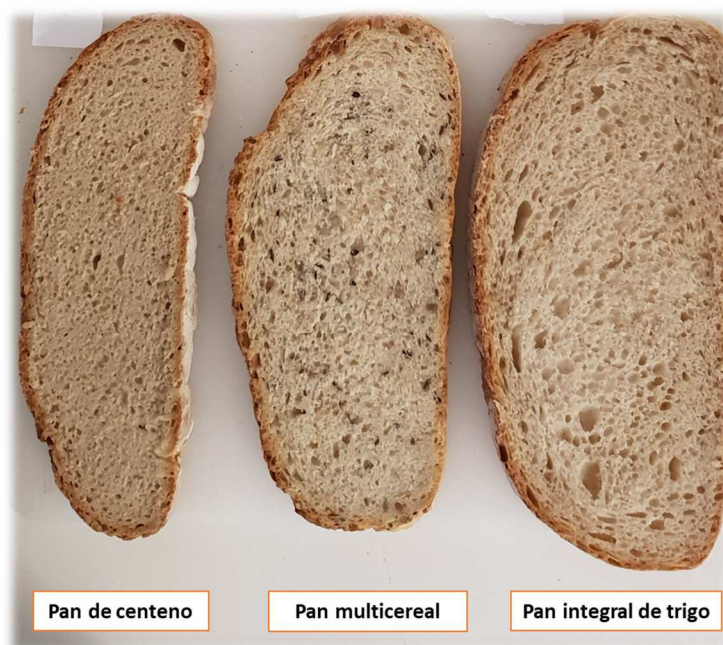


**Figura 12.** Determinaciones realizadas en las distintas harinas de lenteja objeto de estudio

### 2.2.3. Análisis sensorial de productos alimenticios elaborados de harinas de cereales y de harinas de legumbres

En una última etapa, y con el fin de cumplir los objetivos propuestos, se evaluaron distintos atributos sensoriales y/o la aceptación por parte de los consumidores, de productos alimenticios elaborados a base de distintas harinas de cereales y de diferentes legumbres.

Para ello, en el caso de productos alimenticios elaborados a base de harinas de cereales, se analizaron cinco tipos de panes (**Figura 13**), los cuales estaban formulados a partir de harina blanca de trigo (*Triticum aestivum* L.) junto con otras harinas, como harina de avena, centeno, harina integral de trigo, harina integral de centeno de Baviera y mezcla de otros ingredientes como semillas sésamo, girasol, linaza y algarroba. En estos panes se caracterizó el perfil nutricional y se evaluaron atributos sensoriales como el color o la textura, incluyendo los parámetros de dureza, adhesividad, elasticidad, cohesión, masticabilidad y resistencia.



**Figura 13.** Aspecto de algunas de las muestras de pan analizadas

(Foto: Márcio Caroch)

En el caso de los productos alimenticios elaborados a partir de harina de legumbres, se realizó un análisis sensorial de seis tipos de snacks (**Figura 14**) elaborados con harinas de legumbres (lenteja y garbanzo), con el fin de determinar los factores que influyen en la aceptación de estos productos (diferentes a los snacks tradicionales) por parte de los consumidores y explorar la posible relación entre el contenido en nutrientes del producto y las preferencias de los consumidores.



**Figura 14.** Muestras de snacks de legumbres analizados

### **3. ESTUDIO DE HARINAS DE CEREALES**

### 3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

El estudio de las distintas muestras de harina de trigo se ha centrado en los siguientes objetivos específicos:

1. Caracterizar y evaluar la variabilidad mostrada en términos de compuestos bioactivos (fibra, arabinoxilanos, tocoferoles, compuestos fenólicos) en las harinas procedentes de los parentales, tanto de trigo blando (*Triticum aestivum* L.) como de trigo duro (*Triticum turgidum* L.), empleados en programas de mejora genética tradicional para incrementar la calidad nutricional y funcional de las distintas variedades de trigo.
2. Evaluar la variabilidad en el contenido de elementos minerales (microelementos: Fe, Cu, Mn, Zn; y macroelementos: Ca, Mg, Na, K) de las harinas de trigo seleccionadas.
3. Evaluar la actividad biológica en términos de la capacidad antioxidante de las harinas de trigo objeto de estudio.

El presente trabajo forma parte del Proyecto AGL2012-38345: “Mejora Genética en trigo blando y trigo duro: Calidad funcional, calidad nutricional y compuestos bioactivos”, MEC (Plan Nacional I + D + I), cuyo investigador principal fue el Prof. Dr. José María Carrillo (Universidad Politécnica de Madrid).

Los análisis relativos al contenido de fibra y arabinoxilanos, así como la determinación de los elementos minerales se realizaron en el laboratorio de la Unidad Docente de Bromatología del Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. Por otro lado, el análisis de tocoferoles y compuestos fenólicos, así como el estudio de la capacidad antioxidante de las muestras se llevaron a cabo durante una estancia internacional de investigación predoctoral realizada en el Laboratorio de Química y Bioquímica Aplicada, pertenecientes al Departamento de Biología y Biotecnología (DBB) del Centro de Investigación de Montaña (CIMO), Escuela Superior Agraria del Instituto Politécnico de Bragança (IPB), bajo la dirección de la Dra. Lillian Bouçada de Barros.

### 3.2. MATERIALES

En el presente trabajo se han estudiado un total de **22 muestras de harinas de trigo**, procedentes de **4 variedades de trigo distintas**, cosechadas durante dos años diferentes y consecutivos (2013 y 2014), de las cuales se analizaron tanto la fracción de harina blanca (refinada), como la harina integral. Además, a partir de estas fracciones y mediante el empleo de una ecuación propuesta por Peterson et al. (1986), se estimó la composición de la fracción de salvado (**Tabla 6**). Las variedades estudiadas fueron sembradas, cosechadas, seleccionadas y procesadas (molidas) por la Unidad de Genética del Departamento de Biotecnología y Biología General de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas (E.T.S.I.A.A.B) de la Universidad Politécnica de Madrid.

**Tabla 6.** Muestras de harina de trigo analizadas

Harina blanca			
Especie	Variedad	Año de cosecha	Código de la muestra
<i>Triticum turgidum</i> L.	Aldura	2013	D-A#1-WF
		2014	D-A#2-WF
	Endural	2014	D-E#2-WF
<i>Triticum aestivum</i> L.	Cajeme	2013	S-C#1-WF
		2014	S-C#2-WF
	Marius	2013	S-M#1-WF
		2014	S-M#2-WF
Harina integral			
Especie	Variedad	Año de cosecha	Código de la muestra
<i>Triticum turgidum</i> L.	Aldura	2013	D-A#1-WGF
		2014	D-A#2-WGF
	Endural	2013	D-E#1-WGF
		2014	D-E#2-WGF
<i>Triticum aestivum</i> L.	Cajeme	2013	S-C#1-WGF
		2014	S-C#2-WGF
	Marius	2013	S-M#1-WGF
		2014	S-M#2-WGF
Salvado			
Especie	Variedad	Año de cosecha	Código de la muestra
<i>Triticum turgidum</i> L.	Aldura	2013	D-A#1-Bran
		2014	D-A#2- Bran
	Endural	2014	D-E#2- Bran
<i>Triticum aestivum</i> L.	Cajeme	2013	S-C#1- Bran
		2014	S-C#2- Bran
	Marius	2013	S-M#1- Bran
		2014	S-M#2- Bran

**Trigo Duro (*Triticum turgidum* L.):**

En este estudio se seleccionaron dos variedades de trigo duro, *Triticum turgidum* L. var. Endural y *Triticum turgidum* L. var. Aldura (**Figura 15**). La primera de ellas, **variedad Endural**, es de origen francés y se trata de un trigo de invierno cuya harina forma gluten de buena calidad ([Proyecto AGL2012-38345](#)). Por su parte, la **variedad Aldura** es de origen italiano y es un trigo de primavera caracterizado por tener un tallo de sección media, macizo. El cuello de la espiga tiene una longitud media-corta (10 - 20 cm) y la espiga es de porte medio, color oscuro, forma piramidal, densa y corta o muy corta, con barbas muy largas de color marrón claro. El grano es semialargado de tamaño medio-grande, de color claro y textura semicórnea. La variedad Aldura da buenos rendimientos en condiciones semiáridas, pero su harina no se caracteriza por formar buen gluten ([Proyecto AGL2012-38345](#)).



**Figura 15.** Espigas de trigo duro (*Triticum turgidum* ssp. *durum* L.)

(Foto adaptada de: [Barbado Domínguez, 2019](#))

**Trigo blando (*Triticum aestivum* L.):**

Las variedades de trigo blando seleccionadas en el presente trabajo fueron *Triticum aestivum* L. var. Cajeme y *Triticum aestivum* L. var. Marius (**Figura 16**). La primera de ellas, **variedad Cajeme**, es de origen mejicano y sus granos son de forma semialargada, de longitud media y textura córnea, variando su color del rojo pálido al marrón. Se trata de una variedad de talla corta (85 - 75 cm), muy productiva y de una calidad harino-panadera muy buena ([Proyecto AGL2012-38345](#)). La **variedad Marius** es de origen francés cuyos granos son marrones, de forma redondeada, longitud media y textura variable, de intermedia a córnea. Da buena productividad y tiene una enorme capacidad de adaptación, teniendo una calidad harino-panadera media ([Proyecto AGL2012-38345](#)).



**Figura 16.** Espigas de trigo blando (*Triticum aestivum* L.)

(Foto: [UPM, 2020](#))

A partir de las variedades anteriormente descritas, se analizaron dos tipos de harina en función de su grado de extracción: harina blanca (58 - 70 % grado extracción) y harina integral (100 % grado extracción) (**Figuras 17 y 18**). Además, a partir de estas fracciones, se estimó la composición de la fracción de salvado empleando una ecuación propuesta por [Peterson et al. \(1986\)](#). Para la obtención de la harina blanca se utilizó un molino CD1 de Chopin (Chopin Technologies, Francia) en 4 etapas (1 trituración y 3 compresiones) y posterior cernido mediante un tamiz con malla de 1 mm. Por su parte, la harina integral se obtuvo mediante la molienda del grano completo en un Molino Tekator y posterior cernido con un tamiz con malla de 1 mm. Dichas harinas fueron elaboradas y acondicionadas por la Unidad de Genética del Departamento de Biotecnología y Biología General de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas de la Universidad Politécnica de Madrid y se recibieron en el Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos (Unidad Docente de Bromatología) de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, donde fueron conservadas a una temperatura de -20 °C, para garantizar el mantenimiento de sus propiedades nutricionales y funcionales hasta el momento del análisis.



**Figura 17.** Harinas (blanca e integral) de trigo duro analizadas (Foto: María Ciudad)



**Figura 18.** Harinas (blanca e integral) de trigo blando analizadas (Foto: María Ciudad)

### 3.3. METODOLOGÍA ANALÍTICA

Algunos de los compuestos analizados en la presente Tesis Doctoral son objeto de declaraciones nutricionales así como de declaraciones de propiedades saludables aprobadas por la legislación vigente ([Reglamento \(CE\) N° 1924/2006](#); [Reglamento \(UE\) N° 1169/2011](#); [Reglamento \(UE\) N° 432/2012](#)). Este es el caso de la fibra, los arabinoxilanos y los minerales y, por este motivo, estos compuestos se analizaron en todas las muestras, de dos años de cosecha diferentes, con el fin de verificar la posible variabilidad de contenido debida a las condiciones ambientales, de modo que, en cualquier caso, se garantice la cantidad mínima necesaria para hacer las declaraciones correspondientes. Por otro lado, para el análisis del resto de compuestos bioactivos (tocoferoles y compuesto fenólicos totales), así como para la evaluación de la actividad antioxidante de las distintas variedades de trigo objeto de estudio, se preparó una muestra compuesta para cada tipo de harina y variedad, con cantidades iguales del material de cada año de cosecha.

#### 3.3.1. Determinación del contenido de fibra: insoluble, soluble y total

El contenido de fibra en las muestras analizadas se determinó mediante el método enzimático-gravimétrico de la AOAC (Ref. 993.19 y 991.42), cuantificándose la fibra insoluble, soluble y total ([Latimer, 2012](#)) (**Esquema 1**). El fundamento de este método se basa en la digestión enzimática de las muestras con  $\alpha$ -amilasa, proteasa y amiloglucosidasa (Sigma-Aldrich) para eliminar tanto la proteína como el almidón presentes. Para llevar a cabo la determinación, se pesaron 0,3 g de muestra y se colocaron en un Erlenmeyer de 250 mL. Se añadieron 50 mL de tampón fosfato 0,08M (pH = 6) y 100  $\mu$ L de  $\alpha$ -amilasa termoestable y el Erlenmeyer se tapó con papel de aluminio y se introdujo en un baño de agua Memmert a 100 °C con agitación durante 30 minutos. Tras enfriar con hielo hasta temperatura ambiente, se añadieron 10 mL de NaOH 0,275 N (ajustar a pH  $7,5 \pm 0,2$ ) y 5 mg de proteasa. Se incubó en baño de agua a 60 °C durante 30 minutos con agitación constante y tras enfriar de nuevo con hielo hasta temperatura ambiente, se añadieron 10 mL de HCl 0,325 N (ajustar a pH  $4,5 \pm 0,2$ ) y 100  $\mu$ L de amiloglucosidasa y se incubó en baño de agua a 60 °C durante 30 minutos con agitación constante.

***Determinación de la fibra insoluble***

Para la determinación de la fibra insoluble, se filtró el líquido obtenido sobre un crisol de vidrio de placa filtrante con 0,5 g de Cellite. Después de la filtración, se lavó el residuo con 10 mL de agua destilada (2 veces) y 10 mL de etanol 96 % (2 veces). El líquido filtrado se reservó para la determinación de la fibra soluble. Los crisoles se desecaron en estufa Memmert a 100 °C y, una vez fríos, se pesaron. Tras la determinación de las cenizas y las proteínas, se calculó el residuo correspondiente a la fracción de fibra insoluble.

***Determinación de la fibra soluble***

Para la determinación de la fibra soluble, se recuperó el líquido anteriormente filtrado en un Erlenmeyer de 500 mL y se añadieron 400 mL de etanol 96 %. Se dejó precipitar toda la noche y, posteriormente, se filtró sobre un crisol de vidrio de placa filtrante con 0,5 g de Cellite. Después de la filtración, se lavó el residuo con 10 mL de etanol 78 % (2 veces) y 10 mL de etanol 96 % (2 veces). Los crisoles se desecaron en estufa Memmert a 100 °C y, una vez fríos, se pesaron. Tras la determinación de las cenizas y las proteínas, se calculó el residuo correspondiente a la fracción de fibra soluble.

Para calcular los porcentajes de fibra insoluble (FI) y de fibra soluble (FS) se aplicaron las siguientes ecuaciones (**Ecuación 1** y **Ecuación 2**):

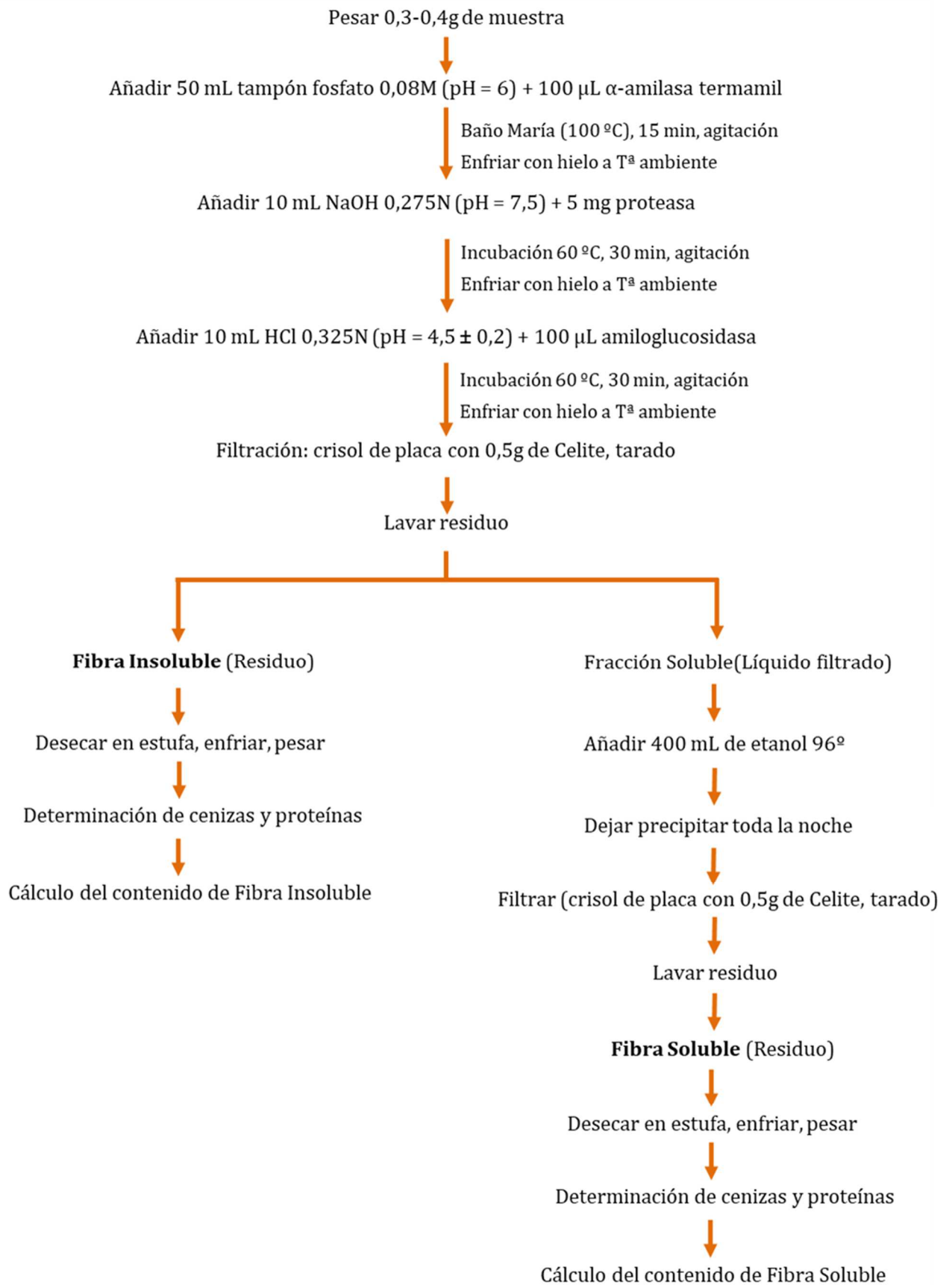
$$FI \text{ (g/100 g)} = \frac{RI-P-C}{M} \times 100 \quad \text{Ecuación [1]}$$

$$FS \text{ (g/100 g)} = \frac{RS-P-C}{M} \times 100 \quad \text{Ecuación [2]}$$

Donde:

- RI = residuo de fibra insoluble (g)
- RS = residuo de fibra soluble (g)
- P = proteínas (g)
- C = cenizas (g)
- M = peso de la muestra (g)

**Esquema 1.** Método de determinación de fibra dietética (insoluble y soluble)



En el caso de la fracción de salvado de las distintas variedades de trigo analizadas, el contenido de fibra (insoluble, soluble y total) se calculó aplicando la **Ecuación 3** (Peterson et al., 1986).

*Concentración en la fracción de salvado*

$$= \frac{\text{Concentración en la harina integral} - (\text{Concentración en la harina blanca} \times \text{Grado de extracción})}{(1 - \text{Grado de extracción})} \quad \text{Ecuación [3]}$$

### 3.3.2. Determinación del contenido de arabinosilanos

Los arabinosilanos fueron determinados según el método colorimétrico descrito por Douglas (1981) y modificado por Finnie et al. (2006) (Esquema 2). Para ello, se pesaron 0,125 g de muestra y se colocaron en tubos de Falcon de 50 mL junto con 25 mL de agua destilada. Los tubos fueron sometidos a agitación magnética durante 30 minutos.

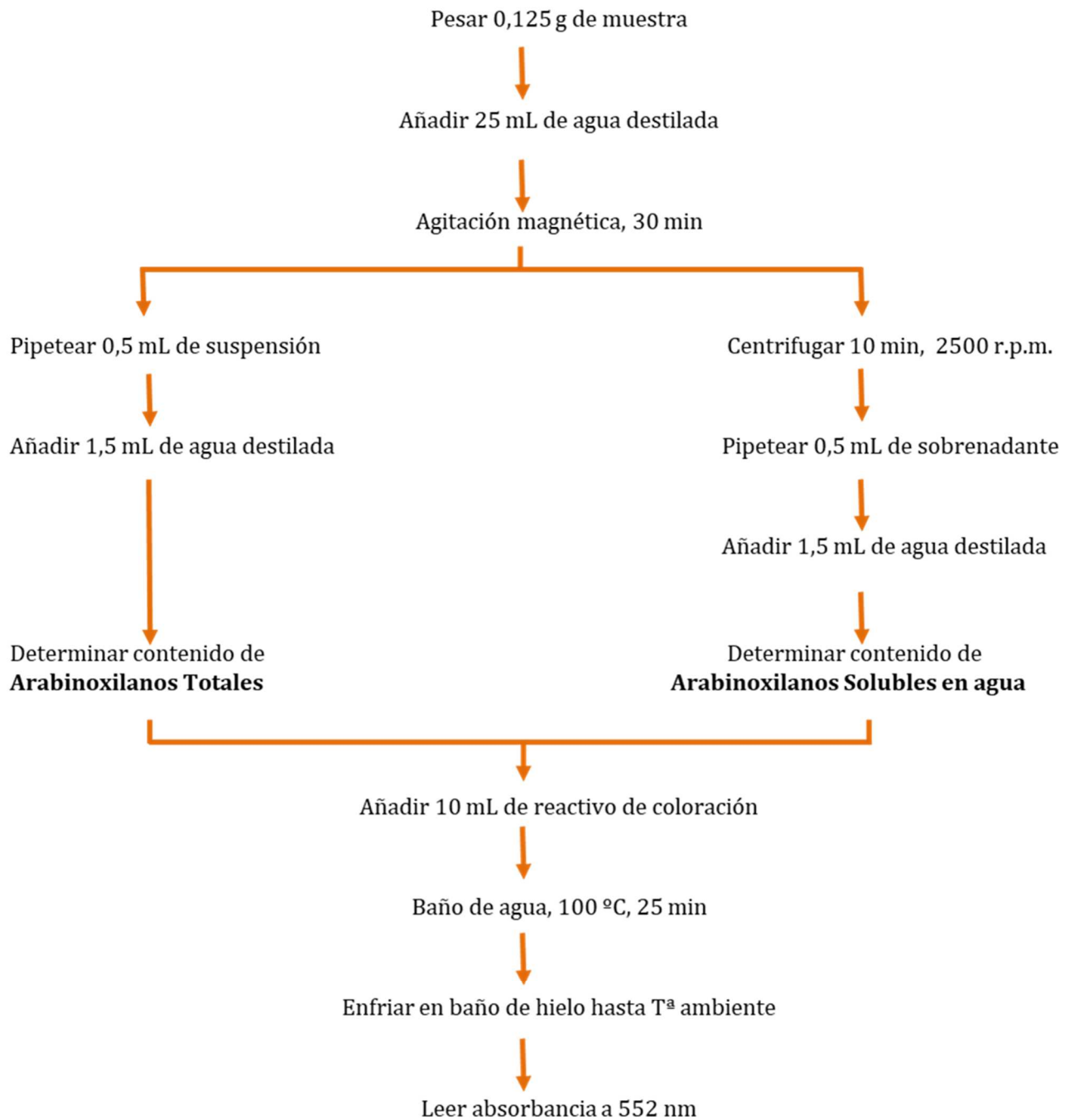
Para el análisis de los **arabinosilanos totales**, se tomaron 0,5 mL de la suspensión de la muestra y se colocaron en tubos de ensayo topacio, cerrados con tapón.

Para el análisis de los **arabinosilanos solubles en agua**, la suspensión original fue centrifugada durante 10 minutos a 2500 rpm (Universal 16 R, Genesys Instrumentation, SL, España). Después de la centrifugación, se tomaron 0,5 mL de sobrenadante y se colocaron en tubos de ensayo topacio, cerrados con tapón.

De cada muestra se hicieron dos suspensiones y de cada suspensión se tomaron dos alícuotas de 0,5 mL, de forma que se cuantificaron los arabinosilanos totales por cuadruplicado. Así mismo, de cada muestra centrifugada se tomaron dos alícuotas de 0,5 mL, analizándose 4 réplicas de los arabinosilanos solubles en agua.

En los tubos de ensayo topacio que contenían las muestras, se añadió 1,5 mL de agua destilada, de forma que el volumen final de todos los tubos fue de 2 mL. En cada tubo se adicionaron 10 mL del reactivo de coloración y los tubos se colocaron en un baño a 100 °C durante 25 min. Posteriormente, los tubos se introdujeron en un baño de hielo hasta que estuvieron a temperatura ambiente. A continuación se midió la absorbancia a 552 nm (espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS). Fue necesario preparar un blanco con agua destilada (2 mL).

**Esquema 2.** Método de determinación de arabinosilanos (totales y solubles en agua)

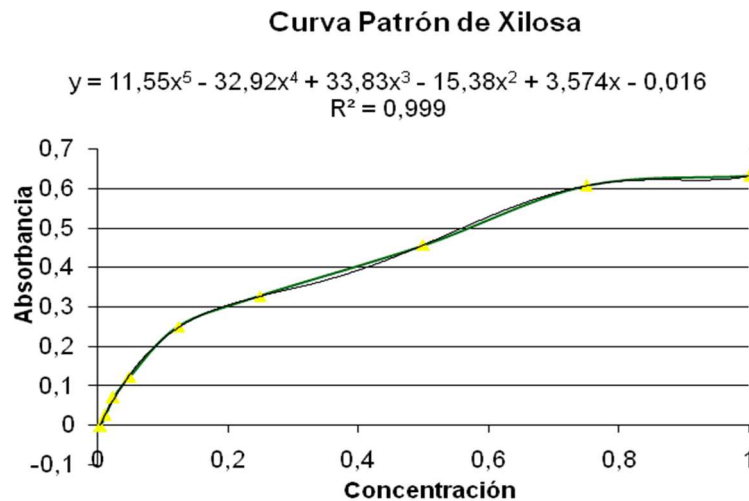


El reactivo de coloración se preparó mezclando 110 mL de ácido acético glacial, 30 mL de HCl, 66 mL de floroglucinol en etanol al 10% y 1 mL de agua destilada (Kiszonas et al., 2012).

Los patrones de D - (+) - xilosa en agua destilada se colocaron en el baño de agua junto con las muestras de harina y los blancos (2 mL de agua destilada) y sus absorbancias fueron medidas a

552 nm. Los patrones siempre se trataron simultáneamente con las muestras y sus absorbancias se leyeron lo más pronto posible después del enfriamiento, ya que se observó una pérdida gradual de color al permanecer a la espera (Douglas 1981).

La curva de calibración (Figura 19) se preparó usando una solución madre de 100 mg de D-(+)-xilosa (Sigma) en 100 ml de agua destilada. A continuación, se prepararon diferentes concentraciones (0.005 a 1 mg/mL).



**Figura 19.** Curva patrón de D-(+)-xilosa

En el caso de la fracción de salvado de las distintas variedades de trigo analizadas, el contenido de arabinosilanos (totales y solubles en agua) se calculó aplicando la **Ecuación 3** (Peterson et al., 1986). Los resultados se expresaron en g de arabinosilanos por 100 g de muestra.

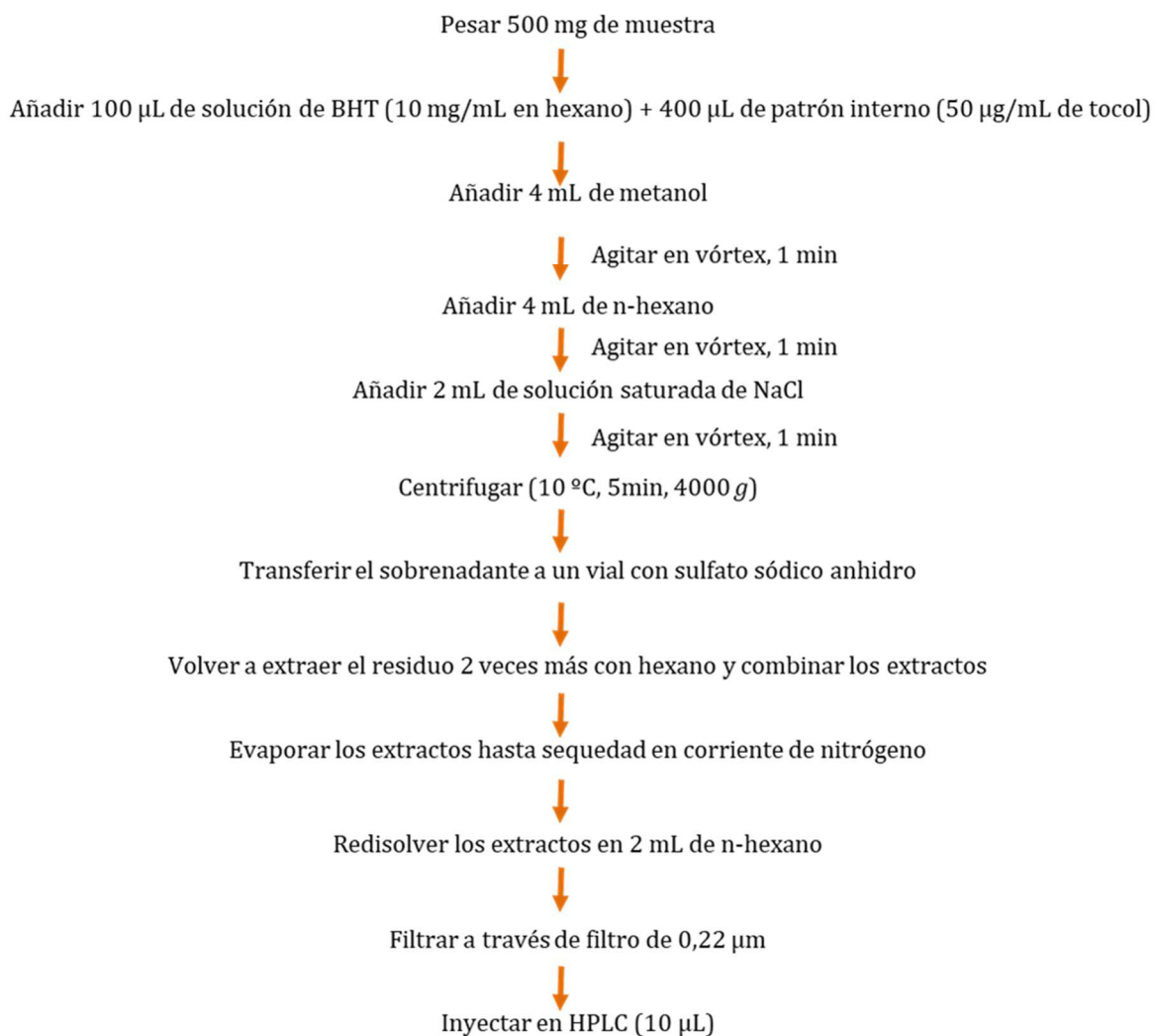
### 3.3.3. Determinación del contenido de tocoferoles

El contenido de tocoferoles se determinó siguiendo un procedimiento previamente optimizado y descrito por Barros et al. (2008a).

Se realizó una extracción en n-hexano partiendo de 500 mg de muestra, que se colocaron en un tubo de Falcon. Se adicionaron 100  $\mu$ L de solución de BHT (butilhidroxitolueno) en n-hexano (10 mg/mL) y 400  $\mu$ L del estándar interno (solución de tocol en hexano, 50  $\mu$ g/mL). A continuación se incorporaron 4 mL de metanol y se homogeneizó agitando vigorosamente mediante vórtex durante 1 minuto.

Una vez obtenida la solución de partida, se procedió a la extracción, añadiendo 4 mL de n-hexano, seguido de homogeneización (vórtex) durante 1 minuto. Posteriormente se añadieron 2 mL de solución acuosa saturada de NaCl con el objetivo de favorecer la migración de los tocoferoles al n-hexano (fase lipófila). La mezcla se homogeneizó (vórtex) durante 1 minuto y seguidamente fue centrifugada a 10 °C durante 5 minutos a 4000 g (Centrífuga refrigerada Centurion K24OR-2003). El sobrenadante fue cuidadosamente transferido a un vial (25 mL), repitiéndose el proceso de extracción dos veces más a partir del residuo obtenido tras la centrifugación (combinación de extractos) (**Esquema 3**).

**Esquema 3.** Extracción y determinación de tocoferoles en n-hexano



Para evitar la degradación de los tocoferoles, todo el proceso se llevó a cabo en recipientes topacio y en condiciones de baja temperatura.

Los extractos obtenidos se desecaron bajo corriente de nitrógeno y, posteriormente, fueron redissueltos en 2mL de n-hexano deshidratado con sulfato de sodio anhidro. Se filtró a través de un filtro de 0,22 micras y se transfirió a un vial topacio para su análisis por HPLC.

**El equipo cromatográfico empleado consta de los siguientes elementos:**

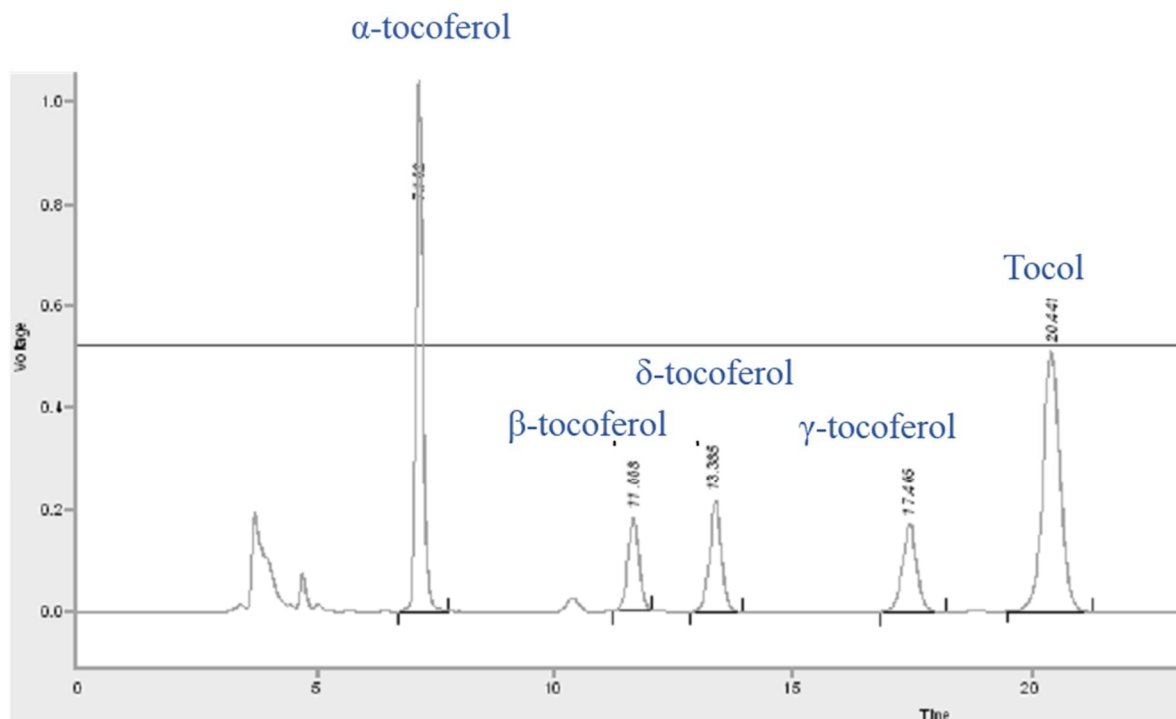
- Bomba isocrática de Smartline 1000 (Knauer, Alemania), con sistema desgasificador Smartline gerente de 5000.
- Inyector automático AS-2057.
- Columna: poliamida II (250 x 4,6 mm) de columna de fase normal de YMC Aguas (Japón).
- Detectores conectados en serie:
  - Detector de ultravioleta 2500 UV (Knauer, Alemania): 295 nm.
  - Detector de fluorescencia FP-2020 (Jasco, Japón):  $\lambda$  excitación a 290 nm y  $\lambda$  emisión a 330 nm.
- Software: Data Apex, 2.4 Software.

**Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:**

- Fase móvil: n-hexano: acetato de etilo (70:30, v/v)
- Flujo: 1 mL/min
- Temperatura: 30°C (horno 7971 R Grace oven)
- Volumen de inyección: 10  $\mu$ L

Los cuatro vitámeros ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol) fueron separados e identificadas por HPLC-FL mediante la comparación con estándares comerciales. Para comprobar el normal funcionamiento del proceso se empleó un patrón interno de concentración conocida (tocol) (**Figura 20**).

La cuantificación se realizó mediante la comparación de áreas obtenidas a partir de las rectas de calibrado realizadas con los patrones de cada uno de los vitámeros analizadas. Los resultados se expresaron en  $\mu$ g/g.



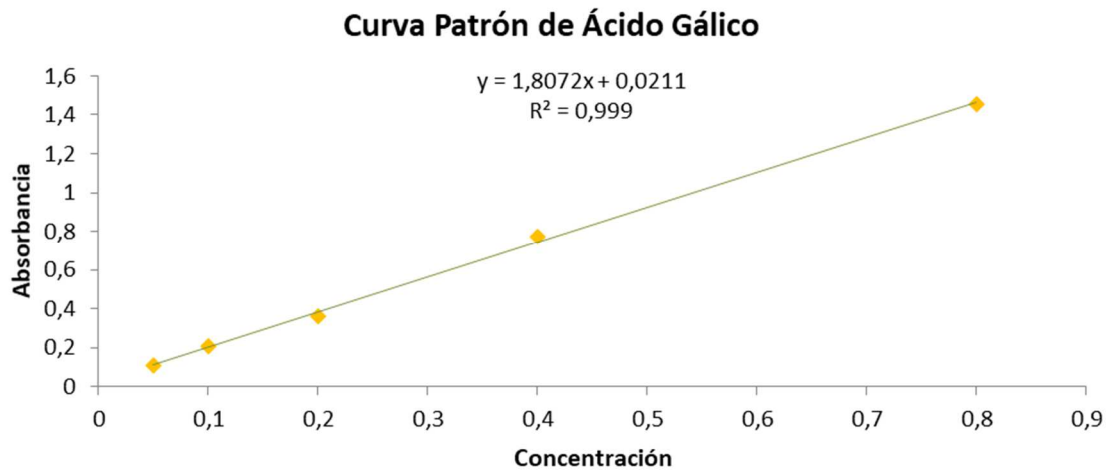
**Figura 20.** Cromatograma del patrón múltiple de tocoferoles

### 3.3.4. Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales

La cuantificación de los **compuestos fenólicos totales** se llevó a cabo mediante un ensayo colorimétrico, basado en los procedimientos descritos por [Wolfe et al. \(2003\)](#) con algunas modificaciones. Para obtener el extracto metanólico de las muestras, se pesó 1 g de cada una de ellas, se añadieron 40 mL de metanol y se mantuvo en agitación a 25 °C durante 1 h. Los extractos resultantes se filtraron y el residuo se volvió a extraer con una porción adicional de metanol. Los extractos metanólicos se combinaron y se evaporaron a 35 °C a presión reducida (rotavapor Büchi R-210, Flawil, Suiza). A continuación se redisolvieron en metanol hasta una concentración de 5 mg/mL y se almacenaron a 4 °C para su análisis posterior ([Morales et al., 2015b](#)).

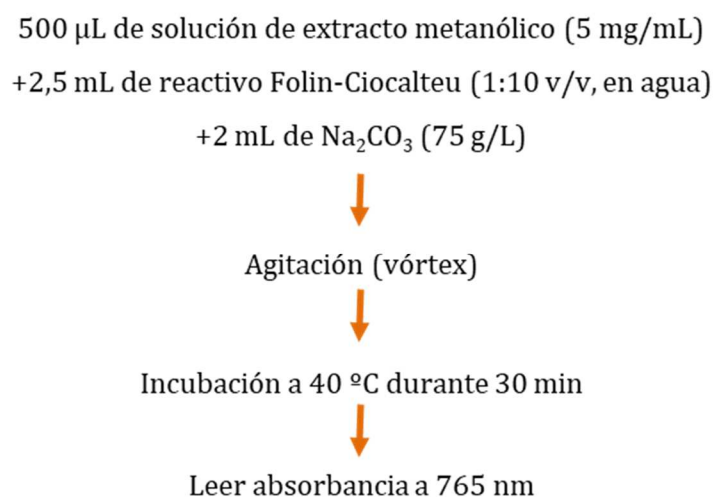
Para llevar a cabo la determinación de los compuestos fenólicos totales mediante el método de Folin-Ciocalteu se partió de 500 µL de cada una de las soluciones de extracto (5 mg/mL) a los que se añadieron 2,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v, en agua) y 2 mL de carbonato de sodio (75 g/mL). Se preparó un blanco con el solvente de extracción (metanol). Todos los tubos se agitaron con vórtex y se incubaron en baño a 40 °C durante 30 minutos hasta el desarrollo de coloración. A continuación se procedió a la lectura espectrofotométrica de la

absorbancia a 765 nm (**Esquema 4**). Se utilizó ácido gálico como patrón para la curva de calibración (**Figura 21**), y la reducción del reactivo Folin-Ciocalteu por parte de las muestras se expresó como mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de extracto.



**Figura 21.** Curva patrón de ácido gálico

**Esquema 4.** Determinación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu



### 3.3.5. Determinación del contenido de cenizas y minerales

El contenido de cenizas se calculó según el método 930.05 de la AOAC (Latimer, 2012). Este método se basa en la destrucción de la materia orgánica presente en la muestra por incineración, seguido de una determinación gravimétrica del residuo obtenido.

Para llevar a cabo este ensayo se utilizaron cápsulas de porcelana de fondo redondo que fueron previamente lavadas en HNO<sub>3</sub> 10 % y aclaradas con agua destilada. Sobre estas cápsulas, previamente pesadas, se colocaron 0,35 g de harina de trigo y, a continuación, se llevaron a la mufla (Carbolite CSF 1100 Muffle Furnace) a 500 °C, donde tuvo lugar la incineración de la muestra.

Para la determinación del porcentaje de cenizas en la muestra se realizaron los siguientes cálculos (**Ecuación 4**):

$$\% \text{ Cenizas } \left( \frac{\text{g}}{100\text{g}} \right) = \frac{P'' - P}{P' - P} \times 100 \quad \text{Ecuación [4]}$$

Donde:

- P = peso (g) de la cápsula vacía
- P' = peso (g) de la cápsula + harina
- P'' = peso (g) de la cápsula + harina calcinada

Tras la completa incineración de la muestra se procedió a la determinación de los microelementos (hierro, cobre, manganeso y zinc) y los macroelementos (calcio, magnesio, sodio y potasio). El análisis de estos minerales se realizó mediante la técnica de Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA), que es la más utilizada para este tipo de determinación en alimentos.

En primer lugar se llevó a cabo la extracción de los elementos minerales. Para ello se disolvieron las cenizas en 1 mL de HCl 50 % y 1 mL de HNO<sub>3</sub> 50 % y el extracto obtenido se filtró a través de filtros Albet para análisis cuantitativo sin cenizas. El filtrado se recogió en un matraz aforado y se completó con agua destilada hasta un volumen final de 25 mL. Este volumen se transvasó a frascos de polietileno para su posterior lectura en el equipo de EAA.

Los microelementos se midieron directamente en el espectrofotómetro a partir de la disolución anterior. Sin embargo, para la cuantificación de los macroelementos se prepararon diluciones

adicionales 1/10 (v/v) con el fin de evitar interferencias. Para el análisis de Ca y Mg, estas diluciones se hicieron con  $\text{La}_2\text{O}_3/\text{HCl}$  (1,16 % de  $\text{La}_2\text{O}_3$  + 1,75 % de HCl), mientras que en el caso de Na y K se utilizó CsCl (0,4 %).

Para la determinación de elementos minerales mediante EAA se empleó un espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo 2280, que consta de los siguientes elementos:

- Sistema de nebulización de alta sensibilidad
- Sistema de atomización (fuente de excitación): llama de aire/acetileno, de carácter oxidante
- Fuente de emisión: lámparas de cátodo hueco: lámpara múltiple de intensidad 25mA para Fe, Cu, Mn y Zn; lámpara de intensidad 12 mA para K y Na; y de intensidad 15 mA para Ca y Mg.

La técnica consiste en nebulizar los extractos obtenidos sobre una llama, de manera que se produce la atomización de la muestra. Esta atomización se consigue haciendo pasar a través de la llama un haz de luz de una longitud de onda determinada. La medida de la cantidad de energía absorbida en este proceso, permite determinar la cantidad de átomos que están presentes en la muestra mediante comparación con patrones de concentraciones conocidas.

Las condiciones utilizadas en este ensayo quedan recogidas en la **Tabla 7**.

**Tabla 7.** Condiciones del equipo de EAA para la determinación de los elementos minerales

Elemento	Longitud de onda (nm)	Ranura (mm)	Tipo de llama
Na	589	1,8/0,6	Oxidante
K	766,49	2,7/0,45	Oxidante
Ca	422,67	2,7/0,6	Oxidante
Mg	285,21	2,7/1,05	Oxidante
Fe	248,33	1,8/1,35	Oxidante
Cu	324,75	2,7/0,8	Oxidante
Mn	279,48	1,8/0,6	Oxidante
Zn	213,83	2,7/1,8	Oxidante

En el caso de la fracción de salvado de las distintas variedades de trigo analizadas, el contenido de cenizas totales (g/100 g) así como el contenido de elementos minerales (mg/100 g) se calculó aplicando la **Ecuación 3** (Peterson et al., 1986).

### 3.3.6. Evaluación de la actividad antioxidante

Para la evaluación de la actividad antioxidante se llevaron a cabo tres ensayos *in vitro* diferentes, con el fin de analizar tanto la capacidad antioxidante total (método de DPPH y poder reductor) como la capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica (método de la inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno) de las muestras objeto de estudio.

La actividad antioxidante de las muestras analizadas fue evaluada *in vitro* a partir de los correspondientes extractos metanólicos. Partiendo de estas soluciones iniciales (100 mg/mL) y haciendo diluciones seriadas, se prepararon varias soluciones metanólicas de diferentes concentraciones que fueron utilizadas para realizar los distintos ensayos de evaluación de actividad antioxidante.

Los datos relativos a la capacidad antioxidante *in vitro* se expresan utilizando el parámetro  $EC_{50}$  (concentración inhibitoria 50), que corresponde a la concentración de extracto metanólico (mg/mL) capaz de inhibir al 50 % cualquier proceso oxidativo, incluyendo los correspondientes a la cadena de radicales libres y/o al proceso de peroxidación lipídica.

La  $EC_{50}$  se calculó a través de la siguiente ecuación (**Ecuación 5**):

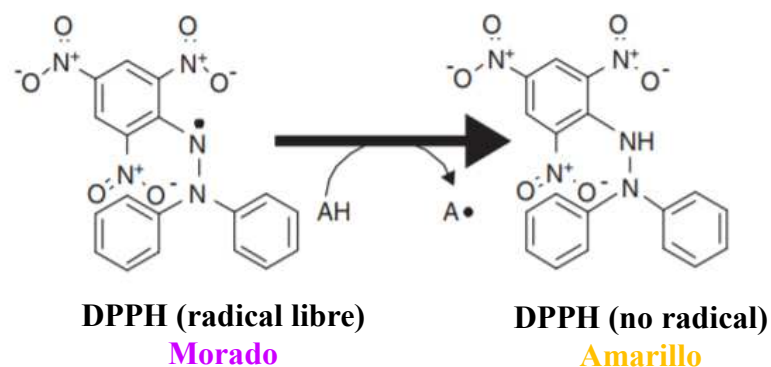
$$EC_{50} = \frac{(x_2 - x_1)}{(y_2 - y_1)} \times (50 - y_1) + x_1 \quad \text{Ecuación [5]}$$

Donde:

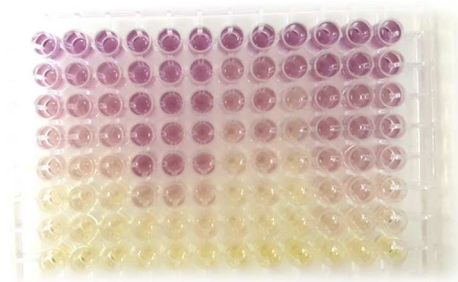
- $x_1$ : concentración (mg/mL) del extracto cuyo porcentaje de inhibición es inferior al 50%
- $x_2$ : concentración (mg/mL) del extracto cuyo porcentaje de inhibición es superior al 50%
- $y_1$ : porcentaje inhibitorio inferior al 50%
- $y_2$ : porcentaje inhibitorio superior al 50%

**Método DPPH** (*radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil*)

La actividad captadora de radicales libres se evaluó mediante el método DPPH. El radical DPPH es un radical libre con un electrón desapareado sobre un átomo de nitrógeno. Esta deslocalización hace que la molécula tenga una característica coloración púrpura, que generalmente desaparece cuando hay antioxidantes presentes en el medio. Esto se debe a que la molécula antioxidante dona un átomo de hidrógeno al radical DPPH, dando lugar a la formación de una hidrazina de color amarillo pálido (**Figura 22, Figura 23**) (Antolovich et al., 2002; Amarowicz et al., 2004; Sharma & Bhat, 2009).



**Figura 22.** Mecanismo de reducción del radical DPPH en presencia de un antioxidante (AH)  
(adaptada de Roy et al., 2010)



**Figura 23.** Placa ensayo DPPH (Foto: María Ciudad)

Según el método descrito previamente por Hatano et al. (1986) y posteriormente modificado por Barros et al. (2008b), la reacción se llevó a cabo en microplacas de 96 pocillos. En cada uno de los pocillos se adicionaron 30  $\mu\text{L}$  de las diferentes soluciones metanólicas (rango de concentraciones de 1,5625 a 100 mg/mL), empleándose un total de 7 diluciones, así como un blanco de 30  $\mu\text{L}$  de metanol. A continuación se adicionaron 270  $\mu\text{L}$  de una disolución de DPPH

en metanol ( $6 \times 10^{-5}$  mol/L) y la mezcla se incubó durante 60 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Posteriormente se evaluó la reducción de los radicales DPPH, midiendo su absorbancia a 515 nm mediante un lector de microplacas (Bio-Tek Instruments, Inc.) (**Esquema 5**).

### Esquema 5. Método DPPH

30  $\mu$ L de soluciones de extracto metanólico  
+ 270  $\mu$ L de solución metanólica de DPPH ( $6 \times 10^{-5}$  M)



Incubar 60 min a T<sup>a</sup> ambiente y en oscuridad



Leer absorbancia a 515 nm

La actividad captadora de radicales (ACR) fue calculada y expresada como porcentaje de decoloración de la solución DPPH utilizando la siguiente ecuación (**Ecuación 6**):

$$ACR(\%) = \frac{(A_{DPPH} - A_s)}{A_{DPPH}} \times 100 \quad \text{Ecuación [6]}$$

Donde:

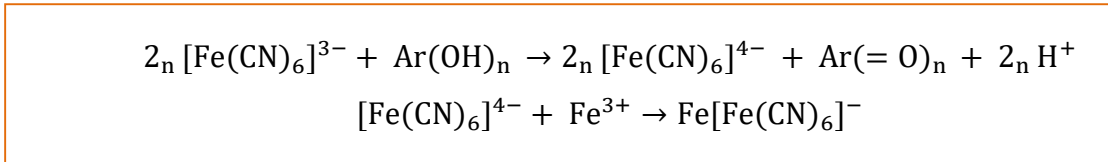
- $A_s$  es la absorbancia de la solución en la que el extracto de la muestra problema se adicionó a una determinada concentración
- $A_{DPPH}$  corresponde a la absorbancia del blanco (metanol)

El valor de  $EC_{50}$  (concentración efectiva de extracto responsable de la captación del 50 % de radicales DPPH) se calculó mediante la ecuación anteriormente descrita.

### **Método del poder reductor ( $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ )**

Este método permite medir la capacidad de los compuestos antioxidantes para reducir el hierro (de  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ ). Esta reducción se acompaña de un cambio de coloración de la solución metanólica, que pasa de amarillo a azul de Prusia. En presencia de compuestos antioxidantes  $[Ar(OH)_n]$ , el  $[Fe(CN)_6]^{3-}$  (especie oxidante) será reducido y pasará a estado de ferrocianina

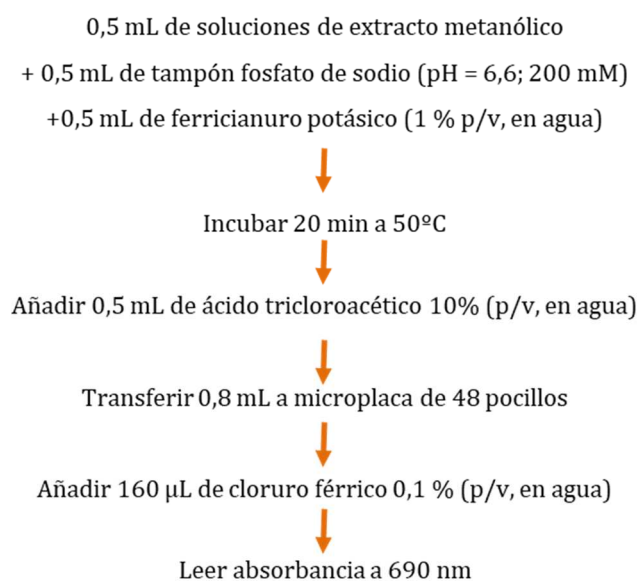
( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ) (**Figura 24**). Por su parte, los compuestos antioxidantes quedarán oxidados  $[\text{Ar}(=\text{O})_n]$ . La ferrocianina estabilizada actúa como compuesto cromogénico (azul de Prusia), de forma que la intensidad de la coloración producida se medirá espectrofotométricamente a 690 nm (Berker et al., 2007; Berker et al., 2010).

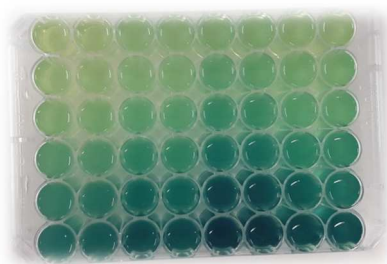


**Figura 24.** Reacciones químicas del método del poder reductor

Para llevar a cabo el ensayo, se colocaron 0,5 mL de cada una de las soluciones de extracto en un Eppendorf (2 mL) y se preparó un blanco con metanol. A continuación se adicionaron 0,5 mL de una solución de tampón fosfato de sodio (pH = 6,6; 200 mM) y 0,5 mL de ferricianuro potásico (1 % p/v, en agua). La mezcla se incubó durante 20 minutos a 50 °C y seguidamente se adicionaron 0,5 mL de ácido tricloroacético (10 % p/v, en agua) para frenar la reacción. Posteriormente se transfirió una alícuota de 0,8 mL de la mezcla a cada pocillo (en microplacas de 48 pocillos) y se adicionaron 0,8 mL de agua desionizada y 160 µL de cloruro férrico (0,1% p/v). A continuación se midió la absorbancia a 690 nm mediante un lector de microplaca (**Esquema 6**) (**Figura 25**).

**Esquema 6.** Método de poder reductor ( $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ )





**Figura 25.** Placa ensayo poder reductor (Foto: María Ciudad)

La actividad antirradicalaria del poder reductor se calcula a partir de la diferencia de absorbancia entre el blanco y la muestra problema (**Ecuación 7**).

$$\text{Actividad antirradicalaria} = (A_B - A_S) \quad \text{Ecuación [7]}$$

Donde:

- $A_S$  es la absorbancia de la solución en la que el extracto de la muestra problema se adicionó a una determinada concentración
- $A_B$  corresponde a la absorbancia del blanco (Metanol)

Posteriormente se calculó el correspondiente  $EC_{50}$  para cada extracto a partir de la siguiente ecuación (Ecuación 8):

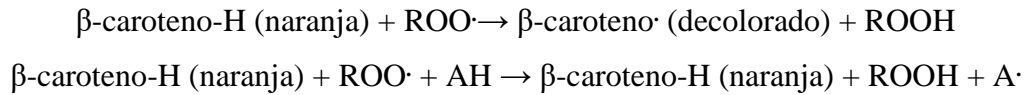
$$EC_{50} = \frac{(x_2 - x_1)}{(y_2 - y_1)} \times (0,5 - y_1) + x_1 \quad \text{Ecuación [8]}$$

Para este ensayo la  $EC_{50}$  es aquella que proporciona una absorbancia de 0,5.

### ***Método de inhibición de la decoloración del $\beta$ -caroteno***

Este método se basa en la determinación de la oxidación del  $\beta$ -caroteno por acción de los hidroperóxidos ( $ROO\cdot$ ) derivados de la oxidación del ácido linoleico. La oxidación del ácido linoleico es inespecífica y está catalizada por el calor ( $50\text{ }^\circ\text{C}$ ). Cuando el  $\beta$ -caroteno se oxida sufre una decoloración que se mide espectrofotométricamente a 470 nm. Los antioxidantes (AH) presentes en los extractos de la muestra son capaces de prevenir la decoloración del  $\beta$ -caroteno mediante la eliminación de los hidroperóxidos formados. Como resultado de estas

reacciones los compuestos antioxidantes de la muestra resultan oxidados ( $A\cdot$ ) (**Figura 26**) (Laguerre et al., 2007; Sasipriya & Siddhuraju, 2012; Singh & Singh, 2008).



**Figura 26.** Reacciones que tienen lugar durante la inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno

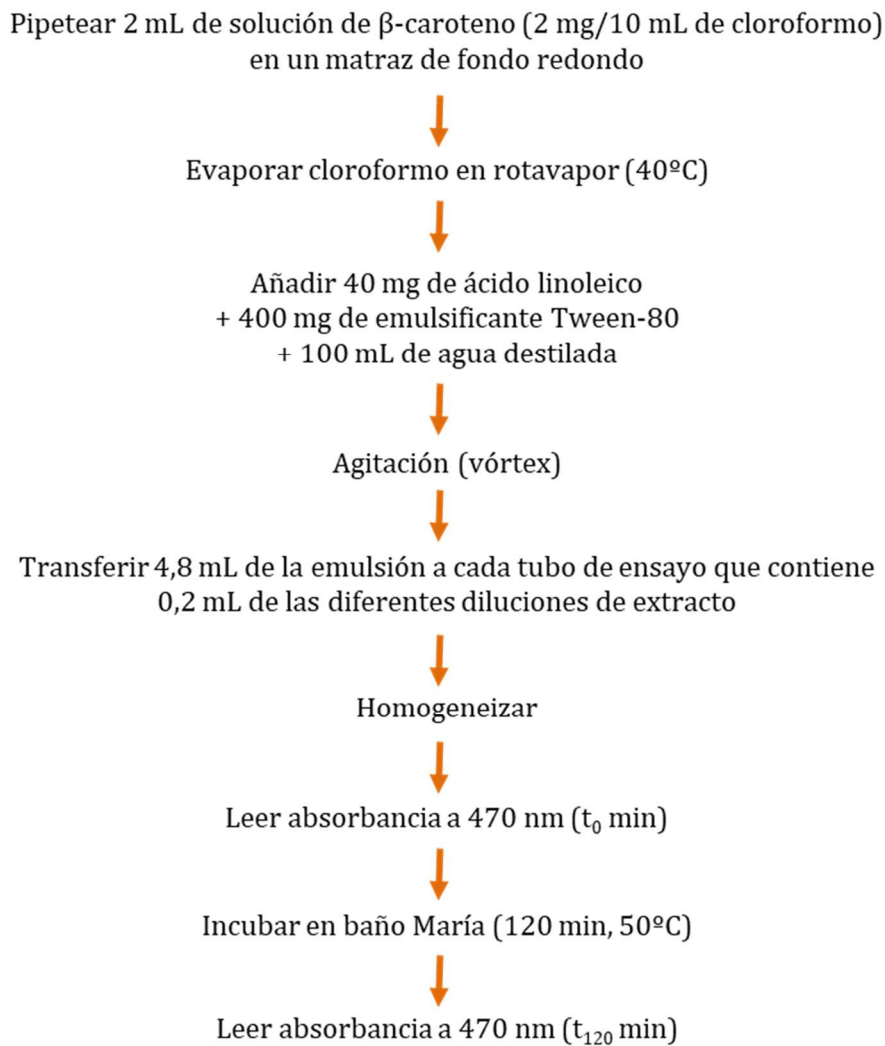
La determinación se llevó a cabo según la metodología descrita por [Fernandes et al \(2013\)](#). Para ello, previamente se preparó una solución de  $\beta$ -caroteno (2 mg) en cloroformo (10 mL) en un matraz de fondo redondo. El cloroformo se evaporó en rotavapor a 40 °C y tras este proceso se añadieron 40 mg de ácido linoleico, 400 mg de emulsificante Tween-80 y 100 mL agua destilada. Tras homogeneizar la emulsión mediante agitación vigorosa, se transfirieron alícuotas de 4,8 mL sobre diferentes tubos de ensayo, los cuales contenían alícuotas de 0,2 mL de las distintas concentraciones del extracto.

Los tubos se agitaron con vórtex y se incubaron a baño María a 50 °C durante 120 minutos. La decoloración de la solución (**Figura 27**) se midió espectrofotométricamente (a 470 nm) en dos momentos distintos: inmediatamente después de la adición de la emulsión a cada tubo (tiempo 0,  $t_0$ ) y tras el periodo de incubación de 120 minutos ( $t_{120}$ ), empleándose como blanco una solución de  $\beta$ -caroteno (**Esquema 7**).



**Figura 27.** Tubos con las diferentes decoloraciones obtenidas mediante el método de la inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno (Foto: María Ciudad)

**Esquema 7.** Ensayo de inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno



La inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno (I.D.  $\beta$ -carot) fue calculada empleando la siguiente ecuación (**Ecuación 9**):

$$\text{I. D. } \beta\text{-carot} = (\text{contenido de } \beta\text{-caroteno a } t_{120} \text{ respecto al contenido a } t_0) \times 100 \quad \text{Ecuación [9]}$$

Posteriormente se calculó el EC<sub>50</sub> (la concentración de extracto que inhibe al 50 % la decoloración del  $\beta$ -caroteno), a partir de los valores de porcentajes de inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno frente a las diferentes concentraciones del extracto.

### 3.3.7. Análisis estadístico

Con el fin de realizar una interpretación objetiva de los resultados obtenidos se llevó a cabo un estudio estadístico empleando el programa Statgraphics Plus 5.1. Los datos se analizaron

estadísticamente con un nivel de confianza del 95 %. Se llevó a cabo un **análisis de la varianza (ANOVA)** y se aplicó el test de Tukey. El nivel de significación estadística se fijó en  $p < 0,05$ .

Se realizó un **análisis de componentes principales (ACP)** para estudiar la correlación existente entre los resultados obtenidos relativos a las muestras analizadas, considerando como variables a los distintos parámetros evaluados y como “componentes” a unas nuevas variables independientes entre sí, de manera que los componentes principales caracterizan a las muestras objeto de estudio.

### **3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE HARINAS DE CEREALES**

Parte de los resultados correspondientes al análisis de las muestras de harina de trigo están recogidos en el Artículo 1 (apartado 3.4.1.), que se publicó en la revista *Nutrients* en el año 2020 (doi: 10.3390/nu12020504). En este artículo se encuentran los resultados relativos al análisis de compuestos bioactivos (fibra, arabinoxilanos, tocoferoles y compuestos fenólicos totales) así como los obtenidos de la evaluación de la actividad antioxidante de las muestras objeto de estudio. Como se ha indicado anteriormente, las determinaciones del contenido de fibra (soluble, insoluble y total) y arabinoxilanos (totales y solubles en agua) se llevaron a cabo en el Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos (Unidad de Bromatología), de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. Por su parte, los análisis de tocoferoles y de compuestos fenólicos totales, así como los ensayos de actividad antioxidante se realizaron en el Laboratorio de Química y Bioquímica Aplicada, perteneciente al Departamento de Biología y Biotecnología (DBB) del Centro de Investigación de Montaña (CIMO), Escuela Superior Agraria del Instituto Politécnico de Bragança (IPB), en el marco de una estancia internacional de investigación predoctoral realizada bajo la dirección de la Dra. Lillian Bouçada de Barros.

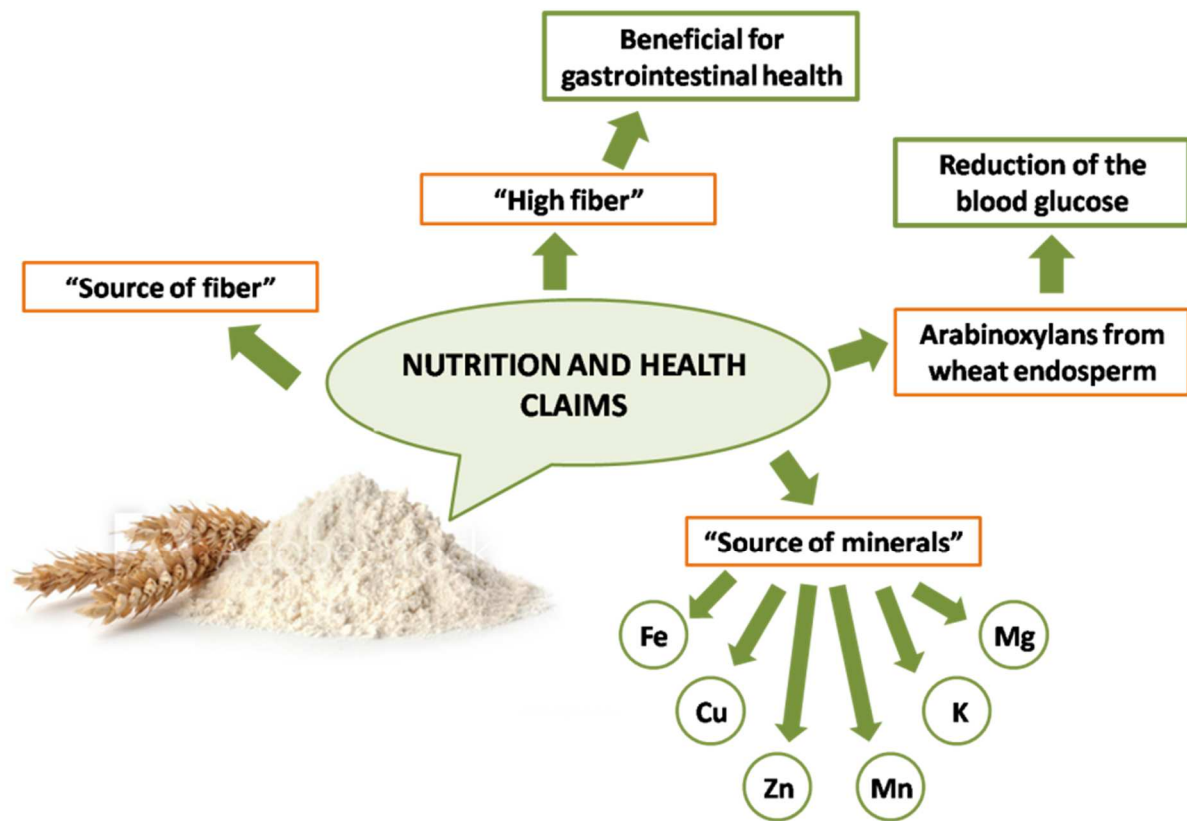
Por otro lado, los resultados correspondientes al análisis del contenido de cenizas y elementos minerales están pendientes de publicación, y se recogen en el apartado 3.4.2. (publicación en proceso de revisión).

**3.4.1. Artículo 1: Contenido de fibra, arabinosilanos, tocoferoles, compuestos fenólicos totales y evaluación de la actividad antioxidante en las muestras objeto de estudio**

**Article 1. Potential Health Claims of Durum and Bread Wheat Flours as Functional Ingredients**

Ciudad-Mulero, M., Barros, L., Fernandes, A., Ferreira, I.C.F.R., Callejo, M.J., Matallana-González, M.C., Fernández-Ruiz, V., Morales, P., & Carrillo, J.M. (2020). *Nutrients*, 12(2):504.

DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12020504>.



**Figure 28.** Graphical abstract article 1.



Article

# Potential Health Claims of Durum and Bread Wheat Flours as Functional Ingredients

María Ciudad-Mulero <sup>1,2</sup>, Lillian Barros <sup>2</sup>, Ângela Fernandes <sup>2</sup>, Isabel C.F.R. Ferreira <sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Jesús Callejo <sup>3</sup>, M<sup>a</sup> Cruz Matallana-González <sup>1</sup>, Virginia Fernández-Ruiz <sup>1</sup>, Patricia Morales <sup>1,\*</sup> and José M. Carrillo <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Nutrition and Food Science, Pharmacy Faculty, Complutense University of Madrid (UCM), Plaza Ramón y Cajal, s/n, E-28040 Madrid, Spain; mariaciudad@ucm.es (M.C.-M.); mcmatal@ucm.es (M.C.M.-G.); vfernand@ucm.es (V.F.-R.)

<sup>2</sup> Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal; lillian@ipb.pt (L.B.); afeitor@ipb.pt (Â.F.); iferreira@ipb.pt (I.C.F.R.F.)

<sup>3</sup> Unidad de Genética, Departamento de Biotecnología y Biología General, E.T.S.I.A.A.B., Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, Spain; mj.callejo@upm.es (M.J.C.); josem.carrillo@upm.es (J.M.C.)

\* Correspondence: patricia.morales@farm.ucm.es; Tel./Fax: +34-91-3941799

Received: 23 January 2020; Accepted: 13 February 2020; Published: 17 February 2020



## Abstract

Wheat is an important cereal with a key role in human nutrition. In this study, dietary fiber (DF) and arabinoxylans of different durum (*Triticum turgidum* ssp. *durum* L.) and bread (*Triticum aestivum* L.) wheat flours were analyzed in order to point out their potential nutritional and health claims allege according to the current European regulation (Regulation (EU) No 432/2012). Moreover, other bioactive compounds (phenolics and tocopherols) were quantified as a first approach to their phytochemical composition in the analyzed wheat varieties. DF was analyzed following AOAC enzymatic-gravimetric methods; arabinoxylans and total phenols were quantified by colorimetric methods; tocopherols were determined by HPLC; antioxidant activity was evaluated using three different in vitro assays. Insoluble DF was the prevailing fraction in all analyzed samples. Water extractable arabinoxylans were higher in durum wheat flours. Whole flours contained higher total phenolics compounds. Alpha-tocopherol was the major isoform. Whole flours showed higher antioxidant properties. According to the obtained results, it is possible to allege all approved health claims referred to wheat, since all analyzed samples, especially whole flour and bran fraction, showed potential health benefits, as functional ingredients or functional foods, related with their phytochemical composition.

**Keywords:** wheat fractions; EFSA nutritional and health claims; dietary fiber; arabinoxylans; tocopherols; phenolic content; antioxidant activity.

### 3.4.2. Contenido de cenizas y minerales en las harinas de trigo objeto de estudio

En las distintas muestras de harina de trigo analizadas en el presente trabajo se determinó el contenido de cenizas totales así como el contenido de elementos minerales (microelementos: Fe, Cu, Zn y Mn; y macroelementos: Ca, Mg, Na y K). Como se ha indicado anteriormente, los resultados de estos análisis están pendientes de ser publicados, y se encuentran recogidos en la **Tabla 8**.

En las muestras analizadas en el presente trabajo se comparó el contenido de elementos minerales teniendo en cuenta, por un lado, el tipo y la variedad de trigo a partir del cual se obtuvieron las harinas y, por otro lado, el año de cosecha, puesto que, como ya se ha indicado, los minerales son objeto de declaraciones nutricionales, así como de declaraciones de propiedades saludables aprobadas por la legislación vigente ([Reglamento \(CE\) N° 1924/2006](#); [Reglamento \(UE\) N° 1169/2011](#); [Reglamento \(UE\) N° 432/2012](#)) y, por lo tanto, es necesario garantizar que, independientemente del año de cosecha se reúnen las condiciones necesarias para hacer uso de estas declaraciones.

Como se puede observar en la **Tabla 8**, los minerales más abundantes en las muestras de harina de trigo objeto de estudio fueron el potasio y el magnesio, mientras que el manganeso y el cobre se encontraron en cantidades inferiores. Teniendo en cuenta el tipo de trigo empleado en la elaboración de las harinas, los resultados obtenidos sugieren que las harinas integrales, así como las fracciones de salvado obtenidas a partir de variedades de trigo blando (*Triticum aestivum* L., variedades Cajeme y Marius) tienen, en general, mayor contenido de cenizas que las correspondientes muestras procedentes de variedades de trigo duro (*Triticum turgidum* L., variedades Endural y Aldura). En el caso concreto del Mn, este mineral se encontró en concentraciones estadísticamente superiores ( $p < 0,05$ ) en las muestras obtenidas a partir de variedades de trigo blando, siendo la muestra S-C#1-Bran la que mayor contenido presentó de este mineral (8,8 mg/100 g). Para el resto de minerales analizados no se encontraron diferencias atribuibles al tipo de trigo empleado en la elaboración de las harinas.

Por otro lado, si nos fijamos en el año de cosecha se observa que, por lo general, el contenido de Fe, Cu, Mn, Na y K fue estadísticamente superior ( $p < 0,05$ ) en las muestras correspondientes al primer año de cosecha, mientras que por el contrario se aprecia que las concentraciones de Zn, Mg y Ca fueron estadísticamente mayores ( $p < 0,05$ ) en las muestras correspondientes al segundo año de cosecha (**Tabla 8**).

**Tabla 8.** Contenido de cenizas (g/100 g, sss) y de elementos minerales (mg/100 g, sss) en distintas harinas de trigo duro y trigo blando (media ± SD)

Harina blanca										
	Muestra	Cenizas	Fe	Cu	Mn	Zn	Mg	Ca	Na	K
<i>Triticum turgidum</i> L.	D-A#1-WF	0,8 ± 0,0 <sup>b,A</sup>	2,9 ± 0,2 <sup>c,B</sup>	nd	0,1 ± 0,0 <sup>a,A</sup>	2,2 ± 0,1 <sup>b,A</sup>	69,0 ± 1,2 <sup>b,A</sup>	5,8 ± 0,3 <sup>a,A</sup>	15,8 ± 4,0 <sup>b,B</sup>	107,6 ± 4,6 <sup>a,A</sup>
	D-A#2-WF	0,9 ± 0,0 <sup>b,A</sup>	1,3 ± 0,0 <sup>b,A</sup>	1,0 ± 0,1 <sup>cd</sup>	0,3 ± 0,0 <sup>b,B</sup>	4,1 ± 0,2 <sup>d,B</sup>	197,9 ± 8,7 <sup>e,B</sup>	19,6 ± 1,2 <sup>d,B</sup>	3,5 ± 0,2 <sup>a,A</sup>	168,8 ± 0,6 <sup>b,B</sup>
	D-E#1-WF*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D-E#2-WF	1,2 ± 0,1 <sup>c</sup>	2,8 ± 0,1 <sup>de</sup>	1,1 ± 0,0 <sup>d</sup>	0,3 ± 0,0 <sup>b</sup>	4,7 ± 0,2 <sup>e</sup>	223,0 ± 4,9 <sup>f</sup>	18,6 ± 0,4 <sup>d</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	165,6 ± 7,2 <sup>b</sup>
<i>Triticum aestivum</i> L.	S-C#1-WF	1,2 ± 0,1 <sup>c,B</sup>	2,5 ± 0,0 <sup>d,B</sup>	0,5 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	0,6 ± 0,0 <sup>f,B</sup>	2,7 ± 0,2 <sup>c,A</sup>	70,6 ± 3,4 <sup>b,A</sup>	12,0 ± 0,9 <sup>b,A</sup>	43,6 ± 1,9 <sup>d,B</sup>	122,6 ± 8,6 <sup>a,A</sup>
	S-C#2-WF	0,7 ± 0,0 <sup>a,A</sup>	0,7 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	1,0 ± 0,0 <sup>c,B</sup>	0,4 ± 0,0 <sup>e,A</sup>	3,0 ± 0,0 <sup>c,A</sup>	118,8 ± 0,3 <sup>d,B</sup>	18,5 ± 1,0 <sup>d,B</sup>	3,1 ± 0,4 <sup>a,A</sup>	111,7 ± 10,9 <sup>a,A</sup>
	S-M#1-WF	0,9 ± 0,1 <sup>b,B</sup>	2,1 ± 0,3 <sup>c,B</sup>	nd	0,4 ± 0,0 <sup>d,B</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	50,1 ± 2,7 <sup>a,A</sup>	10,6 ± 0,4 <sup>b,A</sup>	21,4 ± 0,2 <sup>c,B</sup>	125,1 ± 14,0 <sup>a,A</sup>
	S-M#2-WF	0,6 ± 0,0 <sup>a,A</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	0,9 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,0 <sup>c,A</sup>	2,8 ± 0,1 <sup>c,B</sup>	108,8 ± 3,0 <sup>c,B</sup>	15,2 ± 0,2 <sup>c,B</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	109,9 ± 5,9 <sup>a,A</sup>
Harina integral										
	Muestra	Cenizas	Fe	Cu	Mn	Zn	Mg	Ca	Na	K
<i>Triticum turgidum</i> L.	D-A#1-WGF	1,5 ± 0,1 <sup>ab,A</sup>	4,5 ± 0,0 <sup>c,B</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>g,B</sup>	1,5 ± 0,0 <sup>a,A</sup>	5,6 ± 0,1 <sup>b,A</sup>	138,0 ± 3,5 <sup>b,A</sup>	6,1 ± 0,2 <sup>a,A</sup>	47,8 ± 1,6 <sup>d,B</sup>	408,1 ± 10,0 <sup>e,B</sup>
	D-A#2-WGF	1,9 ± 0,2 <sup>c,B</sup>	2,8 ± 0,0 <sup>b,A</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>de,A</sup>	2,3 ± 0,2 <sup>b,B</sup>	7,8 ± 0,1 <sup>e,B</sup>	318,9 ± 1,4 <sup>d,B</sup>	25,5 ± 0,6 <sup>e,B</sup>	3,8 ± 0,0 <sup>a,A</sup>	342,9 ± 6,4 <sup>bc,A</sup>
	D-E#1-WGF	1,4 ± 0,0 <sup>a,A</sup>	4,6 ± 0,1 <sup>c,A</sup>	0,6 ± 0,0 <sup>a,A</sup>	1,2 ± 0,0 <sup>a,A</sup>	6,6 ± 0,0 <sup>c,A</sup>	163,0 ± 3,6 <sup>c,A</sup>	5,4 ± 0,2 <sup>a,A</sup>	43,9 ± 3,1 <sup>d,B</sup>	408,9 ± 3,9 <sup>e,B</sup>
	D-E#2-WGF	2,2 ± 0,0 <sup>d,B</sup>	6,6 ± 0,0 <sup>e,B</sup>	1,3 ± 0,1 <sup>bc,B</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>c,B</sup>	8,0 ± 0,0 <sup>e,B</sup>	344,2 ± 2,4 <sup>e,B</sup>	29,7 ± 1,9 <sup>f,B</sup>	3,4 ± 0,1 <sup>a,B</sup>	332,6 ± 11,7 <sup>ab,A</sup>
<i>Triticum aestivum</i> L.	S-C#1-WGF	1,9 ± 0,0 <sup>c,B</sup>	5,7 ± 0,2 <sup>d,B</sup>	1,9 ± 0,2 <sup>f,B</sup>	3,2 ± 0,0 <sup>d,B</sup>	5,8 ± 0,1 <sup>b,A</sup>	114,5 ± 2,7 <sup>a,A</sup>	14,3 ± 0,2 <sup>c,A</sup>	24,3 ± 1,9 <sup>b,B</sup>	383,5 ± 2,6 <sup>de,B</sup>
	S-C#2-WGF	1,6 ± 0,0 <sup>b,A</sup>	4,2 ± 0,5 <sup>c,A</sup>	1,4 ± 0,0 <sup>cd,A</sup>	2,4 ± 0,2 <sup>b,A</sup>	9,5 ± 0,3 <sup>f,B</sup>	315,7 ± 1,5 <sup>d,B</sup>	23,8 ± 0,3 <sup>de,B</sup>	3,7 ± 0,2 <sup>a,A</sup>	304,2 ± 2,6 <sup>a,A</sup>
	S-M#1-WGF	1,9 ± 0,1 <sup>c,A</sup>	2,2 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	1,9 ± 0,3 <sup>ef,B</sup>	2,9 ± 0,1 <sup>c,B</sup>	4,6 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	112,0 ± 3,7 <sup>a,A</sup>	12,2 ± 0,9 <sup>b,A</sup>	36,3 ± 3,0 <sup>c,B</sup>	553,5 ± 31,6 <sup>f,B</sup>
	S-M#2-WGF	2,1 ± 0,0 <sup>d,B</sup>	2,7 ± 0,3 <sup>b,B</sup>	1,0 ± 0,0 <sup>b,A</sup>	2,4 ± 0,0 <sup>b,A</sup>	7,3 ± 0,2 <sup>d,B</sup>	385,1 ± 2,4 <sup>f,B</sup>	22,1 ± 0,2 <sup>d,B</sup>	3,9 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	368,1 ± 21,2 <sup>cd,A</sup>

En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), comparando mediante el Test de Tukey. Las letras minúsculas indican diferencias entre todas las harinas analizadas (blancas, integrales o fracción de salvado), mientras que las letras mayúsculas indican diferencias debidas al año de cosecha para la misma variedad de trigo.

nd: no detectado

\*Debido a que la muestra D-E # 1-WF no estuvo disponible, los resultados correspondientes a las muestras D-E # 1-WF y D-E # 1- Bran no se muestran en la tabla.

Tabla 8 (Continuación).

		Salvado								
	Muestra	Cenizas	Fe	Cu	Mn	Zn	Mg	Ca	Na	K
<i>Triticum turgidum</i> L.	D-A#1- Bran	2,8 ± 0,2 <sup>a,A</sup>	7,1 ± 0,2 <sup>c,B</sup>	6,4 ± 0,3 <sup>d,B</sup>	3,8 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	11,3 ± 0,3 <sup>ab,A</sup>	255,6 ± 9,3 <sup>b,A</sup>	6,5 ± 0,6 <sup>a,A</sup>	47,7 ± 4,7 <sup>b,B</sup>	919,8 ± 20,9 <sup>c,B</sup>
	D-A#2- Bran	3,5 ± 0,3 <sup>bc,B</sup>	4,8 ± 0,0 <sup>b,A</sup>	2,5 ± 0,2 <sup>b,A</sup>	5,2 ± 0,4 <sup>b,B</sup>	12,8 ± 0,4 <sup>c,B</sup>	486,0 ± 10,3 <sup>c,B</sup>	33,6 ± 1,6 <sup>c,B</sup>	3,6 ± 0,4 <sup>a,A</sup>	583,3 ± 14,3 <sup>a,A</sup>
	D-E#1- Bran*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D-E#2- Bran	3,7 ± 0,0 <sup>bcd</sup>	12,1 ± 0,1 <sup>d</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	6,2 ± 0,3 <sup>c</sup>	12,6 ± 0,4 <sup>bc</sup>	518,8 ± 10,8 <sup>d</sup>	43,1 ± 1,5 <sup>e</sup>	6,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	572,9 ± 43,3 <sup>a</sup>
<i>Triticum aestivum</i> L.	S-C#1- Bran	3,4 ± 0,1 <sup>b,A</sup>	12,6 ± 0,6 <sup>d,A</sup>	4,9 ± 0,5 <sup>c,B</sup>	8,8 ± 0,1 <sup>f,B</sup>	12,2 ± 0,3 <sup>bc,A</sup>	207,9 ± 1,2 <sup>a,A</sup>	20,3 ± 1,8 <sup>b,A</sup>	60,6 ± 6,4 <sup>c,B</sup>	937,9 ± 26,3 <sup>c,B</sup>
	S-C#2- Bran	3,9 ± 0,0 <sup>d,B</sup>	12,8 ± 1,0 <sup>d,A</sup>	2,3 ± 0,1 <sup>b,A</sup>	6,8 ± 0,6 <sup>cd,A</sup>	24,4 ± 1,1 <sup>e,B</sup>	775,2 ± 5,6 <sup>e,B</sup>	35,7 ± 3,2 <sup>cd,B</sup>	5,7 ± 0,7 <sup>a,A</sup>	753,4 ± 38,0 <sup>b,A</sup>
	S-M#1- Bran	3,8 ± 0,2 <sup>cd,A</sup>	2,3 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	5,3 ± 0,4 <sup>c,B</sup>	8,1 ± 0,3 <sup>c,B</sup>	10,6 ± 0,2 <sup>a,A</sup>	237,8 ± 6,3 <sup>b,A</sup>	16,6 ± 1,1 <sup>b,A</sup>	65,8 ± 6,1 <sup>c,B</sup>	1.371,5 ± 45,3 <sup>d,B</sup>
	S-M#2- Bran	5,5 ± 0,1 <sup>e,B</sup>	6,5 ± 0,8 <sup>c,B</sup>	1,3 ± 0,1 <sup>a,A</sup>	7,0 ± 0,1 <sup>d,A</sup>	17,2 ± 1,0 <sup>d,B</sup>	1.000,1 ± 13,4 <sup>f,B</sup>	37,4 ± 1,1 <sup>d,B</sup>	5,4 ± 0,4 <sup>a,A</sup>	920,0 ± 39,1 <sup>c,A</sup>

En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), comparando mediante el Test de Tukey. Las letras minúsculas indican diferencias entre todas las harinas analizadas (blancas, integrales o fracción de salvado), mientras que las letras mayúsculas indican diferencias debidas al año de cosecha para la misma variedad de trigo.

nd: no detectado

\*Debido a que la muestra D-E # 1-WF no estuvo disponible, los resultados correspondientes a las muestras D-E # 1-WF y D-E # 1- Bran no se muestran en la tabla

### 3.5. DISCUSIÓN INTEGRADORA DE HARINAS DE CEREALES

#### 3.5.1. Estudio del contenido de fibra y arabinoxilanos

Los cereales y, en concreto, el trigo, destacan por ser una fuente importante de fibra, la cual, como se ha indicado anteriormente, juega un papel protector frente a distintas enfermedades, entre las que se incluyen el cáncer de colon o la diabetes (McRae, 2018; Ötles & Ozgoz, 2014; Tao et al., 2018; Vignola et al., 2016; Yao et al., 2014).

En el presente estudio se analizó el contenido de distintas fracciones de fibra (insoluble, soluble y total), así como el contenido de arabinoxilanos (solubles en agua y totales) de diferentes harinas, obtenidas a partir de variedades distintas de trigo duro (*Triticum turgidum* L., variedades Endural y Aldura) y de trigo blando (*Triticum aestivum* L., variedades Cajeme y Marius).

Los resultados del análisis estadístico muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en cuanto al contenido de **fibra** total en las distintas fracciones de harina blanca analizadas, atribuyéndose estas diferencias a los distintos años de cosecha. Sin embargo, en el caso de las harinas integrales y de la fracción de salvado, las diferencias encontradas en el contenido de fibra total se deben principalmente al tipo de trigo (duro o blando) empleado en la elaboración de las mismas. En este sentido, todas las harinas integrales analizadas y todas las fracciones de salvado obtenidas a partir de variedades de trigo blando, presentaron cantidades significativamente mayores ( $p < 0,05$ ) de fibra total que las fracciones correspondientes, obtenidas de variedades de trigo duro.

El contenido de fibra total en las harinas de trigo duro (*T. turgidum*, variedades Endural y Aldura), varió entre 5,4 y 7,0 g/100 g en las harinas blancas, entre 13,1 y 17,0 g/100 g en las harinas integrales y entre 23,5 y 32,1 g/100 g en la fracción de salvado. Por su parte, en el caso de las muestras de trigo blando (*T. aestivum*, variedades Cajeme y Marius), los valores de fibra total encontrados oscilaron entre 4,7 - 6,9 g/100 g, 18,2 - 19,8 g/100 g y 46,1 - 51,6 g/100 g, en las harinas blancas, integrales y fracciones de salvado, respectivamente.

Teniendo en cuenta los valores de fibra obtenidos y de acuerdo con el [Reglamento \(CE\) N° 1924/2006](#), puede decirse que las harinas blancas analizadas en la presente Tesis Doctoral son “fuente de fibra”, puesto que contienen más de 3 g de fibra por 100 g (ssf). Además, tanto las harinas integrales objeto de estudio, como las fracciones de salvado, pueden hacer uso de la

declaración “*alto contenido de fibra*”, debido a que su contenido es superior a 6 g por 100 g (ssf).

La fibra desempeña un papel importante en la función gastrointestinal y, en este sentido, las fracciones de salvado analizadas cumplen las condiciones establecidas para el uso de las siguientes declaraciones de propiedades saludables, de acuerdo con el [Reglamento \(UE\) N° 432/2012](#) y el [Reglamento \(CE\) N° 1924/2006](#):

- “*La fibra de salvado de trigo contribuye a la aceleración del tránsito intestinal*” (es importante indicar que el [Reglamento \(UE\) N° 432/2012](#) establece que para que un producto pueda llevar esta declaración, será necesario informar al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene con una ingesta diaria de 10 g de fibra de salvado de trigo).
- “*La fibra de salvado de trigo contribuye a que aumente el volumen de las heces*”.

Desde que el término “alimento funcional” se introdujo por primera vez en Japón en 1984, numerosos autores han propuesto distintas definiciones para este concepto ([Domínguez Díaz et al., 2019](#)). Según el Proyecto Europeo “Functional Food Science in Europe” (FUFOSE), los alimentos funcionales se definen como aquellos alimentos que han demostrado satisfactoriamente que ejercen un efecto beneficioso sobre una o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de tal forma que resulten apropiados para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas. Es importante destacar que los alimentos funcionales deben ser alimentos (no son cápsulas, píldoras, o cualquier otra forma farmacéutica) y deben demostrar sus efectos beneficiosos en las cantidades en que se consumen normalmente en la dieta ([ILSI, 1999](#)). De acuerdo con esta definición y teniendo en cuenta los datos relativos al contenido de fibra de las muestras analizadas, las fracciones de salvado objeto de estudio podrían ser consideradas como alimentos/ingredientes funcionales, ya que han demostrado científicamente, siguiendo los criterios requeridos por EFSA, un efecto beneficioso relacionado con la salud gastrointestinal, lo que queda reflejado en las alegaciones de propiedades saludables autorizadas por la Autoridad Europea.

Existen varios estudios publicados en los que se determina el contenido de fibra en distintas harinas de trigo (**Tabla 9**). [Rainakari et al. \(2016\)](#) analizaron harinas integrales y obtuvieron valores de fibra total de 10,2 – 15,7 g/100 g. Estos valores fueron más bajos que los encontrados en nuestro estudio. Sin embargo, en harinas integrales de trigo duro, se han encontrado valores

de fibra total (12,7 – 20,0 g/100 g) (Marotti et al., 2012) similares a los que se presentan en este trabajo. En el caso de la fracción de salvado, la literatura científica recoge valores de fibra parecidos a los obtenidos en el presente estudio, con cifras de 28,8 g/100 g (Sobota et al., 2015) y 43,38 g/100 g (Schmiele et al., 2012).

Entre los proyectos que se han llevado a cabo en los últimos años sobre el estudio de los cereales, destaca el proyecto HEALTHGRAIN. Como parte de este proyecto se investigó la variación encontrada en el contenido de fibra en distintas variedades de trigo, observándose que el valor medio de fibra total en 150 líneas de trigo blando fue de 15,1 g/100 g (Shewry et al., 2013), lo que concuerda con los resultados obtenidos en el presente trabajo, donde el contenido medio de fibra total en las harinas de grano entero fue 16,8 g/100 g.

En todos los casos, la fracción de fibra insoluble fue la mayoritaria, llegando a representar el 96 % de la fibra total (como en el caso de la muestra S-M#1-WF), mientras que la fracción de fibra soluble se encontró en menores cantidades. Como se indicó en la introducción, esta tendencia es característica de los cereales (Tabla 2). En el caso concreto de las harinas de trigo, se ha visto que la fracción de fibra insoluble representa entre el 70 – 85 % de la fibra total (Gélinas & McKinnon, 2013; Marotti et al., 2012). En cuanto a la fibra soluble, Marotti et al. (2012) observaron que el contenido de esta fracción en distintas harinas integrales de trigo duro varió entre 1,8 y 3,7 g/100 g. Por su parte, Sobota et al. (2015) analizaron el contenido de las distintas fracciones de fibra en el salvado de trigo, obteniendo valores de 23,7 y 5,1 g/100 g para la fibra insoluble y soluble, respectivamente.

Teniendo en cuenta que la Ingesta Diaria Recomendada (IDR) de fibra es de 25 g/día (EFSA, 2010), el consumo de 100 g de las harinas integrales de trigo analizadas podría cubrir más del 52,4 % de esta IDR, como sería el caso de la harina integral de la variedad Aldura.

**Tabla 9.** Contenido de fibra (insoluble, soluble y total) y arabinosilanos (totales y solubles en agua) en harinas de trigo blanca, integral y en salvado recogidos en la literatura científica (sss)

Harina Blanca						
	FDI	FDS	FDT	WE-AX	TO-AX	Referencias
<i>Triticum turgidum L.</i>	-	-	-	0.42 – 0.68	1.52 – 1.75	<a href="#">Marcotuli et al., 2016</a>
	<b>4.4 – 5.5*</b>	<b>0.9 – 1.2*</b>	<b>5.4 – 7.0*</b>	<b>0.5 – 1.0*</b>	<b>4.2 – 6.8*</b>	<a href="#">Ciudad-Mulero et al., 2020a</a>
<i>Triticum aestivum L.</i>	-	-	-	0.35 – 0.72	4.43 – 5.65	<a href="#">Vignola et al., 2016</a>
	-	-	-	0.25 – 1.4	1.35 – 2.75	<a href="#">Shewry et al., 2013</a>
	2.8	0.8	3.6	0.50	1.90 – 2.00	<a href="#">Frølich &amp; Asp, 1981</a> ; <a href="#">Gebruers et al., 2008</a>
	-	-	-	0.24 – 1.03	1.31 – 2.73	<a href="#">Gebruers et al., 2010</a>
	<b>4.5 – 6.5*</b>	<b>0.1 – 0.4*</b>	<b>4.7 – 6.9*</b>	<b>0.3 – 0.9*</b>	<b>4.9 -7.0*</b>	<a href="#">Ciudad-Mulero et al., 2020a</a>
Harina Integral						
	FDI	FDS	FDT	WE-AX	TO-AX	Referencias
<i>Triticum turgidum L.</i>	10.2 – 18.1	1.8 – 3.7	12.7 – 20.0	-	2.69 – 3.56	<a href="#">Marotti et al., 2012</a>
	-	-	12.2	-	1.06	<a href="#">Giordano et al., 2019</a>
	8.2	3.1	11.3	0.38 – 1.00	3.35 – 4.56	<a href="#">De Santis et al., 2018</a> ; <a href="#">Sobota et al., 2015</a>
	9.93 – 12.52	2.54 – 4.30	-	-	4.81 – 7.92	<a href="#">Simsek et al., 2019</a>
	<b>12.1 – 15.9*</b>	<b>0.9 – 3.2*</b>	<b>13.1 – 17.0*</b>	<b>0.8 – 1.1*</b>	<b>6.7 – 8.2*</b>	<a href="#">Ciudad-Mulero et al., 2020a</a>
<i>Triticum aestivum L.</i>	8.38 – 10.63	1.31 – 3.37	9.69 – 13.97	-	1.35	<a href="#">Giordano et al., 2019</a> ; <a href="#">Ramulu &amp; Rao, 1997</a>
	7.2 – 11.4	1.1 – 2.6	10.2 – 15.7	-	-	<a href="#">Rainakari et al., 2016</a>
	9.8 - 11.5	3.7 – 4.3	13.8 – 15.3	0.33 – 0.75	8.18 – 10.78	<a href="#">Gélinas &amp; McKinnon, 2013</a> ; <a href="#">Vignola et al., 2016</a>
	-	-	9.6 – 14.4	-	4.4 – 6.9	<a href="#">Gebruers et al., 2010</a>
	<b>17.2 – 18.3*</b>	<b>0.8 – 1.6*</b>	<b>18.2 – 19.8*</b>	<b>0.5 – 0.9*</b>	<b>6.5 – 8.5*</b>	<a href="#">Ciudad-Mulero et al., 2020a</a>

\* Valores correspondientes a las muestras analizadas en el presente estudio

**Tabla 9** (Continuación).

Salvado						
	<b>FDI</b>	<b>FDS</b>	<b>FDT</b>	<b>WE-AX</b>	<b>TO-AX</b>	<b>Referencias</b>
<i>Triticum turgidum</i> L.	35.0 – 46.5 <b>22.8 – 25.7*</b>	3.96 – 7.92 <b>0.8 – 6.5*</b>	39.95 – 52.47 <b>23.5 – 32.1*</b>	0.54 – 0.95 <b>1.1 – 1.9*</b>	11.0 – 16.4 <b>7.7 – 13.5*</b>	<a href="#">Marcotuli et al., 2016; Sharanappa et al., 2016</a> <a href="#">Ciudad-Mulero et al., 2020a</a>
<i>Triticum aestivum</i> L.	23.7 - 17.8 – 22.0 <b>43.2 – 47.4*</b>	5.11 9.82 3.96 – 4.0 <b>2.1 – 4.2*</b>	28.8 43.20 21.74 – 26.0 <b>46.1 - 51.6*</b>	0.3 – 0.85 0.40 0.27 – 0.75 <b>0.3 – 1.7*</b>	10.9 – 22.1 16.8 – 18.0 12.1 – 22.6 <b>6.3 – 13.8*</b>	<a href="#">Sobota et al., 2015; Shewry et al., 2013</a> <a href="#">Gebruers et al., 2008; Yan et al., 2015</a> <a href="#">Gebruers et al., 2010; Sharanappa et al., 2016</a> <a href="#">Ciudad-Mulero et al., 2020a</a>

\* Valores correspondientes a las muestras analizadas en el presente estudio

Si comparamos el trigo con otros cereales (**Tabla 10**), se observa que, por lo general, el trigo presenta un contenido de fibra total (9,2 – 20,0 g/100 g) mayor que el arroz (2,5 – 9,9 g/100 g) y el maíz (3,7 – 19,6 g/100 g) e inferior a la avena (9,8 – 37,7 g/100 g), la cebada (10,1 – 27,9 g/100 g) g/100 g y el centeno (9,6 – 20,9 g/100 g). No obstante, no se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en cuanto al contenido de fibra insoluble y soluble en los cereales objeto de comparación.

**Tabla 10.** Contenido de fibra (insoluble, soluble y total) y arabinosilanos totales (AX) en distintos cereales (valores expresados en g/100 g, sss)

		Fibra Total	Fibra Insoluble	Fibra Soluble	AX	Referencias
<b>Trigo</b> ( <i>Triticum aestivum</i> L., <i>Triticum durum</i> Desf.)	<b>Rango</b>	9,2 – 20,0	5,4 – 18,1	0,4 – 0,8	0,5 – 8,8	Amalraj & Pius, 2015; Ciccoritti et al., 2011; De Santis et al., 2018; Dodevska et al., 2013; Escarnot et al., 2015; Frølich et al., 2013; Knudsen et al., 2017; Marotti et al., 2012; Messia et al., 2017; Rainakari et al., 2016; Vitaglione et al., 2008
	<b>Media</b>	<b>13,7<sup>abc</sup></b>	<b>11,0<sup>a</sup></b>	<b>2,6<sup>a</sup></b>	<b>4,9<sup>ab</sup></b>	
<b>Arroz</b> ( <i>Oryza sativa</i> L.)	<b>Rango</b>	2,5 – 9,9	1,0 – 5,4	0,6 – 5,2	0,4 – 0,5	Amalraj & Pius, 2015; Cáceres et al., 2014; Dodevska et al., 2013; Knudsen et al., 2017; Prasad et al., 2018
	<b>Media</b>	<b>5,8<sup>a</sup></b>	<b>3,3<sup>a</sup></b>	<b>2,8<sup>a</sup></b>	<b>0,5<sup>a</sup></b>	
<b>Maíz</b> ( <i>Zea mays</i> L.)	<b>Rango</b>	3,7 – 19,6	3,1 – 16,0	0,3 – 5,4	1,4 – 4,7	Amalraj & Pius, 2015; Dodevska et al., 2013; Knudsen et al., 2017; Prasanthi et al., 2017; Srichuwong et al., 2017; Vitaglione et al., 2008
	<b>Media</b>	<b>11,1<sup>ab</sup></b>	<b>9,0<sup>a</sup></b>	<b>2,2<sup>a</sup></b>	<b>3,1<sup>ab</sup></b>	
<b>Avena</b> ( <i>Avena sativa</i> L.)	<b>Rango</b>	9,8 – 37,7	6,0 – 33,9	2,9 – 20,0	2,0 – 2,1	Dhingra et al., 2012; Frølich et al., 2013; Khan et al., 2016; Knudsen et al., 2017; Manthey et al., 1999; Rasane et al., 2015; Sterna et al., 2016; Tang & Tsao, 2017; Vitaglione et al., 2008
	<b>Media</b>	<b>15,6<sup>bc</sup></b>	<b>12,4<sup>a</sup></b>	<b>7,3<sup>a</sup></b>	<b>2,1<sup>ab</sup></b>	
<b>Cebada</b> ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	<b>Rango</b>	10,1 – 27,9	7,1 – 22,1	1,7 – 9,3	3,1 -11,4	Collar & Angioloni, 2014; Djurle et al., 2016; Honcú et al., 2016; Messia et al., 2017; Saeed et al., 2011; Šterna et al., 2017; Tang & Tsao, 2017; Teixeira et al., 2016; Vitaglione et al., 2008
	<b>Media</b>	<b>19,1<sup>c</sup></b>	<b>12,5<sup>a</sup></b>	<b>4,6<sup>a</sup></b>	<b>6,5<sup>ab</sup></b>	
<b>Centeno</b> ( <i>Secale cereale</i> L.)	<b>Rango</b>	9,6 – 20,9	10,8 – 16,0	3,4 – 6,6	3,1 – 12,1	Bucsell et al., 2016; Frølich et al., 2013; Hansen et al., 2003; Knudsen et al., 2017; Nyström et al., 2008; Vitaglione et al., 2008
	<b>Media</b>	<b>17,4<sup>bc</sup></b>	<b>13,5<sup>a</sup></b>	<b>4,4<sup>a</sup></b>	<b>7,3<sup>b</sup></b>	

Los rangos de variación así como los valores medios se han calculado en base a los datos encontrados en la literatura científica. En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), tras análisis estadístico (ANOVA simple) mediante el test de Tukey. AX: arabinosilanos

Como se ha indicado con anterioridad, los **arabinosilanos** (AX) son los principales polisacáridos no celulósicos en los cereales. Los AX son hemicelulosas formadas por una cadena principal lineal de xilosa sustituida con cadenas laterales de arabinosa. Estos compuestos no se distribuyen uniformemente en el grano de trigo (representan el 20 -27 % de la aleurona, 23 - 32 % del salvado y 2 - 4 % del endospermo), localizándose principalmente en las fracciones de salvado y aleurona (De Santis et al., 2018; Marotti et al., 2012; Mendis & Simsek, 2014). Los AX pueden clasificarse en función de su solubilidad en AX solubles en agua (WE-AX) e insolubles en agua (WU-AX). El contenido de AX en la harina de trigo es relativamente bajo, pero se trata de compuestos que juegan un papel importante en la funcionalidad de la harina (Vignola et al., 2016).

Por otro lado, desde el punto de vista de la salud humana, los AX son compuestos muy interesantes con numerosos beneficios asociados a su consumo. Destacan por su efecto prebiótico y por sus propiedades antioxidantes, las cuáles se relacionan con su papel protector frente al cáncer de colon. Además, los AX tienen efectos beneficiosos a nivel metabólico ya que contribuyen a mantener niveles adecuados de colesterol y glucosa en sangre (Broekaert et al., 2011; Chen et al., 2019).

En las muestras analizadas en este estudio, el contenido total de AX (TO-AX) osciló entre 4,2 – 7,0 g/100 g en las harinas blancas, entre 6,5 – 8,5 g/100 g en las harinas integrales, y entre 6,3 – 13,8 g/100 g en las distintas fracciones de salvado. En el caso del contenido de AX solubles en agua (WE-AX), se obtuvieron los siguientes valores: 0,3 – 1,0 g/100 g (harina blanca), 0,5 – 1,1 g/100 g (harina integral) y 0,3 – 1,9 g/100 g (fracción de salvado). En general, los WE-AX fueron mayoritarios en las muestras obtenidas a partir de variedades de trigo duro (*T. turgidum*, variedades Endural y Aldura).

De acuerdo con el [Reglamento \(UE\) N° 432/2012](#) los arabinosilanos producidos a partir del albumen de trigo tienen autorizado el uso de la siguiente declaración de propiedades saludables: “*el consumo de arabinosilanos en una comida contribuye a reducir la subida de glucosa en sangre después de comer*”. No obstante, en el citado Reglamento se especifica que esta declaración solo puede utilizarse respecto a alimentos que contengan, como mínimo, 8 g de fibra con alto contenido de arabinosilanos producidos a partir del albumen de trigo (al menos un 60 % de arabinosilanos en peso) por 100 g de hidratos de carbono presentes en una porción cuantificada en una comida. Además, para que un producto pueda llevar esta declaración, se informará al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene tomando fibra con alto

contenido de arabinosilanos producidos a partir del albumen de trigo como parte del alimento. En este sentido, las muestras D-E#2-WF, S-C#1-WF y S-M#1-WF reúnen las condiciones necesarias para poder hacer uso de esta declaración de propiedades saludables y podrían considerarse como alimentos funcionales. Resulta interesante destacar que la única declaración de propiedades saludables autorizada relativa a los AX se centra concretamente en los arabinosilanos producidos a partir del albumen de trigo, de manera que se pone en valor el hecho de que las harinas de trigo poseen propiedades importantes para ser utilizadas como ingredientes funcionales en el desarrollo de diferentes productos alimenticios y revaloriza la importancia para la salud de los alimentos elaborados a base de esta materia prima.

Existen varios estudios en los que se analiza el contenido de arabinosilanos, tanto totales como solubles en agua, en diferentes harinas de trigo (**Tabla 9**). [Vignola et al. \(2016\)](#) determinaron el contenido de estos compuestos en harinas (blancas e integrales) obtenidas a partir de 11 variedades distintas de trigo, y obtuvieron valores de TO-AX comprendidos entre 7,59 – 12,80 g/100 g y 4,43 – 5,65g/100 g, en harinas integrales y harinas blancas, respectivamente. En este mismo estudio se analizó el contenido de WE-AX, observando que estos se encontraron en mayor cantidad en la fracción de harina blanca (0,33 – 0,75 g/100 g) que en la harina integral (0,35 – 0,72 g/100 g). Esta circunstancia se observó también en nuestro estudio, en las muestras obtenidas a partir de la variedad de trigo blando Cajeme, y podría deberse a que en las harinas integrales se reduce la extracción de los WE-AX por una menor accesibilidad del agua (solvente de extracción). [Turner et al. \(2008\)](#) indicaron que el contenido de WE-AX es especialmente importante en el caso de las harinas producidas a partir de variedades de trigo duro. Estas harinas se utilizan en la elaboración de pasta alimenticia y un alto contenido de WE-AX se relaciona con una mejor calidad de la pasta, ya que estos compuestos aumentan la absorción de agua y reducen la resistencia de la masa, de forma que mejora tanto la resistencia como las propiedades de adherencia de la pasta cocida. Teniendo en cuenta estos hechos y, centrándonos en las muestras analizadas en el presente estudio, podemos ver que las harinas de trigo integrales obtenidas a partir de variedades de trigo duro, mostraron mayor contenido de WE-AX que las correspondientes muestras obtenidas a partir de variedades de trigo blando. Por lo tanto, las harinas de trigo duro analizadas tendrían unas características óptimas para ser empleadas en la elaboración de pasta alimenticia.

[Marotti et al. \(2012\)](#) estudiaron el contenido de AX en 10 variedades distintas de trigo duro y sus resultados muestran que el contenido medio de TO-AX en las harinas integrales fue de 3,27 g/100 g, es decir, ligeramente inferior al obtenido para las muestras analizadas en nuestro

trabajo. Como parte de las determinaciones llevadas a cabo en el proyecto HEALTHGRAIN, se cuantificó el contenido de AX en distintas variedades de trigo, obteniéndose valores medios de TO-AX (1,93 g/ 100 g) inferiores a los encontrados en este trabajo, y valores medios de WE-AX (0,51 g/100 g) similares a los obtenidos en el presente estudio (Shewry et al., 2013).

Comparando el contenido de AX de las fracciones de salvado de trigo analizadas con los valores recogidos en la literatura científica se observa que otros autores han obtenido valores similares de TO-AX (12,0 – 13,7 g/100 g) y WE-AX (0,4 – 0,74 g/100 g) en salvado de trigo duro (Gebruers et al., 2008; Marcotuli et al., 2016). Estos valores son muy similares a los que presenta la muestra D-A#2-Bran, analizada en el presente estudio (13,5 g de TO-AX por 100 g de harina; 1,1 g de WE-AX por 100 g de harina). Por otro lado, Cardone et al. (2020) analizaron el contenido de AX en el salvado de trigo blando y encontraron valores de TO-AX y WE-AX de 14,4 y 0,22 g/100 g, respectivamente. Estos valores son muy parecidos a los obtenidos para la muestra S-C#2- Bran (13,8 g de TO-AX por 100 g de harina; 0,3 g de WE-AX por 100 g de harina). Sin embargo, Gebruers et al. (2008) obtuvieron valores más altos de TO-AX (16,8 – 18,0 g/100 g) en salvado de trigo blando.

En cuanto a los factores que influyen en la variabilidad encontrada en el contenido de arabinosilanos, Vignola et al. (2016) comprobaron que el año de recolección del trigo es uno de los factores que más condiciona el contenido de TO-AX en las harinas, mientras que el contenido del WE-AX es más dependiente del genotipo. Coincidiendo con estas observaciones, en el caso de las muestras analizadas en el presente trabajo, el contenido de TO-AX fue significativamente ( $p < 0,05$ ) mayor en las harinas integrales correspondientes al segundo año de cosecha. Además, por lo general, el contenido de WE-AX fue superior en todas las muestras de trigo duro (*T. turgidum*) analizadas, en comparación con las correspondientes muestras de trigo blando (*T. aestivum*).

Por último, si comparamos el trigo con otros cereales (Tabla 10), se observa que el trigo presenta un contenido total de arabinosilanos (0,5 – 8,8 g/100 g) superior que el arroz (0,4 – 0,5 g/100 g) y significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) que el centeno (3,1 – 12,1 g/100 g). Además, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en cuanto al contenido de arabinosilanos entre el trigo, el maíz (1,4 – 4,7 g/100 g), la cebada (3,1 – 11,4 g/100 g) y la avena (2,0 – 2,1 g/100 g).

### 3.5.2. Estudio del contenido de tocoferoles

Como se ha explicado anteriormente, el término “vitamina E” se emplea para designar a una familia de compuestos antioxidantes de naturaleza lipídica, que incluye 8 tipos diferentes de compuestos bioactivos: los tocoferoles ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ -tocoferol) y los tocotrienoles ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ -tocotrienol) (Hussain et al., 2012).

Tanto los tocoferoles como los tocotrienoles presentan un grupo hidroxilo (-OH) libre capaz de estabilizar radicales libres y de frenar la propagación de las reacciones de oxidación que transcurren en cadena. Por lo tanto, este grupo -OH es el responsable de la actividad antioxidante de la vitamina E.

Además de sus propiedades antioxidantes, los tocoferoles presentes en los cereales se relacionan con numerosos beneficios para la salud humana, ya que estos compuestos están implicados en la prevención de distintas enfermedades, entre las que se incluyen las enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Gani et al., 2012).

En el trigo, el  $\alpha$ -tocoferol y el  $\beta$ -tocoferol son los vitámeros mayoritarios (Hussain et al., 2012). Se sabe que el proceso de molienda afecta negativamente al contenido de vitamina E presente en los granos de trigo, de manera que disminuye el contenido de estos compuestos (Nielsen & Hansen, 2008). En el grano de trigo, la fracción del germen y la capa de aleurona son las más ricas en tocoferoles y, por lo tanto, durante el proceso de refinado de las harinas se produce una pérdida sustancial de estos compuestos bioactivos (Engelsen & Hansen, 2009; Sedej et al., 2010).

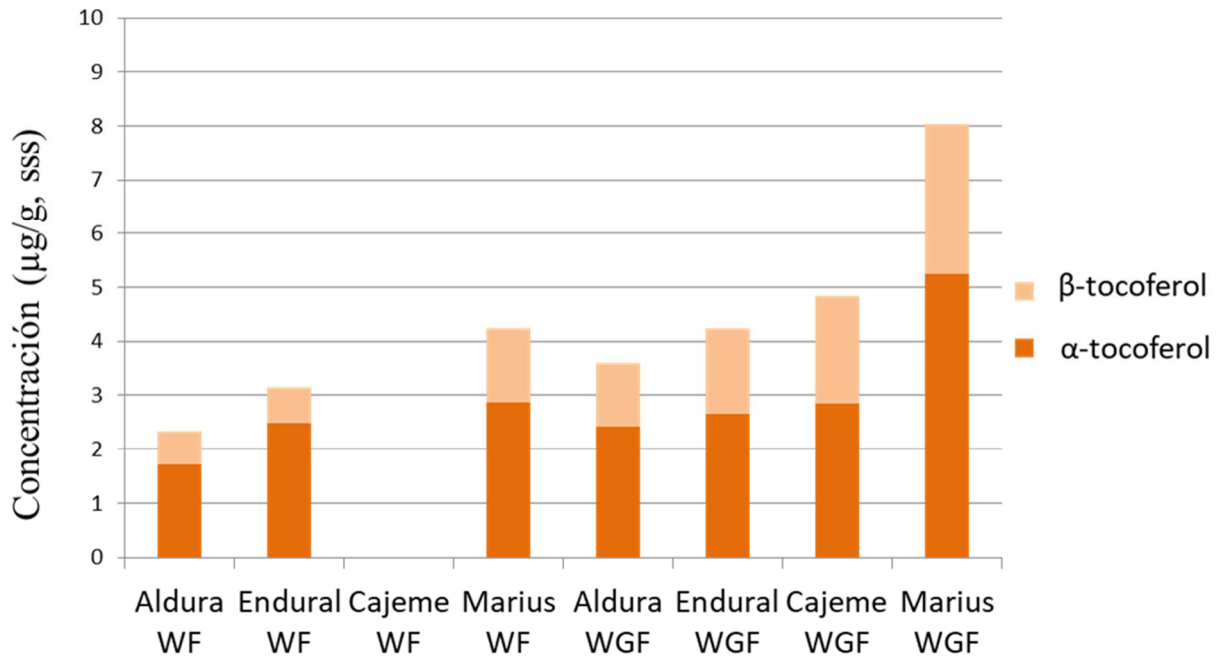
En las harinas de trigo analizadas en el presente trabajo, el contenido total de tocoferoles (**Tabla 11, Figura 29**) estuvo comprendido entre 2,34  $\mu\text{g/g}$  (sss) (en la harina blanca de la variedad Aldura) y 8,02  $\mu\text{g/g}$  (sss) (en la harina integral de la variedad Marius). Como era de esperar, el contenido total de tocoferoles fue significativamente superior ( $p < 0,05$ ) en todas las muestras de harina integral, en comparación con las correspondientes muestras de harina blanca. En todas las muestras analizadas se identificaron los vitámeros de  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -tocoferol, salvo en el caso de la harina blanca de la variedad Cajeme, en la cual no se encontró ningún tipo de tocoferol. En todos los casos, el  $\alpha$ -tocoferol fue el vitámero mayoritario. Estableciendo una comparación entre el contenido de tocoferoles encontrado en las harinas procedentes de variedades de trigo duro y el encontrado en harinas procedentes de variedades de trigo blando, se observa que el contenido total de tocoferoles en las harinas integrales fue significativamente superior ( $p <$

0,05) en las muestras obtenidas a partir de variedades de trigo blando. Este mayor contenido total de tocoferoles se debió principalmente a la mayor cantidad de  $\alpha$ - y  $\beta$ -tocoferoles. También se observó que, dentro de las harinas integrales de trigo duro, la variedad Endural mostró una concentración de tocoferoles significativamente superior ( $p < 0,05$ ) que la variedad Aldura, mientras que en las harinas integrales de trigo blando, la variedad Marius resultó mucho más rica ( $p < 0,05$ ) en tocoferoles que la variedad Cajeme.

**Tabla 11.** Contenido total de tocoferoles ( $\mu\text{g/g}$ , sss) en harinas de trigo duro y trigo blando de las 8 variedades distintas de trigo analizadas (media  $\pm$  SD)

Harina blanca		
	Variedad de trigo	Contenido total de tocoferoles
<i>Triticum turgidum</i> L.	Aldura	2,34 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
	Endural	3,16 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>
<i>Triticum aestivum</i> L.	Cajeme	Nd
	Marius	4,24 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
Harina integral		
	Variedad de trigo	Contenido total de tocoferoles
<i>Triticum turgidum</i> L.	Aldura	3,63 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
	Endural	4,26 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>
<i>Triticum aestivum</i> L.	Cajeme	4,85 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
	Marius	8,02 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>

En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), comparando mediante el Test de Tukey. nd: no detectado.



**Figura 29.** Contenido de  $\alpha$ - y  $\beta$ -tocoferol ( $\mu\text{g/g}$ ) en harinas de trigo duro y trigo blando de las 8 variedades distintas de trigo analizadas. (WF: harina blanca; WGF: harina integral).

Los resultados que se muestran en este trabajo concuerdan con los obtenidos previamente por otros autores (**Tabla 12**). [Sedej et al. \(2010\)](#) evaluaron el contenido de tocoferoles en distintas harinas de trigo y observaron que el contenido total de estos compuestos fue superior en la harina integral, en comparación con la harina blanca. Además observaron que el vitámero más abundante fue el  $\alpha$ -tocoferol. En otro estudio llevado a cabo por [Engelsen & Hansen \(2009\)](#) se analizó el contenido de vitamina E en distintas fracciones obtenidas de la molienda del trigo y los resultados mostraron que la harina contenía  $7,8 \mu\text{g/g}$  de  $\alpha$ -tocoferol y  $4,6 \mu\text{g/g}$  de  $\beta$ -tocoferol, siendo estos valores superiores a los obtenidos en el presente trabajo. Sin embargo, [Lv et al. \(2012\)](#) evaluaron el contenido de tocoferoles en 10 variedades de trigo blando (*Triticum aestivum*) llamadas SS520, SSMPV57, SS5205, USG3555, USG3665, USG3315, Branson, Shirley, Jamestown y Chesapeake y sus resultados relativos al contenido de  $\alpha$ -tocoferol en la harina blanca fueron inferiores ( $0,3$  y  $0,59 \mu\text{g/g}$ ) a los que se muestran en el presente estudio. Esta variabilidad en el contenido de tocoferoles pone de manifiesto la influencia que los factores genéticos tienen sobre la concentración de estos compuestos en los granos de trigo.

**Tabla 12.** Contenido de tocoferoles ( $\mu\text{g/g}$  sss) en distintos harinas de trigo blanca e integral presentes en la literatura científica

<b>Harina Blanca</b>				
	<b><math>\alpha</math>- tocoferol</b>	<b><math>\beta</math>- tocoferol</b>	<b>Tocoferoles totales</b>	<b>Referencias</b>
<i>Triticum turgidum</i> L.	1,72 – 2,48*	0,62 – 0,68*	2,34 – 3,16*	Ciudad-Mulero et al., 2020a
	9,6	4,5	-	Nielsen & Hansen, 2008
<i>Triticum</i>	3,34	2,00	-	Labuschagne et al., 2017
<i>aestivum</i> L.	3,65	1,13	-	Zielinski et al., 2001a
	0,90	-	1,13	Sedej et al., 2010
	nd – 2,88*	nd – 1,36*	nd – 4,24*	Ciudad-Mulero et al., 2020a
<b>Harina Integral</b>				
	<b><math>\alpha</math>- tocoferol</b>	<b><math>\beta</math>- tocoferol</b>	<b>Tocoferoles totales</b>	<b>Referencias</b>
<i>Triticum</i>	4,72 –	-	5,91 – 13,45	Žilić et al., 2010
	4,16	-	9,20 – 15,05	Fares et al., 2008; Laddomada et al., 2015
<i>turgidum</i> L.	6,5 – 7,0	1,7 – 2,1	8,6 – 8,7	Fратиanni et al., 2013
	2,42 –	1,19 –	3,63 – 4,26*	Ciudad-Mulero et al., 2020a
	8,49 – 13,7	4,32 – 5,23	-	Hejtmánková et al., 2010
	3,9 – 24,0	3,3 – 6,4	21,8 – 58,1	Kim & Kim, 2016
	11,4	4,3	-	Nielsen & Hansen, 2008
<i>Triticum</i>	13,3	6,43	-	Labuschagne et al., 2017
	10,1 – 19,9	3,6 – 11,0	-	Lampi et al., 2010
<i>aestivum</i> L.	4,02 – 19,7	2,12 – 6,16	-	Lachman et al., 2018
	6,06	4,23	-	Zielinski et al., 2001a
	10,88	-	13,73	Sedej et al., 2010
	4,34 – 9,15	-	5,93 – 12,56	Žilić et al., 2010
	2,84 –	2,01 –	4,85 – 8,02*	Ciudad-Mulero et al., 2020a
<b>Salvado</b>				
	<b><math>\alpha</math>- tocoferol</b>	<b><math>\beta</math>- tocoferol</b>	<b>Tocoferoles totales</b>	<b>Referencias</b>
<i>Triticum aestivum</i> L.	6 – 31	5 – 16	-	Górnaś et al., 2015

\*Valores correspondientes a las muestras analizadas en el presente estudio

Por último, si comparamos con otros cereales, no se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en cuanto al contenido de tocoferoles ( $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -tocoferol y tocoferoles totales) presentes en el trigo, arroz, maíz, avena, cebada y centeno (**Tabla 13**).

**Tabla 13.** Contenido de tocoferoles ( $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -tocoferol y tocoferoles totales) en distintos cereales (valores expresados en mg/100 g, sss)

		$\alpha$ -tocoferol	$\beta$ -tocoferol	Tocoferoles totales	Referencias
<b>Trigo</b> ( <i>Triticum aestivum</i> L., <i>Triticum durum</i> Desf.)	<b>Rango</b>	0,07 – 2,40	0,12 – 0,78	0,84 – 1,57	Hejtmánková et al., 2010; Kim & Kim, 2016; Labuschagne et al., 2017; Lachman et al., 2018; Lampi et al., 2010; Nielsen & Hansen, 2008; Okarter et al., 2010; Wyatt et al., 1998; Zielinski et al., 2001a
	<b>Media</b>	<b>1,18<sup>a</sup></b>	<b>0,46<sup>a</sup></b>	<b>1,21<sup>a</sup></b>	
<b>Arroz</b> ( <i>Oryza sativa</i> L.)	<b>Rango</b>	nd – 4,91	0,01 – 0,76	0,11 – 10,88	Aguilar-García et al., 2007; Goufo & Trindade, 2014; Shammugasamy et al., 2014; Wyatt et al., 1998
	<b>Media</b>	<b>1,07<sup>a</sup></b>	<b>0,22<sup>a</sup></b>	<b>2,59<sup>a</sup></b>	
<b>Maíz</b> ( <i>Zea mays</i> L.)	<b>Rango</b>	0,40 – 7,48	-	1,96 – 12,07	Chander et al., 2008; Ryan et al., 2007; Wyatt et al., 1998
	<b>Media</b>	<b>2,94<sup>a</sup></b>	-	<b>7,36<sup>a</sup></b>	
<b>Avena</b> ( <i>Avena sativa</i> L.)	<b>Rango</b>	0,02 – 1,80	0,05 – 1,38	0,26 – 0,76	Bryngelsson et al., 2002; Van den Broeck et al., 2016; Wyatt et al., 1998; Zielinski et al., 2001a
	<b>Media</b>	<b>0,68<sup>a</sup></b>	<b>0,89<sup>a</sup></b>	<b>0,51<sup>a</sup></b>	
<b>Cebada</b> ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	<b>Rango</b>	0,29 – 1,50	0,01 – 0,05	0,32	Lachman et al., 2018; Nielsen & Hansen, 2008; Ryan et al., 2007; Zielinski et al., 2001a
	<b>Media</b>	<b>0,87<sup>a</sup></b>	<b>0,03<sup>a</sup></b>	<b>0,32<sup>a</sup></b>	
<b>Centeno</b> ( <i>Secale cereale</i> L.)	<b>Rango</b>	0,30 – 1,10	0,21 – 0,25	1,31	Nielsen & Hansen, 2008; Ryan et al., 2007; Zielinski et al., 2001a
	<b>Media</b>	<b>0,78<sup>a</sup></b>	<b>0,23<sup>a</sup></b>	<b>1,31<sup>a</sup></b>	

Los rangos de variación así como los valores medios se han calculado en base a los datos encontrados en la literatura científica. En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), tras análisis estadístico (ANOVA simple) mediante el test de Tukey.

### 3.5.3. Estudio del contenido de fenoles totales

Los compuestos fenólicos no se distribuyen de manera uniforme en el grano de trigo, siendo la fracción de salvado la que presenta mayor concentración de estos compuestos, entre los que se incluyen el ácido vanílico, el ácido *p*-cumárico y, especialmente, el ácido ferúlico (Li et al., 2007). Durante el proceso de molienda en la obtención de la harina blanca, se eliminan el salvado y el germen de trigo, lo que resulta en una menor cantidad de fibra, vitaminas, minerales y compuestos fenólicos. Por esta razón, se recomienda que la mitad de los granos de cereales que se consumen sean cereales de grano completo, promoviéndose el consumo de harinas integrales frente a las harinas blancas (Harris & Kris-Etherton, 2010; Ortega et al., 2015).

Se sabe que las propiedades antioxidantes del trigo están enormemente condicionadas por la cantidad de compuestos fenólicos totales presentes en el grano de cereal (Lv et al., 2012). En el trigo, los ácidos fenólicos generalmente están unidos a otros compuestos, como la celulosa, los glucanos, los pentosanos o el almidón. La mayor concentración de flavonoides así como de ácidos fenólicos se encuentra en la capa de aleurona de los cereales, mientras que estos compuestos están presentes en menor cantidad en el embrión (Kosík et al., 2014; Vaher et al., 2010). En concreto, Beta et al. (2005) observaron que los compuestos fenólicos se concentraban principalmente en las capas externas del grano de trigo. De acuerdo con estas observaciones, los resultados del presente estudio muestran que, en el caso de todas las variedades de trigo analizadas, el contenido total de compuestos fenólicos fue mayor en las harinas integrales, en comparación con las harinas blancas (Tabla 14).

El contenido de fenoles totales en las distintas muestras de harinas de trigo analizadas osciló entre 5,44 – 26 mg GAE/g de extracto, en las muestras de harina blanca de la variedad Aldura y harina integral de la variedad Marius, respectivamente. Se observó que, dentro de las harinas integrales, la muestra correspondiente a la variedad de trigo duro Marius mostró un contenido fenólico total significativamente superior ( $p < 0,05$ ) que el resto de harinas integrales analizadas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en distintos estudios realizados anteriormente por otros autores (Tabla 15).

**Tabla 14.** Contenido de fenoles totales (mg GAE/g extracto) en distintas harinas de trigo duro y trigo blando (media  $\pm$  SD)

Harina blanca		
	Variedad de trigo	Contenido de fenoles totales
<i>Triticum turgidum</i> L.	Aldura	5,44 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>
	Endural	14,6 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>
<i>Triticum aestivum</i> L.	Cajeme	14,2 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>
	Marius	11,1 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
Harina integral		
	Variedad de trigo	Contenido de fenoles totales
<i>Triticum turgidum</i> L.	Aldura	20,7 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>
	Endural	20 $\pm$ 1 <sup>a</sup>
<i>Triticum aestivum</i> L.	Cajeme	20,0 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>
	Marius	26 $\pm$ 1 <sup>b</sup>

En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), comparando mediante el Test de Tukey.

Kosík et al. (2014) evaluaron el contenido de fenoles libres y la actividad antioxidante de distintas fracciones de harina (harina blanca, harina integral y fracción de salvado) obtenidas a partir de trigo blando (*Triticum aestivum* L.), en el marco de un sistema agrícola ecológico. Estos autores observaron que el contenido de fenoles libres fue superior en las harinas integrales (185,57  $\mu$ g GAE/g), en comparación con las harinas blancas (97,04  $\mu$ g GAE/g). Por otro lado, Vaher et al. (2010) analizaron el contenido de fenoles totales en granos de trigo, así como en las fracciones de harina blanca y de salvado de distintas variedades de trigo. En este estudio, el contenido de fenoles totales (determinado usando el método de Folin-Ciocalteu) fue mayor en la fracción de salvado (1.258 – 3.157  $\mu$ g/g), mientras que los granos de trigo y la harina blanca mostraron concentraciones inferiores (168 - 459 y 44 - 140  $\mu$ g/g, respectivamente).

**Tabla 15.** Contenido de fenoles totales (mg GAE/g) en harinas de trigo blanca e integral encontrados en la literatura científica

<b>Harina Blanca</b>		
	<b>Fenoles totales</b>	<b>Referencias</b>
<i>Triticum turgidum</i> L.	5,44 – 14,6*	Ciudad-Mulero et al., 2020a
	0,10	Kosik et al., 2014
	0,31	Li et al., 2015
<i>Triticum aestivum</i> L.	0,17 – 0,18	Yu & Beta, 2015
	0,04 – 0,1	Vaher et al., 2010
	11,1 – 14,2*	Ciudad-Mulero et al., 2020a
<b>Harina Integral</b>		
	<b>Fenoles totales</b>	<b>Referencias</b>
<i>Triticum turgidum</i> L.	1,05 – 1,78	Abozed et al., 2014
	1,63	Yilmaz & Koca, 2017
	20 – 20,7*	Ciudad-Mulero et al., 2020a
	1,11 – 2,57	Abozed et al., 2014
	0,19	Kosik et al., 2014
<i>Triticum aestivum</i> L.	0,74	Li et al., 2015
	0,17 – 0,50	Vaher et al., 2010
	4,46 -5-32	Kim & Kim, 2016
	20 -26*	Ciudad-Mulero et al., 2020a
<b>Salvado</b>		
	<b>Fenoles totales</b>	<b>Referencias</b>
<i>Triticum turgidum</i> L.	2,64 – 3,88	Abozed et al., 2014
	1,99 – 4,66	Abozed et al., 2014
<i>Triticum aestivum</i> L.	0,49	Kosik et al., 2014
	1,26 – 3,16	Vaher et al., 2010

\*Valores correspondientes a las muestras analizadas en el presente estudio (expresados en mg GAE/g extracto)

Por último, si comparamos el contenido fenólico total del trigo con el que presentan otros cereales (**Tabla 16**), se puede observar que este contenido es estadísticamente superior ( $p < 0,05$ ) en el trigo (105 - 346,7 mg/100 g) que en otros cereales, como el arroz (38,9 – 88,5 mg/100 g), el maíz (115,4 – 244,9 mg/100 g), la avena (101,7 – 168,4 g/100 g), la cebada (25,1 – 106,0 g/100 g) o el centeno (48,2 – 219 g/100 g).

**Tabla 16.** Contenido de fenoles totales en distintos cereales (valores expresados en mg/100 g, sss)

	Contenido fenólico total		Referencias
<b>Trigo</b> ( <i>Triticum aestivum</i> L., <i>Triticum durum</i> Desf.)	<b>Rango</b>	105,0 – 346,7	Abozed et al., 2014; Mpofo et al., 2006; Prajapati et al., 2013
	<b>Media</b>	<b>215,7<sup>b</sup></b>	
<b>Arroz</b> ( <i>Oryza sativa</i> L.)	<b>Rango</b>	38,9 – 88,5	Gujral et al., 2012; Prajapati et al., 2013
	<b>Media</b>	<b>69,2<sup>ab</sup></b>	
<b>Maíz</b> ( <i>Zea mays</i> L.)	<b>Rango</b>	115,4 – 244,9	Bacchetti et al., 2013; Prajapati et al., 2013
	<b>Media</b>	<b>178,6<sup>ab</sup></b>	
<b>Avena</b> ( <i>Avena sativa</i> L.)	<b>Rango</b>	101,7 – 168,4	Multari et al., 2018; Tong et al., 2014b
	<b>Media</b>	<b>135,5<sup>ab</sup></b>	
<b>Cebada</b> ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	<b>Rango</b>	25,1 – 106,0	Ha et al., 2016; Kim et al., 2007
	<b>Media</b>	<b>57,2<sup>a</sup></b>	
<b>Centeno</b> ( <i>Secale cereale</i> L.)	<b>Rango</b>	48,2 - 219	Mishra et al., 2017; Warechowska et al., 2019
	<b>Media</b>	<b>111,5<sup>ab</sup></b>	

Los rangos de variación así como los valores medios se han calculado en base a los datos encontrados en la literatura científica. En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), tras análisis estadístico (ANOVA simple) mediante el test de Tukey.

### 3.5.4. Estudio del contenido de cenizas y minerales

Los minerales son esenciales para correcto funcionamiento del organismo y deben formar parte de la alimentación humana puesto que no pueden ser sintetizados (Carbajal et al., 2013). Deficiencias en la ingesta de minerales se relacionan con alteraciones en la salud y con el desarrollo de diferentes patologías. A largo plazo, una dieta cuyo aporte de elementos minerales (Fe, Zn, Ca, Mg, etc.) sea deficiente, influye de manera negativa en la salud humana, por lo que es importante aumentar la biodisponibilidad y/o las concentraciones de estos compuestos en la dieta. En este sentido resulta muy interesante el empleo de recursos genéticos y agronómicos, que permitan mejorar la calidad nutricional de las harinas de trigo mediante la obtención de variedades con altos contenidos en elementos minerales (Carrillo, 2012; Fernández-Ruiz et al., 2011).

El trigo es una excelente fuente de elementos minerales, los cuales, como ya se ha indicado, se distribuyen de forma heterogénea en las distintas partes del grano de cereal. El contenido de

estos micronutrientes está enormemente influenciado por factores ambientales, como la temperatura o el grado de precipitaciones registradas en la zona de cultivo. Además, las interacciones que tienen lugar entre el medio ambiente y el genotipo repercuten en la concentración de minerales encontrada en el trigo. En concreto, [Vignola et al. \(2016\)](#) observaron que el contenido de minerales dentro del mismo cultivar era dependiente del año de cosecha. Estos autores destacaron la importancia de la temperatura ambiental antes de la floración, la cual influye en el desarrollo del embrión y condiciona la concentración de elementos minerales presentes en el grano de trigo.

Teniendo en cuenta el contenido de minerales presente en las muestras analizadas, las harinas de trigo objeto de estudio reúnen las condiciones necesarias para hacer uso de ciertas declaraciones de propiedades saludables tal y como se recoge en la legislación vigente ([Reglamento \(CE\) N° 1924/2006](#); [Reglamento \(UE\) N° 1169/2011](#); [Reglamento \(UE\) N° 432/2012](#)) (**Tabla 17**), las cuales podrían respaldar la posibilidad de considerar estas harinas y, especialmente las harinas integrales y las fracciones de salvado, como ingredientes funcionales en la elaboración de distintos productos alimenticios.

**Tabla 17.** Declaraciones de propiedades saludables relativas al contenido de elementos minerales aplicables a las distintas harinas de trigo analizadas, de acuerdo con el [Reglamento \(UE\) N° 432/2012](#) y el [Reglamento \(CE\) N° 1924/2006](#).

Elemento mineral	Declaración de propiedades saludables autorizada	Condiciones de uso de la declaración	Muestras que reúnen las condiciones de uso de la declaración
<b>Hierro</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– “El hierro contribuye a la función cognitiva normal”.</li> <li>– “El hierro contribuye al metabolismo energético normal”.</li> <li>– “El hierro contribuye a la formación normal de glóbulos rojos y de hemoglobina”.</li> <li>– “El hierro contribuye al transporte normal de oxígeno en el cuerpo”.</li> <li>– “El hierro contribuye al funcionamiento normal del sistema inmunitario”.</li> <li>– “El hierro ayuda a disminuir el cansancio y la fatiga”.</li> <li>– “El hierro contribuye al proceso de división celular”.</li> </ul>	Estas declaraciones solo pueden utilizarse respecto a alimentos que son, como mínimo, fuente de hierro (al menos <b>2.1 mg de hierro por 100 g de alimento</b> ) de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1924/2006 y el Reglamento (UE) N° 1169/2011.	<p><b>Harina blanca:</b> muestras D-A#1-WF, D-E#2-WF y S-C#1-WF.</p> <p><b>Harina integral:</b> todas las muestras analizadas (con la excepción de la muestra S-M#1-WGF).</p> <p><b>Fracción de salvado:</b> todas las muestras analizadas.</p>

Tabla 17 (continuación).

Elemento mineral	Declaración de propiedades saludables autorizada	Condiciones de uso de la declaración	Muestras que reúnen las condiciones de uso de la declaración
<b>Cobre</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– “El cobre contribuye al mantenimiento del tejido conectivo en condiciones normales”.</li> <li>– “El cobre contribuye al metabolismo energético normal”.</li> <li>– “El cobre contribuye al funcionamiento normal del sistema nervioso”.</li> <li>– “El cobre contribuye a la pigmentación normal del cabello”.</li> <li>– “El cobre contribuye al transporte normal de hierro en el organismo”.</li> <li>– “El cobre contribuye a la pigmentación normal de la piel”.</li> <li>– “El cobre contribuye al funcionamiento normal del sistema inmunitario”.</li> <li>– “El cobre contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo”.</li> </ul>	Estas declaraciones solo pueden utilizarse respecto a alimentos que son, como mínimo, fuente de cobre (al menos <b>0,15 mg de cobre por 100 g de alimento</b> ) de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1924/2006 y el Reglamento (UE) N° 1169/2011.	<p><b>Harina blanca:</b> todas las muestras analizadas (con la excepción de las muestras D-A#1-WF y S-M#1-WF).</p> <p><b>Harina integral:</b> todas las muestras analizadas.</p> <p><b>Fracción de salvado:</b> todas las muestras analizadas.</p>
<b>Manganeso</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– “El manganeso contribuye al metabolismo energético normal”.</li> <li>– “El manganeso contribuye al mantenimiento de los huesos en condiciones normales”.</li> <li>– “El manganeso contribuye a la formación normal del tejido conectivo”.</li> <li>– “El manganeso contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo”.</li> </ul>	Estas declaraciones solo pueden utilizarse respecto a alimentos que son, como mínimo, fuente de manganeso (al menos <b>0,3 mg de manganeso por 100 g de alimento</b> ) de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1924/2006 y el Reglamento (UE) N° 1169/2011.	<p><b>Harina blanca:</b> muestras S-C#1-WF, S-C#2-WF y S-M#1-WF</p> <p><b>Harina integral:</b> todas las muestras analizadas.</p> <p><b>Fracción de salvado:</b> todas las muestras analizadas.</p>

**Tabla 17** (continuación).

Elemento mineral	Declaración de propiedades saludables autorizada	Condiciones de uso de la declaración	Muestras que reúnen las condiciones de uso de la declaración
<b>Zinc</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– “El zinc contribuye al equilibrio ácido-base normal”.</li> <li>– “El zinc contribuye al metabolismo normal de los hidratos de carbono”.</li> <li>– “El zinc contribuye a la función cognitiva normal”.</li> <li>– “El zinc contribuye a la síntesis normal del ADN”.</li> <li>– “El zinc contribuye a la fertilidad y reproducción normales”.</li> <li>– “El zinc contribuye al metabolismo normal de los macronutrientes”.</li> <li>– “El zinc contribuye al metabolismo normal de los ácidos grasos”.</li> <li>– “El zinc contribuye al metabolismo normal de la vitamina A”.</li> <li>– “El zinc contribuye a la síntesis proteínica normal”.</li> <li>– “El zinc contribuye al mantenimiento de los huesos en condiciones normales”.</li> <li>– “El zinc contribuye al mantenimiento del cabello en condiciones normales”.</li> <li>– “El zinc contribuye al mantenimiento de las uñas en condiciones normales”.</li> <li>– “El zinc contribuye al mantenimiento de la piel en condiciones normales”.</li> <li>– “El zinc contribuye al mantenimiento de niveles normales de testosterona”.</li> <li>– “El zinc contribuye al mantenimiento de la visión en condiciones normales”.</li> <li>– “El zinc contribuye al funcionamiento normal del sistema inmunitario”.</li> <li>– “El zinc contribuye a la protección de las células frente al daño oxidativo”.</li> <li>– “El zinc contribuye al proceso de división celular”.</li> </ul>	<p>Estas declaraciones solo pueden utilizarse respecto a alimentos que son, como mínimo, fuente de zinc (al menos <b>1,5 mg de zinc por 100 g de alimento</b>) de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1924/2006 y el Reglamento (UE) N° 1169/2011.</p>	<p><b>Harina blanca:</b> todas las muestras analizadas (con la excepción de la muestra S-M#1-WF).</p> <p><b>Harina integral:</b> todas las muestras analizadas.</p> <p><b>Fracción de salvado:</b> todas las muestras analizadas.</p>

Tabla 17 (continuación).

Elemento mineral	Declaración de propiedades saludables autorizada	Condiciones de uso de la declaración	Muestras que reúnen las condiciones de uso de la declaración
<b>Magnesio</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– “El magnesio ayuda a disminuir el cansancio y la fatiga”.</li> <li>– “El magnesio contribuye al equilibrio electrolítico”.</li> <li>– “El magnesio contribuye al metabolismo energético normal”.</li> <li>– “El magnesio contribuye al funcionamiento normal del sistema nervioso”</li> <li>– “El magnesio contribuye al funcionamiento normal de los músculos”.</li> <li>– “El magnesio contribuye a la síntesis proteica normal”.</li> <li>– “El magnesio contribuye a la función psicológica normal”.</li> <li>– “El magnesio contribuye al mantenimiento de los huesos en condiciones normales”.</li> <li>– “El magnesio contribuye al mantenimiento de los dientes en condiciones normales”.</li> <li>– “El magnesio contribuye al proceso de división celular”.</li> </ul>	Estas declaraciones solo pueden utilizarse respecto a alimentos que son, como mínimo, fuente de magnesio (al menos <b>56.25 mg de magnesio por 100 g de alimento</b> ) de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1924/2006 y el Reglamento (UE) N° 1169/2011.	<p><b>Harina blanca:</b> todas las muestras analizadas (con la excepción de la muestra S-M#1-WF).</p> <p><b>Harina integral:</b> todas las muestras analizadas.</p> <p><b>Fracción de salvado:</b> todas las muestras analizadas.</p>
<b>Potasio</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– “El potasio contribuye al funcionamiento normal del sistema nervioso”.</li> <li>– “El potasio contribuye al funcionamiento normal de los músculos”.</li> <li>– “El potasio contribuye al mantenimiento de la tensión arterial normal”.</li> </ul>	Estas declaraciones solo pueden utilizarse respecto a alimentos que son, como mínimo, fuente de potasio (al menos <b>300 mg de potasio por 100 g de alimento</b> ) de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1924/2006 y el Reglamento (UE) N° 1169/2011.	<p><b>Harina integral:</b> todas las muestras analizadas (con la excepción de la muestra S-C#2-WGF).</p> <p><b>Fracción de salvado:</b> todas las muestras analizadas.</p>

El contenido de elementos minerales en distintos tipos de harina de trigo ha sido ampliamente estudiado por varios autores (Tabla 18). Vignola et al. (2016) analizaron once variedades comerciales de trigo blando procedentes de Argentina y observaron que el K fue el mineral predominante en los cultivares estudiados, seguido por el Mg. Esta tendencia coincide con la observada en las muestras analizadas en la presente Tesis Doctoral. Además, Vignola et al. (2016) destacaron que, tanto el genotipo como el año de cosecha influyen de manera significativa en la concentración de minerales presentes en el grano de trigo. En el caso de nuestras muestras, el año de cosecha se relacionó con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en cuanto al contenido de Fe, Cu, Mn, Na y K, siendo la concentración de estos

minerales superior en el caso de las harinas correspondientes al primer año de cosecha. Por el contrario, las concentraciones de Zn, Mg y Ca fueron estadísticamente mayores ( $p < 0,05$ ) en las muestras correspondientes al segundo año de cosecha. [Benincasa et al. \(2015\)](#) también cuantificaron los minerales presentes en harinas de trigo, llegando a la conclusión de que el P fue el elemento más abundante en todas las especies de trigo analizadas, representando el 59 % del contenido mineral total, y seguido del K, el Mg y el Ca (25 %, 10 % y 4 % del contenido mineral total, respectivamente). El Fe y el Mn representaron alrededor del 0,4 % del total de microelementos, mientras que el Zn supuso un 0,2 %. Unos años antes, [Ficco et al. \(2009\)](#) analizaron el contenido mineral en un total de 84 cultivares italianos de trigo duro y obtuvieron valores de Fe, Cu y K similares a los que se muestran en el presente estudio. Sin embargo, estos autores encontraron menores cantidades de Zn, Na y Mg y mayor concentración de Mn y Ca. Dentro de los genotipos analizados por [Ficco et al. \(2009\)](#), se observaron diferencias estadísticamente significativas relativas al contenido de Fe, Zn y Mn, lo que sugiere que los factores genéticos están enormemente implicados en el contenido de estos elementos en los granos de trigo duro.

Por otro lado, la **Tabla 19** recoge el contenido de minerales en distintos cereales. Se puede observar que el K y el Mg son los elementos más abundantes en este grupo de alimentos. Por lo general, no existen diferencias importantes en cuanto al contenido de estos micronutrientes en los cereales. No obstante, teniendo en cuenta los datos recopilados a partir de la literatura científica, se observa que la avena, la cebada y el centeno presentan un contenido de Ca significativamente superior ( $p < 0,05$ ) que el resto de cereales objeto de comparación. Además, la concentración de Zn es significativamente más alta ( $p < 0,05$ ) en la cebada, mientras que la avena destaca por su contenido de Mn y Cu.

**Tabla 18.** Contenido de minerales en harinas de trigo blanca, integral y en salvado recogidos en la literatura científica (valores expresados en mg/100 g, sss)

Harina Blanca									
	Fe	Cu	Mn	Zn	Mg	Ca	Na	K	Referencias
<i>Triticum turgidum</i> L.	4.11	0.43	-	2.23	112.00	27.60	-	320.00	Cubadda et al., 2009
	1.3 – 2.9*	nd – 1.1*	0.1 – 0.3*	2.2 – 4.7*	69.0 – 223.0*	5.8 – 19.6*	2.7 – 15.8*	107.6 – 168.8*	
<i>Triticum aestivum</i> L.	0.69 – 1.57	0.14 – 0.57	0.50 – 1.28	0.49 – 1.25	15.94 – 26.38	10.92 – 18.87	-	90.02 – 123.16	Vignola et al., 2016
	2.60 – 4.60	0.50 – 1.20	0.20 – 2.25	0.90 – 3.35	-	-	-	-	Anjum et al., 2002
	1.08	0.15	0.44	0.78	19.10	17.80	-	150.00	De Brier et al., 2015
	0.7 – 2.5*	nd - 1.0*	0.3 – 0.6*	1.6 – 3.0*	50.1 – 118.8*	10.6 – 18.5*	2.4 – 43.6*	109.9 – 125.1*	
Harina Integral									
	Fe	Cu	Mn	Zn	Mg	Ca	Na	K	Referencias
<i>Triticum turgidum</i> L.	2.01	-	3.22	1.99	72.75	30.37	-	208.60	Benincasa et al., 2015
	3.60 – 4.20	0.45 – 0.67	3.80 – 5.10	2.10 – 2.80	113.20 – 153.40	30.80 – 49.10	-	-	Park et al., 2015
	3.26 – 3.87	0.07 – 0.19	1.47 – 1.84	2.66 – 3.44	88.50 – 112.00	21.60 – 44.90	7.90 – 27.20	416.90 – 498.50	Hernández Rodríguez et al., 2011
	6.92	0.64	-	5.66	192.00	54.00	-	623.00	Cubadda et al., 2009
	2.8 – 6.6*	0.6 – 2.4*	1.2 – 2.7*	5.6 – 8.0*	138.0 – 344.2*	5.4 – 29.7*	3.4 – 47.8*	332.6 – 408.9*	
<i>Triticum aestivum</i> L.	1.26 – 3.00	0.20 – 0.32	3.31 – 5.00	0.89 – 2.73	84.01 – 105.22	27.71 – 37.53	-	263.54 – 341.20	Vignola et al., 2016
	4.60 – 9.85	1.00 – 1.75	2.01 – 6.25	2.10 – 2.75	99.00 – 105.00	18.00 – 23.00	14.00	642.00 – 674.00	Anjum et al., 2002; Jaskulska et al., 2018
	2.19 - 5.42	0.83	2.72 – 3.54	1.14 - 2.97	68.22	27.15	-	151.40	Akhtar et al., 2010; Benincasa et al., 2016
	-	-	-	2.23 – 4.60	-	21.57 – 63.89	0.71 – 4.72	330.00 – 540.00	Simsek et al., 2019
	3.20 – 7.10	0.39 – 0.47	3.60 – 4.70	1.70 – 2.90	103.70 – 126.50	30.70 – 42.20	-	-	Park et al., 2015
	3.31 – 4.66	0.23 – 0.41	1.90 – 2.66	2.86 – 3.65	103.10 – 129.90	28.80 – 41.80	4.10 – 19.88	367.50 – 463.60	Hernández Rodríguez et al., 2011
	2.2 – 5.7*	1.0 – 1.9*	2.4 – 3.2*	4.6 – 9.5*	112.0 – 385.1*	12.2 – 23.8*	3.7 – 36.3*	304.2 – 553.5*	

\* Valores correspondientes a las muestras analizadas en el presente estudio

**Tabla 18** (continuación).

	Salvado								
	Fe	Cu	Mn	Zn	Mg	Ca	Na	K	Referencias
<i>Triticum turgidum</i> L.	4.8 – 12.1*	1.6 – 6.4*	3.8 – 6.2*	11.3 – 12.8*	255.6 – 518.8*	6.5 – 43.1*	3.6 - 47.7*	572.9 - 919.8*	
	12.75 – 14.75	2.90 – 5.25	6.80 – 9.70	4.35 – 8.05	-	-	-	-	<a href="#">Anjum et al., 2002</a>
	10.79	1.23	9.60	6.00	-	-	-	-	<a href="#">Shi et al., 2010</a>
<i>Triticum aestivum</i> L.	4.91	1.17	12.8	9.72	658.7	81.4	-	1607.0	<a href="#">Roye et al., 2020</a>
	2.3 -12.8*	1.3 – 5.3*	6.8 – 8.8*	10.6 – 24.4*	207.9 – 1000.1*	16.6 – 37.4*	5.4 – 65.8*	753.4 – 1371.5*	

\* Valores correspondientes a las muestras analizadas en el presente estudio

**Tabla 19.** Contenido de minerales en distintos cereales (valores expresados en mg/100 g, sss)

		Fe	Cu	Mn	Zn	Mg	Ca	Na	K	Referencias
<b>Trigo</b> ( <i>Triticum aestivum</i> L., <i>Triticum turgidum</i> L.)	<b>Rango</b>	1,26 – 9,85	0,07 – 1,75	1,47 – 6,25	0,89 – 5,66	72,75 - 192	18 – 63,89	0,71 – 27,2	209 - 674	Anjum et al., 2002;; Benincasa et al., 2015; Cubadda et al., 2009; Hernández Rodríguez et al., 2011; Jaskulska et al., 2018; Park et al., 2015; Simsek et al., 2019; Vignola et al., 2016
	<b>Media</b>	<b>4,35<sup>a</sup></b>	<b>0,52<sup>a</sup></b>	<b>3,45<sup>bc</sup></b>	<b>2,82<sup>ab</sup></b>	<b>113,45<sup>a</sup></b>	<b>35,37<sup>abc</sup></b>	<b>11,22<sup>a</sup></b>	<b>447,40<sup>a</sup></b>	
<b>Arroz</b> ( <i>Oryza sativa</i> L.)	<b>Rango</b>	0,22 – 10,6	0,12 – 0,68	0,83 – 8,39	0,95 – 3,21	27 - 185	0,84 – 29,80	0,54 – 3,81	91 - 597	Gayen et al., 2016; Joy et al., 2017; Nascimento et al., 2014; Swamy et al., 2019
	<b>Media</b>	<b>3,45<sup>a</sup></b>	<b>0,36<sup>ab</sup></b>	<b>3,38<sup>abc</sup></b>	<b>1,83<sup>a</sup></b>	<b>103,84<sup>a</sup></b>	<b>13,03<sup>ab</sup></b>	<b>2,66<sup>a</sup></b>	<b>290,69<sup>a</sup></b>	
<b>Maíz</b> ( <i>Zea mays</i> L.)	<b>Rango</b>	0,41 – 4,53	0,10 – 0,16	0,24 – 0,68	0,40 – 2,54	22,73 – 180	3,80 – 12,27	0,22 – 1,65	141 - 497	Nascimento et al., 2014; Prasanthi et al., 2017; Wang et al., 2020
	<b>Media</b>	<b>2,23<sup>a</sup></b>	<b>0,13<sup>a</sup></b>	<b>0,52<sup>a</sup></b>	<b>1,48<sup>a</sup></b>	<b>102,89<sup>a</sup></b>	<b>7,32<sup>a</sup></b>	<b>0,92<sup>a</sup></b>	<b>364,80<sup>a</sup></b>	
<b>Avena</b> ( <i>Avena sativa</i> L.)	<b>Rango</b>	3,76 – 6,32	0,41 – 4,56	3,17 – 10,60	1,72 – 5,77	97,50 – 153,26	31,83 – 71,70	9,70 – 14,60	300 - 479	Beloshapka et al., 2016; Butt et al., 2008; Chappell et al., 2017; de Oliveira Maximino et al., 2020; Özcan et al., 2006
	<b>Media</b>	<b>4,43<sup>a</sup></b>	<b>1,79<sup>b</sup></b>	<b>5,39<sup>c</sup></b>	<b>3,19<sup>ab</sup></b>	<b>125,14<sup>a</sup></b>	<b>48,17<sup>bc</sup></b>	<b>12,15<sup>a</sup></b>	<b>397,60<sup>a</sup></b>	
<b>Cebada</b> ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	<b>Rango</b>	3,07 – 7,57	0,31 – 2,38	0,87 – 1,94	1,79 – 7,10	103,60 – 179	28,80 – 77,00	2,57 – 16,80	300 - 628	Barczak et al., 2019; Chappell et al., 2017; Panizo-Casado et al., 2020; Rodehutschord et al., 2016
	<b>Media</b>	<b>5,42<sup>a</sup></b>	<b>0,87<sup>ab</sup></b>	<b>1,41<sup>ab</sup></b>	<b>4,16<sup>b</sup></b>	<b>137,65<sup>a</sup></b>	<b>47,20<sup>abc</sup></b>	<b>8,85<sup>a</sup></b>	<b>486,78<sup>a</sup></b>	
<b>Centeno</b> ( <i>Secale cereale</i> L.)	<b>Rango</b>	2,31 – 12,86	0,37 – 1,33	1,41 – 4,64	1,98 – 5,16	96,29 – 160,23	15,72 – 144,80	0,34 – 28,17	381 - 616	Bağcı et al., 2019; Kowieska et al., 2011; Rodehutschord et al., 2016
	<b>Media</b>	<b>6,37<sup>a</sup></b>	<b>0,75<sup>ab</sup></b>	<b>2,93<sup>abc</sup></b>	<b>3,01<sup>ab</sup></b>	<b>125,46<sup>a</sup></b>	<b>60,72<sup>c</sup></b>	<b>10,62<sup>c</sup></b>	<b>505,59<sup>c</sup></b>	

Los rangos de variación así como los valores medios se han calculado en base a los datos encontrados en la literatura científica. En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), tras análisis estadístico (ANOVA simple) mediante el test de Tukey.

### 3.5.5. Evaluación de la actividad antioxidante

La capacidad antioxidante de las distintas fracciones de trigo se relaciona con la proporción de capa de aleurona presente en las mismas. Como se ha mencionado anteriormente, esta capa es rica en compuestos fenólicos con actividad antioxidante, como los ácidos hidroxicinámicos y, especialmente, ácido ferúlico, el cual contribuye de una manera importante en las propiedades antioxidantes que poseen las harinas de trigo.

Los compuestos antioxidantes ejercen sus efectos a través de distintos mecanismos. Pueden reaccionar directamente con los radicales libres, neutralizando así sus efectos y también pueden actuar como agentes quelantes de metales, impidiendo así que catalicen reacciones de oxidación. Además, algunos de estos compuestos promueven la actuación del sistema enzimático de defensa antioxidante (Li et al., 2007). Algunos autores han observado que la actividad antioxidante de la fracción de salvado es superior a la que exhiben otras fracciones del trigo (Labuschagne et al., 2017; Li et al., 2007).

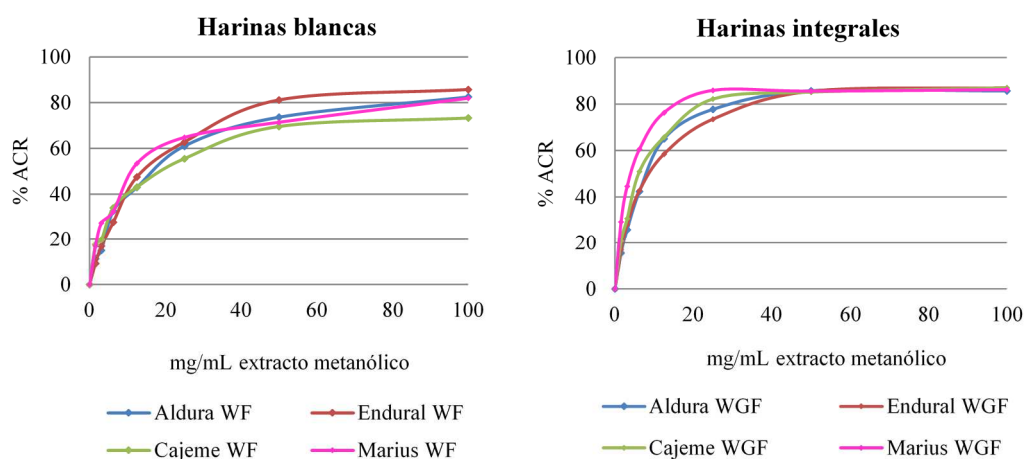
En el presente trabajo, la actividad antioxidante de las muestras objeto de estudio se ha determinado mediante tres ensayos *in vitro*. La actividad antioxidante total se evaluó mediante los ensayos del DPPH y del poder reductor, mientras que para la determinación de la capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica se utilizó el ensayo de la inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno. Los resultados de actividad antioxidante correspondientes al ensayo del DPPH fueron superiores (mayores valores de  $EC_{50}$  indican menor actividad antioxidante) que los obtenidos mediante la aplicación de los otros métodos, tanto en el caso de las harinas blancas como en el caso de las harinas integrales (**Tabla 20**).

Todas las harinas integrales analizadas presentaron una actividad antioxidante significativamente superior ( $p < 0,05$ ) que sus correspondientes harinas blancas (valores de  $EC_{50}$  más bajos para las harinas integrales que para las harinas blancas) (**Figura 30, Figura 31 y Figura 32**). Estos resultados pueden explicarse debido a que las harinas integrales se caracterizan por una mayor presencia de compuestos con propiedades antioxidantes, como los compuestos fenólicos o los tocoferoles.

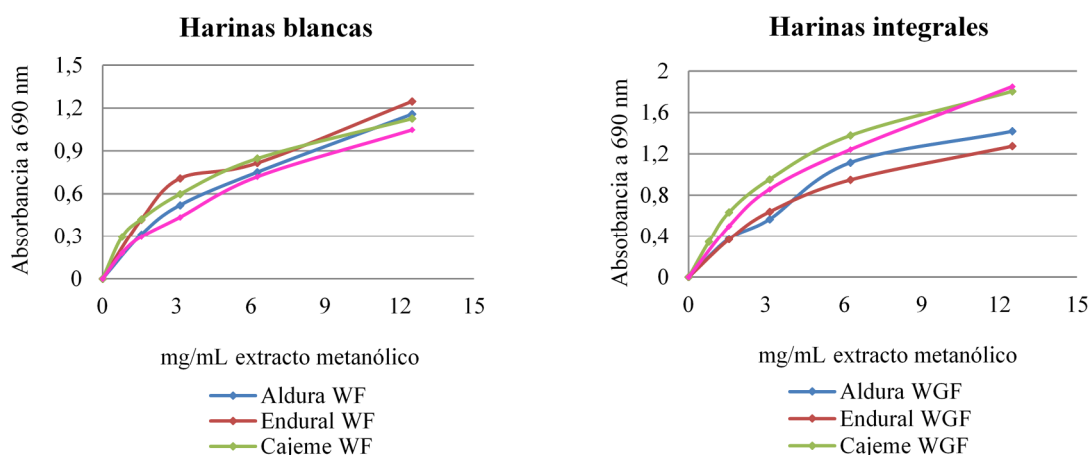
**Tabla 20.** Actividad antioxidante (EC<sub>50</sub>, mg/mL extracto metanólico) en distintas harinas de trigo duro y trigo blando (media ± SD)

Harina blanca				
	Variedad de trigo	DPPH	Poder reductor	Inhibición de la decoloración del β-caroteno
<i>Triticum turgidum</i> L.	Aldura	17,4 ± 0,4 <sup>c</sup>	2,98 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,71 ± 0,02 <sup>a</sup>
	Endural	14,5 ± 0,4 <sup>b</sup>	2,00 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,01 ± 0,09 <sup>b</sup>
<i>Triticum aestivum</i> L.	Cajeme	19,5 ± 0,2 <sup>d</sup>	2,26 ± 0,11 <sup>b</sup>	4,63 ± 0,06 <sup>c</sup>
	Marius	11,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	3,90 ± 0,1 <sup>d</sup>	5,70 ± 0,2 <sup>d</sup>
Harina integral				
	Variedad de trigo	DPPH	Poder reductor	Inhibición de la decoloración del β-caroteno
<i>Triticum turgidum</i> L.	Aldura	8,30 ± 0,1 <sup>c</sup>	2,59 ± 0,06 <sup>d</sup>	1,80 ± 0,07 <sup>d</sup>
	Endural	9,13 ± 0,08 <sup>d</sup>	2,33 ± 0,07 <sup>c</sup>	1,63 ± 0,04 <sup>c</sup>
<i>Triticum aestivum</i> L.	Cajeme	6,10 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,90 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,30 ± 0,02 <sup>b</sup>
	Marius	4,19 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,57 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,13 ± 0,07 <sup>a</sup>

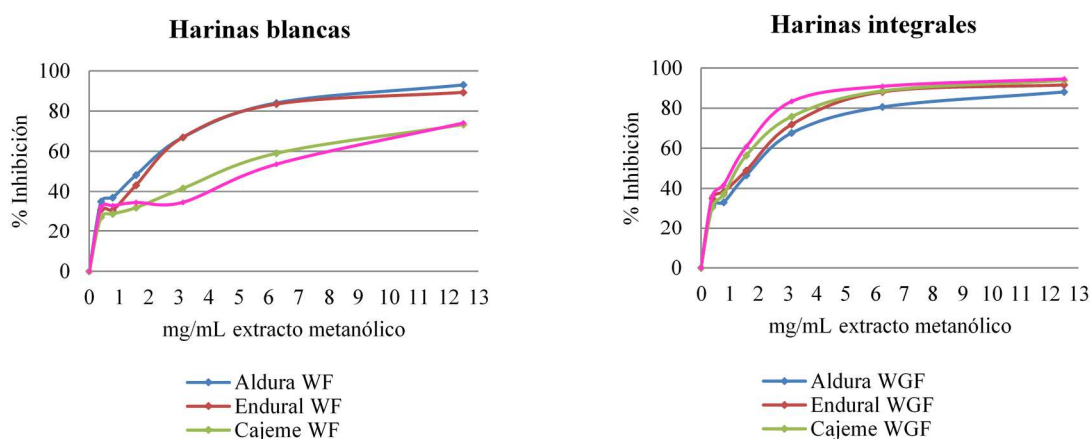
En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), comparando mediante el Test de Tukey.



**Figura 30.** Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de actividad antioxidante DPPH, realizado en las muestras de harina blanca (WF) así como en las muestras de harina integral (WGF) objeto de estudio



**Figura 31.** Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de actividad antioxidante poder reductor, realizado en las muestras de harina blanca (WF) así como en las muestras de harina integral (WGF) objeto de estudio



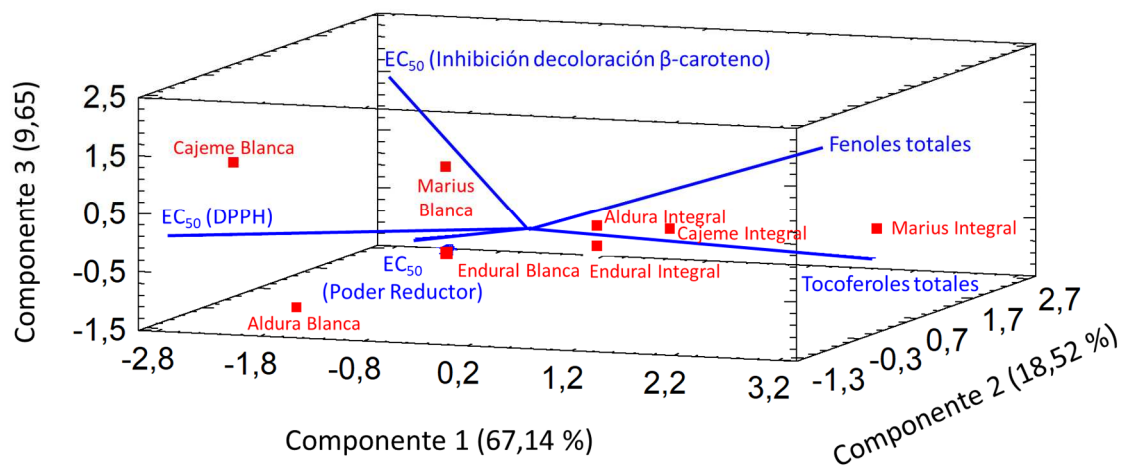
**Figura 32.** Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno, realizado en las muestras de harina blanca (WF) así como en las muestras de harina integral (WGF) objeto de estudio

De acuerdo con los resultados obtenidos, dentro de las harinas integrales, todas las muestras procedentes de variedades de trigo blando presentaron valores de  $EC_{50}$  significativamente inferiores ( $p < 0,05$ ) que las harinas procedentes de variedades de trigo duro. Esto significa que las variedades de trigo blando (Cajeme y Marius) demostraron una mayor actividad antioxidante (valores más bajos de  $EC_{50}$ ) que las variedades de trigo duro (Endural y Aldura). En general, la harina integral de la variedad Marius fue la que presentó los valores más bajos

de  $EC_{50}$ , en comparación con el resto de harinas integrales, lo cual indica que esta variedad es la que mejores propiedades antioxidantes tiene, probablemente debido a su mayor contenido en tocoferoles compuestos fenólicos y en (Tablas 11 y 14, respectivamente).

Dentro de las harinas blancas, se observó que las muestras procedentes de variedades de trigo duro mostraron mejor capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica (en el ensayo de la inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno se obtuvieron valores más bajos de  $EC_{50}$ ) que las muestras obtenidas a partir de variedades de trigo blando.

Los componentes de los cereales integrales, ya sea en su estado nativo o después del procesado, tienen una capacidad antioxidante similar a la de muchas frutas y verduras. Sin embargo, las propiedades antioxidantes de los cereales refinados (harina blanca, por ejemplo) son mucho más reducidas (en torno al 20 % de la capacidad antioxidante correspondiente a los granos completos) (Harris & Kris-Etherton, 2010). En este sentido, existen numerosos estudios realizados en harinas de trigo que demuestran que la harina integral tiene una actividad antioxidante mayor que la harina blanca (Kosík et al., 2014; Sedej et al., 2010; Yu et al., 2013), lo que se relaciona con el mayor contenido de tocoferoles y compuestos fenólicos, presente en la harina integral, tal y como puede observarse en la representación gráfica del análisis de componentes principales (Figura 33).



**Figura 33.** Análisis de Componentes Principales (ACP) de las muestras de harina de trigo analizadas

## **4. ESTUDIO DE HARINAS DE LEGUMBRES**

#### 4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

El estudio de las distintas muestras de harina de lenteja se ha centrado en los siguientes objetivos específicos:

1. Valorar la idoneidad de las harinas de lenteja enriquecidas con levadura nutricional como ingredientes funcionales, evaluando la influencia del proceso de extrusión (a 140 °C y a 160 °C) en el contenido de diferentes compuestos bioactivos (fibra, arabinosilanos, azúcares solubles,  $\alpha$ -galactósidos, tocoferoles y compuestos fenólicos).
2. Evaluar la influencia del proceso de extrusión (a 140 °C y a 160 °C) sobre distintos compuestos considerados antinutrientes (inositol fosfatos, inhibidores de tripsina, lectinas), en las harinas de lenteja enriquecidas con levadura nutricional.
3. Evaluar el efecto proceso de extrusión (a 140 °C y a 160 °C) sobre la actividad biológica (capacidad antioxidante y capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica) de las distintas formulaciones harinas de lenteja enriquecidas con levadura nutricional.

Los análisis relativos al contenido de fibra y arabinosilanos se realizaron en el laboratorio de la Unidad de Bromatología del Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. Por otro lado, el análisis de tocoferoles y compuestos fenólicos, así como el estudio de la capacidad antioxidante de las muestras se llevó a cabo durante una estancia internacional de investigación predoctoral realizada entre el 1 de Junio y el 9 de Septiembre de 2016 en el Laboratorio de Química y Bioquímica Aplicada, pertenecientes al Departamento de Biología y Biotecnología (DBB) del Centro de Investigación de Montaña (CIMO), Escuela Superior Agraria del Instituto Politécnico de Bragança (IPB), bajo la dirección de la Dra. Lillian Bouçada de Barros. Por último, las determinaciones relativas al análisis de compuestos considerados como antinutrientes, se llevaron a cabo en el Departamento de Tecnología de Alimentos del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), bajo la tutela de la Dra. Mercedes Martín Pedrosa.

## 4.2. MATERIALES

En el presente trabajo se han estudiado un total de **12 muestras de harinas de lenteja**. Las formulaciones objeto de estudio fueron diseñadas y elaboradas por el grupo de investigación liderado por el Dr. José de J. Berrio (USDA-ARS-WRRC, California, EE.UU.) a partir de lentejas rojas descascarilladas (*Lens culinaris* L.), adquiridas al por mayor a un distribuidor local en California (EE.UU.). Estas harinas contenían, en distintas proporciones, un extracto de levadura nutricional (Lynside Nutri Optimum Yeast®) producido a partir de cepas puras de *Saccharomyces cerevisiae*. Dicho extracto de levadura fue proporcionado por Red Star Yeast Corporation (Milwaukee, WI, EE.UU.). Diferentes porcentajes de levadura nutricional, que van del 4 al 16 %, se mezclaron con aproximadamente 55 - 65 % de harinas de lentejas para obtener las diferentes formulaciones objeto de estudio (patente pendiente) (Berrios, Cheong & Jüsten, 2013), tal y como se muestra en la **Tabla 21**.

Como se puede observar en la **Tabla 21**, cinco de las muestras objeto de estudio (CF, CF#1, CF#2, CF#3 y CF#4) corresponden a harinas sin procesar, mientras que las siete formulaciones restantes corresponden a las formulaciones anteriores sometidas a dos tipos de tratamientos de extrusión diferentes (a 140 °C: CE140, E140#1, E140#2 y E140#3; y a 160 °C: CE160, E160#3 y E160#4). Todas las muestras se homogenizaron y pulverizaron utilizando un molino Cyclone (Udy Corp., Fort Collins, CO, EE.UU.) equipado con una pantalla de 0,5 mm. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en recipientes herméticos a temperatura ambiente y enviadas al Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos (Unidad de Bromatología) de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, donde fueron almacenadas en condiciones de ausencia de humedad y temperatura ambiente hasta el momento de ser analizadas tal y como se muestra en la **Figura 34**.

**Tabla 21.** Descripción de las harinas de lentejas analizadas

Tipo de harina	Muestra	Características
<b>Sin procesar (Crudas)</b>	<b>CF</b>	Harina cruda de lenteja
	<b>CF#1</b>	Harina cruda de lenteja + 4 % levadura nutricional
	<b>CF#2</b>	Harina cruda de lenteja + 8 % levadura nutricional
	<b>CF#3</b>	Harina cruda de lenteja + 12 % levadura nutricional
	<b>CF#4</b>	Harina cruda de lenteja + 16 % levadura nutricional
<b>Extruidas (140 °C)</b>	<b>CE140</b>	Harina de lenteja extruida 140 °C
	<b>E140#1</b>	Harina de lenteja extruida 140 °C + 4 % levadura nutricional
	<b>E140#2</b>	Harina de lenteja extruida 140 °C + 8 % levadura nutricional
	<b>E140#3</b>	Harina de lenteja extruida 140 °C + 12 % levadura nutricional
<b>Extruidas (160 °C)</b>	<b>CE160</b>	Harina de lenteja extruida 160 °C
	<b>E160#3</b>	Harina de lenteja extruida 160 °C + 12 % levadura nutricional
	<b>E160#4</b>	Harina de lenteja extruida 160 °C + 16 % levadura nutricional

Para llevar a cabo el **proceso de extrusión** se empleó un extrusor de doble tornillo Clextral EVOL HT32-H (Clextral, Inc., Tampa, FL, EE.UU.) con tornillos co-rotatorios y de entrecruzamiento estrecho, con capacidad para funcionar a aproximadamente 50 kg de alimentación/hora. El extrusor estaba equipado con seis secciones de barril, cada una de 128 mm de longitud. La temperatura de la última sección del cilindro y la matriz se mantuvieron a 140 ó 160 ± 1 °C. El diámetro del tornillo (D) fue de 32 mm y la longitud total del tornillo configurado (L) fue de 768 mm, lo que dio una relación L/D total de 24. La velocidad de los tornillos se controló mediante un variador de velocidad de 74,8 kW, modelo ACS600 (ABB Automation, Inc., New Berlin, WI, EE.UU.) y se mantuvo constante a 500 rpm. Se utilizó una combinación de elementos de alimentación, transporte, compresión y amasado para proporcionar una configuración de tornillo de corte moderado (patente pendiente) (Berrios, Tang & Swanson, 2008).

La mezcla se dosificó en el orificio de alimentación mediante un alimentador gravimétrico de pérdida de peso de dos tornillos, Modelo LWFD5-20 (K-Tron Corp., Pitman, NJ, EE.UU.) a una velocidad de 20 kg/h. Se suministró agua al extrusor mediante una bomba de pistón triple de carrera variable con émbolos de 12 mm, tipo VE-P33 (Bran y Luebbe, Wheeling, IL,

EE.UU.) para proporcionar un contenido de humedad final de aproximadamente 17 %. Finalmente, las formulaciones de lenteja fueron extruidas a través de dos matrices circulares, cada una de las cuales contaba con una abertura de 3,5 mm de diámetro. Se controló la presión en la matriz con un transductor de presión, Tipo PT412-5M (Dynisco Instruments, Sharon, MA, EE.UU.). Se utilizó un ordenador PLC + Industrial (Allen-Bradley, Milwaukee, WI, EE.UU.) y el software Intouch (FITSYS PLUS, ver 1.23) para recoger datos de parámetros de extrusión a intervalos de 1 s. Los datos se recogieron aproximadamente 10 minutos después de que las condiciones de operación de torsión y presión estuvieran en un estado estacionario.



**Figura 34.** Harinas de lenteja analizadas (Foto: María Ciudad)

### 4.3. METODOLOGÍA ANALÍTICA

En todas las muestras de harina de lenteja objeto de estudio se determinó el contenido de fibra (insoluble, soluble y total), arabinosilanos (solubles y totales), azúcares solubles,  $\alpha$ -galactósidos, tocoferoles y compuestos fenólicos individuales. También se analizó la concentración de algunos compuestos considerados antinutrientes (inositol fosfatos, inhibidores de tripsina y lectinas) y se evaluó la actividad antioxidante de dichas muestras mediante 3 métodos de capacidad antioxidante diferentes.

#### 4.3.1. Determinación del contenido de fibra: insoluble, soluble y total

El contenido de fibra de las muestras analizadas se determinó siguiendo el método enzimático-gravimétrico de la AOAC (Ref. 993.19 y 991.42), cuantificándose la fibra insoluble, soluble y total (Latimer, 2012). Este procedimiento (**Esquema 1**) ha sido anteriormente descrito en el apartado 3.3.1. de la presente Tesis Doctoral. En el caso del análisis de las formulaciones de harina de lenteja se partió de 0,4 g de muestra. Los resultados se expresaron en g/100 g de harina.

#### 4.3.2. Determinación del contenido de arabinosilanos

Tal y como se ha explicado en el apartado 3.3.2., la concentración de arabinosilanos en las muestras de harina de lenteja se determinó según el método colorimétrico descrito por Douglas (1981) y modificado por Finnie et al. (2006) (**Esquema 2**). Para ello se partió de 0,25 g de muestra. Los resultados se expresaron en g/100 g de harina.

#### 4.3.3. Determinación del contenido de azúcares solubles y $\alpha$ -galactósidos

La extracción de azúcares solubles y  $\alpha$ -galactósidos se realizó por duplicado para cada muestra, utilizando el método de Muzquiz et al. (1992), con algunas modificaciones (**Esquema 8**). Para llevar a cabo la determinación, se pesaron 0,1 gramos de harina de lenteja y se añadieron 5 mL de etanol acuoso (50 %). Tras homogeneizar en Ultraturrax (IKA T-10) (1 minuto en frío), se centrifugó durante 10 minutos a 10000 rpm y el sobrenadante fue recogido por decantación. Para completar la extracción, el mismo proceso se repitió 2 veces más con el precipitado resultante. Los tres sobrenadantes obtenidos se mezclaron y se purificaron a través de una columna C18 (Waters 500 mg/6 cc) previamente activada con 3 mL de etanol y 6 mL de agua Mili-Q y conectada a un sistema de vacío (Supelco, EE.UU.). La columna se lavó con 3 mL de etanol acuoso (50 %) y todo el filtrado recogido se evaporó a sequedad en un concentrador de

muestras (Uni Equip, Alemania). El residuo con los azúcares solubles se resuspendió en 1 mL de agua Mili-Q y se centrifugó durante 10 minutos a 10000 rpm. El sobrenadante se filtró a través de un filtro de 0,45  $\mu\text{m}$  para eliminar cualquier impureza en suspensión y a continuación se inyectó la muestra en el equipo HPLC acoplado a un detector de índice de refracción (Beckman System Gold Instrument, Los Ángeles, CA, EE.UU.).

**Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:**

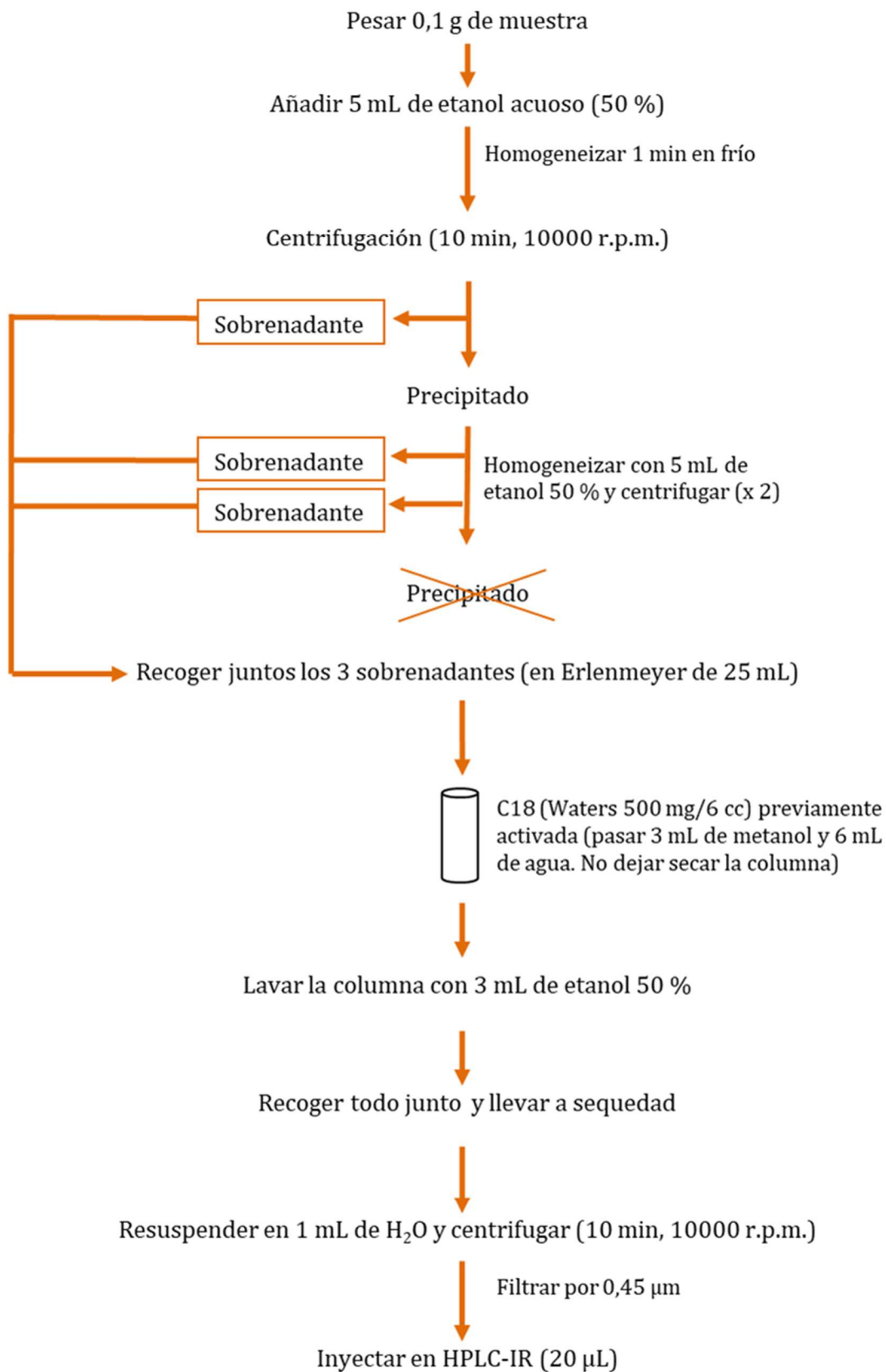
- Tipo de columna: Spherisorb-5-NH<sub>2</sub> (250 × 4.6 mm i.d., Waters, Milford, MA, EE.UU.)
- Fase móvil: acetonitrilo/agua 60:40 (v/v)
- Flujo: 1 mL/min
- Volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$

Todas las muestras se analizaron por duplicado y se prepararon curvas de calibración para todos los compuestos analizados: sacarosa ( $y = 0,193x - 0,001$ ), maltosa ( $y = 0,2017x + 0,0334$ ), galactinol ( $y = 0,227x - 0,014$ ), ciceritol ( $y = 0,295x + 0,030$ ), rafinosa ( $y = 0,193x + 0,003$ ), estaquiosa ( $y = 0,217x - 0,008$ ) y verbascosa ( $y = 0,4591x - 0,0984$ ).

Tanto los azúcares individuales como los  $\alpha$ -galactósidos se cuantificaron por comparación con estándares externos de sacarosa, maltosa, rafinosa, estaquiosa y verbascosa (Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.). En el caso del ciceritol y el galactinol, los patrones fueron purificados y amablemente suministrados por la Dra. A. I. Piotrowicz-Cieslak (Olsztyn-Kortowo, Polonia). Ambos compuestos fueron aislados de garbanzos blancos y su extracción y purificación se llevó a cabo con etanol/agua (80 %; v/v) y mediante la utilización secuencial de columnas de intercambio aniónico (Dowex-H<sup>+</sup>), catiónico (Dowex-Cl<sup>-</sup>) y columnas de charcoal-celite. A continuación, los azúcares purificados fueron identificados por RMN.

Se observó una respuesta lineal en el rango (0 – 3 mg/mL para maltosa y 0 – 4 mg/mL para sacarosa, galactinol, ciceritol, rafinosa, estaquiosa y verbascosa), con un coeficiente de correlación de 0,99. Los resultados se expresaron en mg/g de harina.

**Esquema 8.** Extracción y determinación de azúcares solubles y  $\alpha$ -galactósidos



#### 4.3.4. Determinación del contenido de tocoferoles

El contenido de tocoferoles se determinó siguiendo un procedimiento previamente optimizado y descrito por Barros et al. (2008a). Esta metodología ha sido detallada en el apartado 3.3.3. de este trabajo (**Esquema 3**). Para ello se partió de 0,5 g de muestra. Los resultados se expresaron en mg/100 g de harina.

#### 4.3.5. Determinación de los compuestos fenólicos individuales

Los compuestos fenólicos se analizaron mediante HPLC acoplado a detector fotodiodo-array (PDA) con ionización por electrospray (ESI) y espectrometría de masas (MS).

En primer lugar se llevó a cabo la **extracción** de estos compuestos. Para ello, se pesó 1 g de cada muestra, se añadieron 40 mL de metanol y se mantuvo en agitación magnética durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación se filtró a través de filtro de pliegues (Whatman N° 4). Sobre el residuo sólido se adicionaron 40 mL de metanol, se combinaron ambos extractos y se evaporaron a sequedad mediante rotavapor (Heidolph, Schwabach, Alemania) a 35 °C. Los extractos se redisolviéron en metanol, hasta una concentración final de 20 mg/mL, se filtraron a través de un filtro Whatman de 0,45 µm y se transfirieron a viales topacio hasta su análisis por HPLC.

La **identificación y cuantificación** de los compuestos fenólicos se llevó a cabo utilizando un sistema HPLC Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, San José, CA, EE.UU.) equipado con un detector de diodos y acoplado a un espectrofotómetro de masas (Bessada et al., 2016). La detección por espectrofotometría de masas se realizó por medio de un API 3200 (Applied Biosystems, Darmstadt, Alemania), con analizador de trampa de iones triple-cuádruplo equipado con una fuente de electropulverización o *electrospray* de iones (ESI). El registro de los espectros se realizó mediante el modo de ión negativo entre m/z 100 y 1700. Los cromatogramas se registraron a las longitudes de onda características de las diferentes clases de compuestos fenólicos: 280 nm para derivados de flavan-3-ol y 370 nm para derivados de flavonol.

Para la identificación de los compuestos fenólicos se hizo una comparación de su tiempo de retención UV-visible y los espectros de masa obtenidos de distintas soluciones patrón (siempre y cuando estuvieran disponibles). En el caso de no contar con patrones, los compuestos fenólicos correspondientes se identificaron tentativamente a través de su tiempo de retención y

comparando con información obtenida de los datos disponibles en la biblioteca de compuestos o de los datos descritos en la literatura.

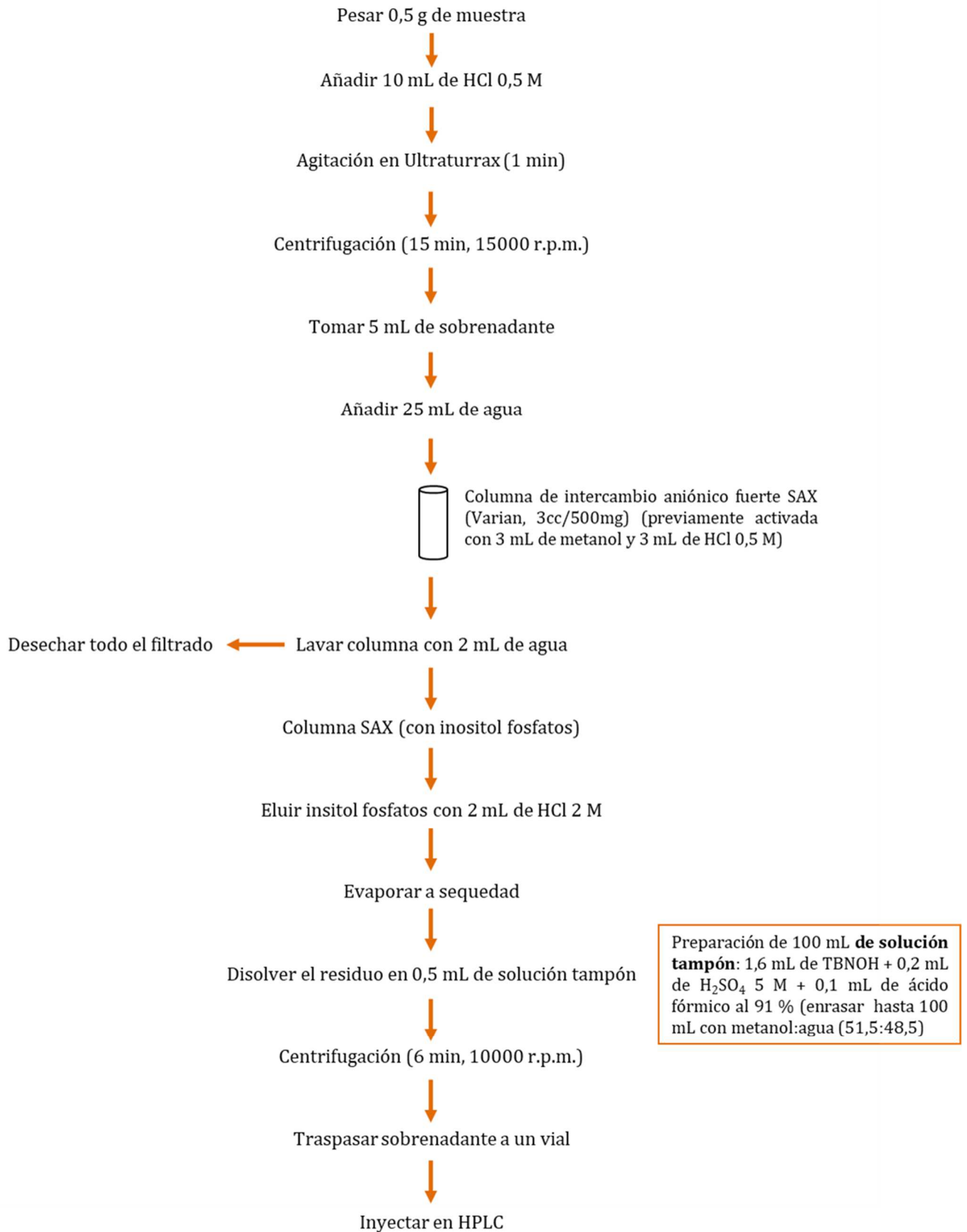
Para la cuantificación de los compuestos fenólicos se prepararon curvas de calibración con patrones del mismo grupo de compuestos. Los resultados se expresaron en mg/100 g de harina.

#### 4.3.6. Determinación del contenido de inositol fosfatos

El contenido de inositol fosfatos, tanto individuales (inositol tetrafosfato: IP4; inositol pentafofosfato: IP5; inositol hexafofosfato: IP6) como totales se determinó mediante HPLC, por intercambio iónico en fase reversa (**Esquema 9**) ([Burbano et al., 1995](#)).

Para llevar a cabo este análisis, se partió de 0,5 gramos de muestra, que se homogeneizaron junto con 10 mL de HCl 0,5 M, agitando durante 1 minuto con Ultraturrax (IKA T-10). Posteriormente se centrifugó (15 min, 15000 rpm) y se tomaron 5 mL del sobrenadante obtenido, sobre los que se añadieron 25 mL de agua. Este volumen se pasó a través de una columna de intercambio aniónico fuerte SAX (Varian, 3 cc/500 mg), previamente activada (3 mL de metanol seguidos de 3 mL de HCl 0,5 M), y conectada a un sistema de vacío (Supelco, EE.UU.). A continuación se lavó la columna con 2 mL de agua Mili-Q. Tras este procedimiento, las moléculas de inositol fosfatos retenidas en la columna se eluyeron con 2 mL de HCl 2M. El eluyente recogido se evaporó a sequedad y el residuo se disolvió con 0,5 mL de una solución tampón preparada con 1,6 mL de hidróxido de tetrabutilamonio (TBNOH, 40 % v/v en agua), 0,2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5M y 0,1 mL de ácido fórmico al 91 % (esta solución tampón se enrasó hasta 100 mL con metanol acuoso 51,5 %). A continuación, se centrifugó (6 min, 10000 rpm) con el fin de eliminar cualquier material en suspensión. El sobrenadante se colocó en viales hasta que la muestra se inyectó en el equipo HPLC (Beckman System Gold Instrument, Los Ángeles, CA, EE.UU.).

### Esquema 9. Extracción y determinación de inositol fosfatos



**Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:**

- Tipo de columna: macroporouspolymer PRP-1 (150 × 4.1 mm i.d., 5 “m, Hamilton, Reno, Nevada, EE.UU.)
- Temperatura: 45 °C
- Fase móvil: metanol/agua 51,4:48,5 (v/v), con 0,8 % de TBNOH (40 % en agua, Sigma, St. Louis, MO, USA), 0,1 % de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5M, 0,05 % de ácido fórmico al 91 % (Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.) y 100 µL de ácido fítico (6 mg/mL)
- pH: 4,3
- Flujo: 1 mL/min
- Volumen de inyección: 10 µL

Todas las muestras se analizaron por duplicado y se prepararon curvas de calibración utilizando fitato de sodio (Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.) (0 – 5 mg/mL,  $y = 0,144x + 0,016$ ;  $R^2 = 0,99$ ). Los resultados se expresaron en mg/g de harina.

**4.3.7. Determinación del contenido de inhibidores de tripsina**

La actividad de los inhibidores de tripsina (AIT) se determinó espectrofotométricamente, siguiendo el método enzimático descrito por [Welham & Domoney \(2000\)](#). En primer lugar se llevó a cabo la **extracción** de estos compuestos (**Esquema 10**), para lo que se pesaron 0,025 g de cada muestra y se añadió 1 mL de HCl 0,05 M. Esta mezcla se mantuvo en agitación magnética durante 1 hora a 4 °C y a continuación se centrifugó (Sorvall Microspin 24S, EE.UU.) durante 10 min a 6.600 g. El sobrenadante obtenido se mantuvo en refrigeración hasta el momento del análisis. El método empleado permite determinar la capacidad que tienen las muestras para inhibir la actividad enzimática de la tripsina control. Para ello, se emplea  $\alpha$ -N-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) (Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.) como sustrato cromogénico. Se trata de una amida que al ser hidrolizada por acción de la tripsina da lugar a un compuesto coloreado (*p*-nitroanilina) cuya absorbancia se midió, tras 10 min de incubación de los extractos a 37 °C, a una longitud de onda de 410 nm. Este valor de absorbancia de la *p*-nitroanilina está directamente relacionado con la absorbancia de la tripsina. Se considera que una unidad inhibidora de tripsina (UIT) se corresponde con un incremento de 0,01 unidades de absorbancia (a 410 nm), utilizando un volumen de ensayo de 10 mL. En estas condiciones y, puesto que la AIT se expresó en términos de unidades de tripsina inhibidas, se establece que

una unidad de inhibidor de tripsina (UIT) es la cantidad de inhibidor que reduce 0,01 unidades de absorbancia, en relación con la reacción control de tripsina (**Ecuación 10**). Con el fin de estandarizar el método para poder hacer comparaciones entre los resultados obtenidos, se estableció por convenio que la absorbancia del control de tripsina a la longitud de onda establecida (410 nm) debe ser próxima a 0,4 (este valor de absorbancia se obtiene cuando el 100 % de la tripsina ha sido inhibida por la muestra).

$$\text{UIT} = \frac{\text{Absorbancia control tripsina} - \text{Absorbancia muestra}}{0,01} \quad \text{Ecuación [10]}$$

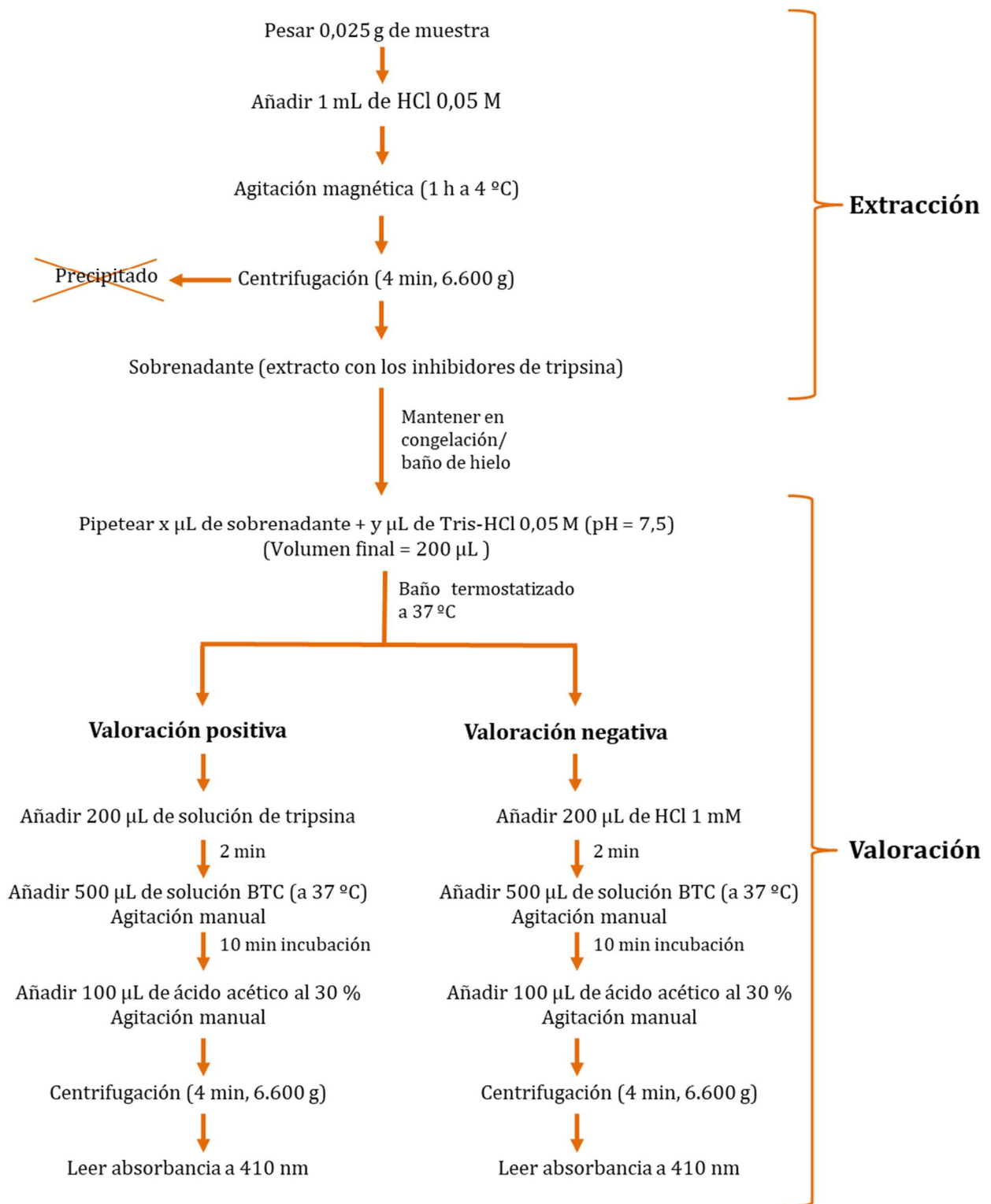
El fundamento de este ensayo se basa en que los inhibidores de tripsina presentes en las muestras analizadas se unen al centro activo de la tripsina, produciendo una inhibición enzimática competitiva e impidiendo que la tripsina actúe sobre los sustratos de reacción (BAPNA). Como consecuencia, disminuye la cantidad de *p*-nitroanilina liberada y la intensidad de la coloración es menor que la que se produce en la reacción control de tripsina. De esta manera se obtienen valores de absorbancia de las muestras inferiores a 0,4.

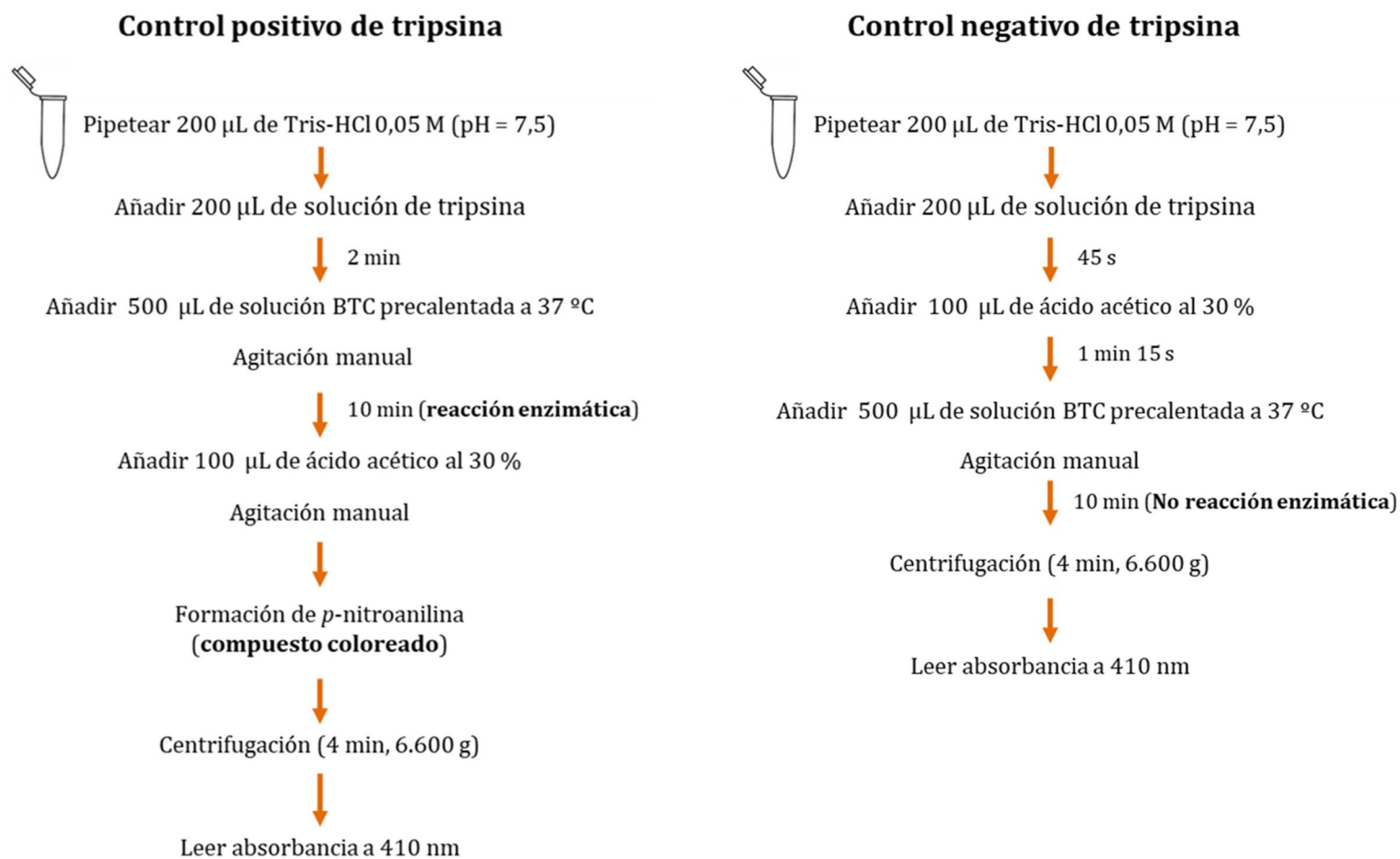
Partiendo de estas premisas y teniendo los extractos de las muestras preparados, se procedió a la **valoración de los controles de tripsina** (positivo y negativo) (**Esquema 11**). Para ello, en tubos eppendorf mantenidos a 37 °C (bloque termostático, Grant Boekel, Inglaterra), se pipetearon 200 µL de una solución tampón Tris-HCl 0,05 M (pH = 7,5) y 200 µL de solución de tripsina (tripsina de páncreas bovino) (Sigma, Alemania) en HCl 1 mM (0,001/50; p/v). Las condiciones de almacenamiento (a 5 °C durante máximo una semana) de la solución de tripsina son importantes para que no se produzcan pérdidas de actividad. En el caso del control de tripsina positivo, pasados 2 minutos desde la adición de esta solución, se añadieron 500 µL de solución BTC precalentada a 37 °C. La solución BTC se preparó diariamente con 10 mL de tampón Tris-HCl 0,05 M (pH = 8,2), 200 µL de CaCl<sub>2</sub> 1 M (el Ca<sup>2+</sup> es necesario para evitar la inactivación autolítica de la tripsina) y 100 µL de la solución de BAPNA (40 mg de BAPNA diluidos en 1 mL de dimetilsulfóxido. Importante mantenimiento en congelación/hielo hasta su utilización). Después de 10 min de incubación a 37 °C, se añadieron 100 µL de ácido acético al 30 %, con el fin de detener la reacción enzimática. Por el contrario, en el caso del control negativo de tripsina, el ácido acético al 30 % (100 µL) se añadió 45 segundos después de la incorporación de la solución de tripsina y, 1 minuto y 15 segundos después, se adicionaron los

500  $\mu\text{L}$  de solución BTC. De igual manera, la incubación a 37 °C se mantuvo durante 10 minutos. Una vez finalizada esta incubación, tanto en el caso del control positivo, como en el caso del control negativo, se procedió a centrifugar las soluciones a 6.600 g durante 4 min (Sorvall Microspin 24S, EE.UU.) y, a continuación, se midió la absorbancia 410 nm (espectrofotómetro Beckman DU-7, EE.UU.), obteniendo un valor muy próximo a 0,4 unidades de absorbancia.

Para la **valoración de los inhibidores de tripsina presentes en las muestras** objeto de estudio fue necesario llevar a cabo pruebas con distintos volúmenes de los extractos, con el fin de obtener valores de absorbancia inferiores a 0,4. Además, al igual que en el caso de los controles de tripsina, se llevaron a cabo valoraciones positivas y negativas de las muestras (**Esquema 10**). Los volúmenes de extracto adecuados ( $x \mu\text{L}$ ) para cada muestra (**Tabla 22**), se incorporaron a los eppendorf termostatizados a 37 °C y, a continuación, se adicionó el volumen ( $y \mu\text{L}$ ) de tampón Tris-HCl 0,05 M (pH = 7,5) necesario para obtener un volumen final de 200  $\mu\text{L}$ . En el caso de la valoración positiva, seguidamente se añadieron 200  $\mu\text{L}$  de la solución de tripsina y pasados 2 minutos, durante los que tuvo lugar la inhibición enzimática, se adicionaron 500  $\mu\text{L}$  de la solución BTC (esta solución debe estar precalentada a 37 °C). Tras un periodo de incubación de 10 min se añadieron 100  $\mu\text{L}$  de ácido acético al 30 % para frenar la reacción enzimática. A continuación la muestra se centrifugó (6.600 g, 4 min) y se midió la absorbancia a 410 nm de longitud de onda. Por su parte, en el caso de la valoración negativa de la muestra, que se utilizó como blanco del ensayo, el procedimiento fue el mismo con la salvedad de que los 200  $\mu\text{L}$  de solución de tripsina se sustituyeron por 200  $\mu\text{L}$  de HCl 1 mM. De cada extracto, se llevaron a cabo 3 valoraciones positivas y 2 valoraciones negativas.

**Esquema 10.** Extracción y valoración de los inhibidores de tripsina presentes en las muestras



**Esquema 11.** Valoración de la solución de tripsina utilizada como control (positivo y negativo)

**Tabla 22.** Volumen de extracto de cada una de las muestras de harinas de lenteja (crudas y extruidas), empleado en la valoración de la actividad de los inhibidores de tripsina

Tipo de harina	Muestra	Volumen de extracto (x $\mu\text{L}$ )
<b>Crudas</b>	<b>CF</b>	19
	<b>CF#1</b>	20
	<b>CF#2</b>	20
	<b>CF#3</b>	19
	<b>CF#4</b>	22
<b>Extruidas (140 °C)</b>	<b>CE140</b>	120
	<b>E140#1</b>	120
	<b>E140#2</b>	120
	<b>E140#3</b>	120
<b>Extruidas (160 °C)</b>	<b>CE160</b>	120
	<b>E160#3</b>	120
	<b>E160#4</b>	120

#### 4.3.8. Determinación del contenido de lectinas

El contenido de lectinas en las muestras analizadas se estimó utilizando un ensayo de hemaglutinación, que se llevó a cabo en células sanguíneas tratadas con tripsina y procedentes de ratas Wistar (Animalario Central de la Facultad de Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid). La extracción se realizó con una solución de tampón fosfato salino (PBS) 0,1 M (pH = 7,4) y la actividad de hemaglutinación de los extractos de las muestras se evaluó por un procedimiento de diluciones seriadas (Arribas et al., 2019c). Una unidad de hemaglutinación (HU) se definió como la cantidad de muestra (gramos) que induce el 50 % de la aglutinación de eritrocitos. En cada ensayo se incluyó un control positivo (*Phaseolus vulgaris* cvs. Processor) y un control negativo (*Phaseolus vulgaris* cvs. Pinto) y se preparó un patrón de lectina de lenteja (*Lens culinaris* L.) purificada (LCA) diluida en PBS 0,01 M (pH = 7,4)

(Arribas et al., 2019c). Los valores se expresaron en HU/kg de harina. Asimismo, para cuantificar el contenido de lectinas en las harinas objeto de estudio, se llevó a cabo un ensayo ELISA competitivo indirecto (Cuadrado et al., 2002; Morales et al., 2015a), para lo que se preparó una curva de calibración con el patrón de LCA (0,001–1000  $\mu\text{g/mL}$ ). Los resultados obtenidos mediante esta técnica se expresaron en porcentaje de LCA.

#### 4.3.9. Evaluación de la actividad antioxidante

Para la evaluación de la actividad antioxidante se llevaron a cabo tres ensayos *in vitro* diferentes, con el fin de analizar tanto la capacidad antioxidante total (método de DPPH y poder reductor) (**Esquema 5 y Esquema 6, respectivamente**) como la capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica (método de la inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno) (**Esquema 7**) de las muestras objeto de estudio. El procedimiento mediante el cual se llevaron a cabo estos ensayos se ha descrito anteriormente en el apartado 3.3.6. de la presente Tesis Doctoral. Los resultados de  $\text{EC}_{50}$  se expresaron en  $\text{mg/mL}$  de extracto metanólico.

#### 4.3.10. Análisis estadístico

Con el fin de realizar una interpretación objetiva de los resultados obtenidos se llevó a cabo un estudio estadístico empleando el programa Statgraphics Plus 5.1. Los datos se analizaron estadísticamente con un nivel de confianza del 95 %. Se llevó a cabo un **análisis de la varianza (ANOVA)** y se aplicó el test de Duncan. El nivel de significación estadística se fijó en  $p < 0,05$ .

#### 4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE HARINAS DE LEGUMBRES

Los resultados correspondientes al análisis de las muestras de harina de lenteja han sido publicados en dos artículos, que se presentan a continuación. El primero de ellos (**Artículo 2**), se publicó en la revista *Food & Function* en el año 2018 (doi: 10.1039/c7fo01730h) y en él se recogen los resultados relativos a compuestos bioactivos (fibra, arabinosilanos, compuestos fenólicos, tocoferoles) así como los obtenidos de la evaluación de la actividad antioxidante. Estas determinaciones se llevaron a cabo en el Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos (Unidad de Bromatología), de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid y en el Laboratorio de Química y Bioquímica Aplicada, perteneciente al Departamento de Biología y Biotecnología (DBB) del Centro de Investigación de Montaña (CIMO), Escuela Superior Agraria del Instituto Politécnico de Bragança (IPB) anteriormente mencionada, en el marco de una estancia internacional de investigación predoctoral. Por otro lado, en el **Artículo 3**, que se publicó en la revista *Food Chemistry* en el año 2020 (doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126175), se recogen los resultados obtenidos del análisis de azúcares solubles y  $\alpha$ -galactósidos, así como de algunos compuestos considerados como antinutrientes (inositol fosfatos, inhibidores de tripsina y lectinas). El estudio de estos compuestos se llevó a cabo en el Departamento de Tecnología de Alimentos del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) anteriormente citada.

#### 4.4.1. Artículo 2: Contenido de fibra, arabinoxilanos, tocoferoles, compuestos fenólicos individuales y evaluación de la actividad antioxidante en las muestras objeto de estudio

##### Article 2. Bioactive compounds and antioxidant capacity of extruded snack-type products developed from novel formulations of lentil and nutritional yeast flours

María Ciudad-Mulero, Lillian Barros, Ângela Fernandes, José De J. Berrios, Montaña Cámara, Patricia Morales, Virginia Fernández-Ruiz, Isabel C.F.R. Ferreira. (2018). Food & Function, 9, 819-829. DOI: 10.1039/c7fo01730h

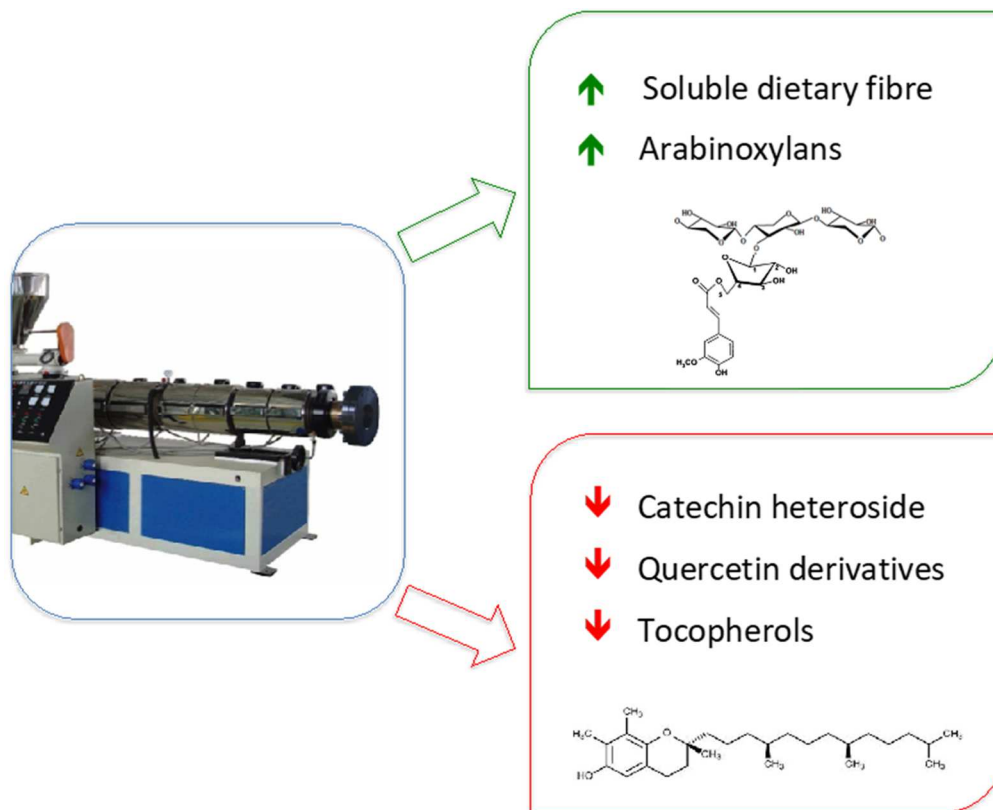
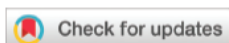


Figure 35. Graphical abstract article 2.

Cite this: *Food Funct.*, 2018, **9**, 819

## Bioactive compounds and antioxidant capacity of extruded snack-type products developed from novel formulations of lentil and nutritional yeast flours

María Ciudad-Mulero,<sup>a,b</sup> Lillian Barros,<sup>id</sup><sup>b,c</sup> Ângela Fernandes,<sup>b</sup> José De J. Berrios,<sup>d</sup> Montaña Cámara,<sup>id</sup><sup>a</sup> Patricia Morales,<sup>id</sup><sup>a</sup> Virginia Fernández-Ruiz <sup>id</sup><sup>\*a</sup> and Isabel C. F. R. Ferreira <sup>id</sup><sup>\*b</sup>

### Abstract

Pulses are well known to be gluten-free functional foods that provide a rich source of nutritional and healthy compounds with antioxidant-promoting activity. In the present study, the bioactive compounds, dietary fibre, arabinoxylans, individual phenolic compounds and tocopherols, were evaluated in different lentil flours (raw and extruded at 140 and 160 °C) formulated with nutritional yeasts, along with the changes induced by the extrusion process. The total dietary fibre and arabinoxylan content significantly ( $p < 0.05$ ) increased after the extrusion process while a significant decrease of all tocopherol isoforms was also observed. Catechin, caffeic, kaempferol and quercetin derivatives were identified in the raw and extruded lentil flours. The decreases of total phenolic and individual phenolic compounds were directly related to the extrusion temperature; total phenolics and catechin hexoside exhibited a larger decrease in the lentil flours formulated with higher content of nutritional yeast (12 and 16 %). The antioxidant activity results, determined using different assays, reflected the important effect of extrusion processing and food ingredients.

**Keywords:** lentils, extrusion, phenolics, dietary fibre, arabinoxylans, antioxidant properties

**4.4.2. Artículo 3: Contenido de azúcares solubles,  $\alpha$ -galactósidos, inositol fosfatos, inhibidores de tripsina y lectinas en las muestras objeto de estudio**

**Article 3. Novel gluten-free formulations from lentil flours and nutritional yeast: evaluation of extrusion effect on phytochemicals and non-nutritional factors**

María Ciudad-Mulero, Virginia Fernández-Ruiz, Carmen Cuadrado, Claudia Arribas, Mercedes M. Pedrosa, José De J. Berrios, James Pan, Patricia Morales. (2020). Food Chemistry, 315, 126175. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126175

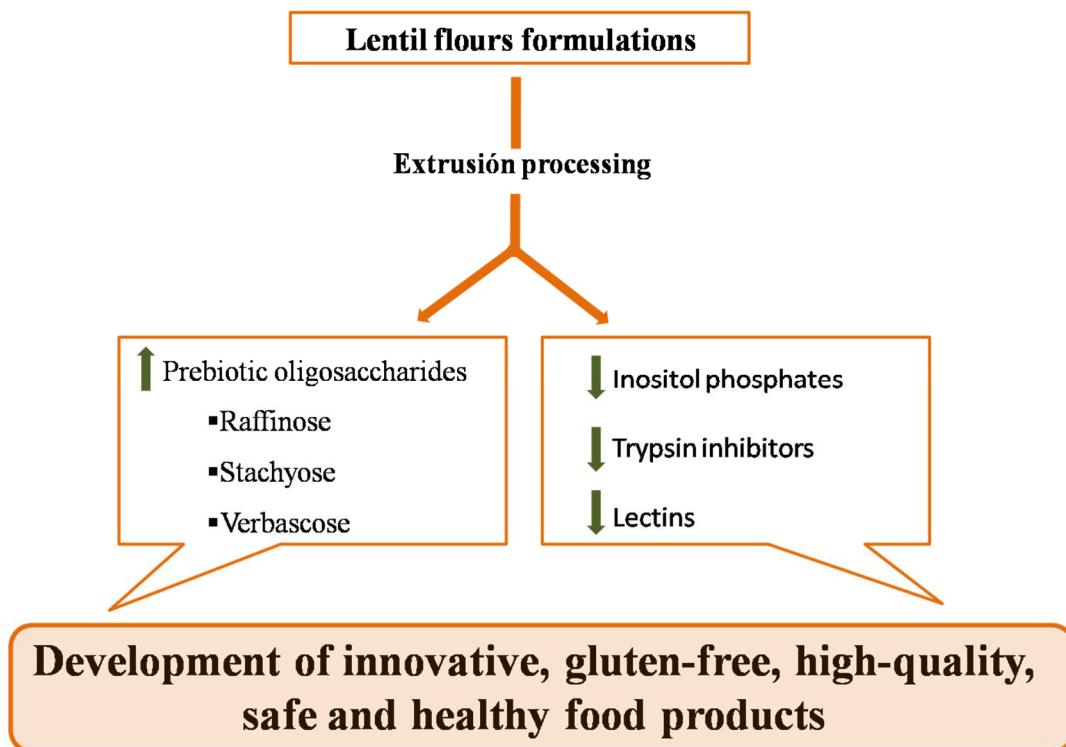


Figure 36. Graphical abstract article 3.



Novel gluten-free formulations from lentil flours and nutritional yeast:  
Evaluation of extrusion effect on phytochemicals and non-nutritional factors



María Ciudad-Mulero<sup>a,b</sup>, Virginia Fernández-Ruiz<sup>a</sup>, Carmen Cuadrado<sup>b</sup>, Claudia Arribas<sup>b</sup>,  
Mercedes M. Pedrosa<sup>b,\*</sup>, José De J. Berrios<sup>c</sup>, James Pan<sup>c</sup>, Patricia Morales<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Dpto. Nutrición y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid (UCM), Pza Ramón y Cajal, s/n. E-28040, Madrid, Spain

<sup>b</sup> Dpto. Tecnología de Alimentos, SGIT-INIA, Ctra de La Coruña km 7.5, 28040 Madrid, Spain

<sup>c</sup> USDA-ARS-WRRC, 800 Buchanan Street, Albany, CA 94710-1105, USA

## Abstract

The food industry is increasingly innovating and applying new processing technologies and ingredients to develop novel food products that meet the consumers' demand. In this study, the effect of extrusion (at 140 °C and 160 °C) was evaluated in different lentil flours formulations enriched with nutritional yeast in terms of  $\alpha$ -galactosides (raffinose, satachyose, verbascose), inositol phosphates (IPs), trypsin inhibitors and lectins content. The content of  $\alpha$ -galactosides and IPs was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Trypsin inhibitor activity (TIA) was evaluated using a small-scale quantitative assay. The lectin content was analysed using a haemagglutination assay and a Competitive Indirect Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Extrusion promoted a significant increase, up to 85% in total  $\alpha$ -galactosides content. After extrusion, IPs content was significantly decreased and TIA and lectins content had a reduction higher than 90%. Extrusion demonstrated to have a beneficial effect by increasing desirable prebiotic compounds and decreasing non-nutritional factors.

**Keywords:** lentils, extrusion, trypsin inhibitors, inositol phosphates,  $\alpha$ -galactosides, lectins

## 4.5. DISCUSIÓN INTEGRADORA DE HARINAS DE LEGUMBRES

### 4.5.1. Estudio del contenido de fibra, arabinosilanos, azúcares solubles y oligosacáridos

Desde el punto de vista nutricional, las legumbres son alimentos muy interesantes, con alta densidad de nutrientes, que se caracterizan por presentar numerosos compuestos bioactivos relacionados con propiedades beneficiosas para la salud. Este grupo de alimentos destaca por su contenido de fibra, especialmente rica en compuestos que forman parte de la fracción soluble de la misma, como los arabinosilanos y los oligosacáridos tipo  $\alpha$ -galactósidos, y además destacan por su contenido en almidón resistente, que pertenecen a la fracción de fibra insoluble (Berrios et al., 2013; Cámara et al., 2017; De Lorenzo-Carretero & Guasch Pereira, 2017).

En el presente trabajo se analizó el contenido de fibra (insoluble, soluble y total), así como el contenido de arabinosilanos (solubles en agua y totales) y oligosacáridos (y otros azúcares solubles) de distintas harinas de lenteja enriquecidas con levadura nutricional. Así mismo, se evaluó el efecto del proceso de extrusión (a 140 °C y a 160 °C) sobre estos compuestos bioactivos.

Como se puede ver en el Artículo 2 (apartado 4.4. de la presente Tesis Doctoral), en las formulaciones crudas de harina de lenteja, el contenido de **fibra** total varió entre 13,10 y 18,39 g/100 g, en las muestras CF y CF#3, respectivamente, siendo la fracción de fibra insoluble la mayoritaria en todas las muestras analizadas, representando entre el 68,1 % (CF) y el 83,6 % (CF#1) de la fibra total. Por su parte, como era de esperar, la fibra soluble, presumiblemente formada principalmente por arabinosilanos y oligosacáridos, se encontró en menor concentración (2,58 – 4,62 g/100 g, en CF#4 y CF#2, respectivamente).

El contenido de fibra en distintas harinas de legumbres ha sido estudiado por distintos autores. En el caso de las harinas de alubias (*Phaseolus vulgaris* L.), Berrios et al., (2002) encontraron valores similares a los obtenidos en nuestro trabajo, puesto que en sus estudios se observó que el contenido de fibra insoluble y soluble fue de 11,73 g/100 g y 6,02 g/100 g de harina, respectivamente. Posteriormente, en 2010, Berrios et al., publicaron un estudio en el cual la fracción de fibra insoluble también fue la mayoritaria en harinas de lenteja, guisante y garbanzo, obteniéndose para este tipo de muestras concentraciones de fibra insoluble entre 10,4 y 15,4 g/100 g de harina, mientras que los valores de fibra soluble estaban comprendidos entre 0,27 - 0,75 g/100 g de harina (Berrios et al., 2010). Más recientemente, Morales et al. (2015b) analizaron distintas formulaciones de harinas de lenteja y obtuvieron valores de fibra total

(12,42 g/100 g) e insoluble (12,31 g/100 g) similares a los encontrados en este trabajo, mientras que en las muestras analizadas por estos autores, la fracción de fibra soluble (0,11 g/100 g) presentó valores inferiores a los nuestros. En la literatura científica también está recogido el contenido de fibra total en harinas elaboradas con otras legumbres como el guisante (10,2 g/100 g), el garbanzo (15,4 g/100 g), la soja (22,6 g/100 g) y el altramuz (35,1 g/100 g) (Jahreis et al., 2016).

En la **Tabla 2** de la introducción de la presente Tesis Doctoral se recogen los valores encontrados en la bibliografía científica relativos al contenido de fibra (insoluble, soluble y total), así como el contenido de arabinosilanos en distintas legumbres. Estos valores han sido agrupados en la **Tabla 23**, con el fin de poder establecer una comparación entre las distintas legumbres, teniendo en cuenta el contenido de fibra y arabinosilanos.

Si tenemos en cuenta los rangos de concentración, así como el contenido medio de estos compuestos (**Tabla 23**), se observa que los altramuces (*Lupinus* sp.) son las legumbres que mayor contenido de fibra total e insoluble presentan, seguidos de las alubias (*Phaseolus vulgaris* L.), mientras que los valores más bajos se corresponden a los guisantes (*Pisum sativum* L.). En el caso de la fracción de fibra soluble, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las distintas legumbres objeto de comparación.

**Tabla 23.** Contenido de fibra (insoluble, soluble y total) y arabinosilanos totales en distintas legumbres (valores expresados en g/100 g, sss)

		Fibra Total	Fibra Insoluble	Fibra Soluble	AX	Referencias
<b>Harinas de lenteja objeto de estudio</b>	<b>Rango</b>	12,28 - 19,78	8,10 – 15,98	2,42 – 6,30	3,55 – 8,00	Ciudad-Mulero et al., 2018
<b>Alubias (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)</b>	<b>Rango</b>	23,00 – 37,60	20,00 – 36,10	0,30 – 6,00	0,97 – 2,21	Campos-Vega et al., 2009; Demirbas, 2005; Dodevska et al., 2013; Pérez-Hidalgo et al., 1997; Tosh & Yada, 2010
	<b>Media</b>	<b>28,90<sup>b</sup></b>	<b>25,95<sup>b</sup></b>	<b>3,37<sup>a</sup></b>	<b>1,59<sup>a</sup></b>	
<b>Habas (<i>Vicia faba</i> L.)</b>	<b>Rango</b>	13,80 – 24,70	9,07 – 22,70	2,00 – 4,74	-	Mattila et al., 2018; Millar et al., 2019
	<b>Media</b>	<b>19,25<sup>ab</sup></b>	<b>15,89<sup>ab</sup></b>	<b>3,37<sup>a</sup></b>	-	
<b>Garbanzos (<i>Cicer arietinum</i> L.)</b>	<b>Rango</b>	17,60 – 22,00	10,00 – 19,54	1,51 – 8,00	-	Martín-Cabrejas et al., 2006; Pérez-Hidalgo et al., 1997; Tosh & Yada, 2010
	<b>Media</b>	<b>19,66<sup>ab</sup></b>	<b>15,04<sup>ab</sup></b>	<b>4,63<sup>a</sup></b>	-	
<b>Lentejas (<i>Lens culinaris</i> L.)</b>	<b>Rango</b>	13,11 – 26,86	8,93 – 24,46	1,52 – 7,00	1,03 – 5,49	Ciudad-Mulero et al., 2018; Demirbas, 2005; Dodevska et al., 2013; Dueñas et al., 2016; Martín-Cabrejas et al., 2006; Pérez-Hidalgo et al., 1997; Tosh & Yada, 2010; Wang et al., 2009
	<b>Media</b>	<b>18,66<sup>ab</sup></b>	<b>15,57<sup>ab</sup></b>	<b>2,95<sup>a</sup></b>	<b>3,26<sup>a</sup></b>	
<b>Guisantes (<i>Pisum sativum</i> L.)</b>	<b>Rango</b>	14,00 – 26,00	9,77 – 15,00	2,00 – 9,00	1,07	Dodevska et al., 2013; Millar et al., 2019; Tosh & Yada, 2010
	<b>Media</b>	<b>17,61<sup>a</sup></b>	<b>11,41<sup>a</sup></b>	<b>5,25<sup>a</sup></b>	<b>1,07<sup>a</sup></b>	
<b>Altramuces (<i>Lupinus</i> sp.)</b>	<b>Rango</b>	47,50	42,00	5,50	-	Mattila et al., 2018
	<b>Media</b>	<b>47,50<sup>c</sup></b>	<b>42,00<sup>c</sup></b>	<b>5,50<sup>a</sup></b>	-	

Los rangos de variación así como los valores medios se han calculado en base a los datos encontrados en la literatura científica. En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), tras análisis estadístico (ANOVA simple) mediante el test de Duncan. AX: arabinosilanos

Si nos centramos en el efecto que el **proceso de extrusión** tiene sobre el contenido de fibra de los productos alimenticios, se observa que, en términos generales, este proceso tecnológico no suele afectar al contenido de fibra total en legumbres (Singh et al., 2007). Sin embargo, se ha visto que la matriz alimentaria sobre la que se aplica este tratamiento condiciona enormemente los efectos del mismo, tal y como se observa en las muestras de harina de lenteja enriquecidas con levadura nutricional analizadas en este estudio.

En el presente trabajo, el contenido de fibra total de las muestras extruidas a 140 °C y a 160 °C varió entre 16,57 y 19,61 g/100 g y entre 16,68 y 18,97 g/100 g de harina, respectivamente. Se observó que el contenido de fibra total de las formulaciones de lenteja extruidas a 140 °C disminuyó significativamente ( $p < 0,05$ ) al aumentar el porcentaje de levadura nutricional de la formulación. Sin embargo, cuando aumentó la temperatura de extrusión a 160 °C, con la excepción de la muestra control (CE160), el contenido de fibra total aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ).

Esta tendencia ha sido previamente observada por diversos autores, tanto en harinas de legumbres como en harinas de cereales. Por ejemplo, Siljeström et al. (1986) comprobaron que al aumentar la temperatura (150 - 200 °C) se producía un incremento en el contenido de fibra en harinas de trigo. Este mismo efecto se observó en harinas de cebada (Vasanthan et al., 2002) y en galletas elaboradas a partir de salvado de trigo extruido (Reyes-Pérez et al., 2013), mientras que otros autores han observado la tendencia opuesta, comprobando un descenso del contenido de la fibra total como consecuencia de la extrusión en legumbres como los guisantes (con una disminución del 3 – 9 %), las alubias secas (reduciendo su contenido un 16 %), los garbanzos (disminuyendo su contenido un 25,72 %) y las alubias carillas (con una reducción del 37,58 %) (Frias et al., 2011; Korus et al., 2006; Mahadevamma & Tharanathan, 2004).

Por otro lado, Varo et al. (1983) y Alonso et al. (2001) no encontraron cambios significativos en el contenido de fibra total en harinas extruidas de trigo (a 161 - 180 °C) y de alubias comunes (a 150 -155 °C). No obstante, Shih et al. (2009) concluyeron que el contenido de fibra podía aumentar, disminuir o mantenerse sin cambios tras el proceso de extrusión dependiendo de las condiciones de la materia prima y de los parámetros utilizados en el proceso.

Como ya se ha mencionado, la fracción de fibra insoluble fue la mayoritaria en todas las formulaciones analizadas y su contenido varió durante el proceso de extrusión sin ajustarse a un patrón claro. Los resultados mostraron una disminución del contenido de fibra insoluble en las muestras E140#1, E140#3 y E160#3, mientras que las muestras CE140, CE160, E140#2 y

E160#4 presentaron un aumento de esta fracción de fibra. En esta misma línea, [Vasanthan et al. \(2002\)](#) confirmaron que los cambios en el contenido de fibra insoluble en harinas de cebada dependían de la variedad utilizada para la obtención de la harina. Recientemente, [Arribas et al. \(2019d\)](#) analizaron distintas formulaciones a base de arroz fortificadas con algarrobo y alubias y observaron que el contenido de fibra insoluble se redujo entre un 19 – 95 % como consecuencia del proceso de extrusión a 125 °C.

En el caso concreto de la fibra soluble en las muestras objeto de estudio, se ha visto que el proceso de extrusión favorece el incremento de esta fracción. Este efecto se observó principalmente en las muestras CE140 y E160#4, en las cuales la fibra soluble aumentó un 38 % y un 46 %, respectivamente. Esta fracción de la fibra está constituida principalmente por pectinas, algunas hemicelulosas, gomas, mucílagos e inulina. Los arabinosilanos solubles y los oligosacáridos no digeribles también forman parte de la fibra soluble y son responsables de algunos de los beneficios que la fibra tiene para la salud, destacando el efecto prebiótico de los mismos ([Ciudad-Mulero et al., 2019](#); [Tungland & Meyer, 2002](#)). Si comparamos nuestros resultados con los obtenidos por diferentes autores, [Berrios et al. \(2010\)](#) no encontraron variaciones significativas en el contenido de fibra soluble después del tratamiento de extrusión a 160 °C de harinas de lenteja y garbanzo, sin embargo, en el caso de harinas de guisante seco, apreciaron un aumento de esta fracción. Por otro lado, los resultados obtenidos por [Morales et al. \(2015b\)](#) mostraron que el proceso de extrusión puede dar lugar a un aumento significativo del contenido de fibra soluble en distintas formulaciones de harinas de lenteja, observándose este mismo efecto en harinas de cebada y en snacks de maíz y calabaza tal y como publicaron [Delgado-Nieblas et al. \(2015\)](#) y [Vasanthan et al. \(2002\)](#).

Aunque no hay una tendencia clara, los resultados obtenidos por distintos autores ([Delgado-Nieblas et al., 2015](#); [Vasanthan et al. 2002](#)) nos permiten suponer que el aumento de fibra total que tiene lugar durante el proceso de extrusión se debe al incremento de la fibra soluble, puesto que este aumento es mayor que la reducción que se produce en el contenido de fibra insoluble. Una posible justificación de esta tendencia es que durante el proceso de extrusión, la matriz alimentaria está sometida a altas temperaturas y a fuerzas de cizallamiento que pueden provocar modificaciones fisicoquímicas en la fibra. En este sentido, como consecuencia del tratamiento termo-mecánico, tiene lugar una redistribución de las distintas fracciones de la fibra. Algunos componentes de la fracción insoluble sufren una fragmentación y pasan a formar parte de la fibra soluble, haciendo que aumente esta fracción ([Reyes-Pérez et al., 2013](#)). Otro posible proceso mecánico que podría explicar el incremento de la fibra soluble es la gelatinización del

almidón que tiene lugar durante la extrusión. Aunque es posible que durante este proceso no ocurra una gelatinización completa, se ha comprobado que mejora la digestibilidad del almidón (Wang & Klopfenstein, 1993) debido a que el almidón resistente se fragmenta y, como consecuencia, aumenta el contenido de fibra soluble, ya que los productos resultantes de la degradación del almidón son totalmente fermentables en el colon (García Peris, 2004; Singh et al., 2007).

Tal y como se ha indicado anteriormente, los **arabinosilanos** son unos compuestos destacados dentro de la fracción soluble de la fibra. Como se puede ver en el Artículo 2 (apartado 4.4. de la presente Tesis Doctoral), en las muestras de harina de lenteja analizadas, el contenido de arabinosilanos totales (TOAX) en las formulaciones crudas varió entre 3,66 y 7,18 g/100 g (muestras CF#2 y CF#4 respectivamente), representando estos valores hasta un 40 % de la fibra total. Por otro lado, la concentración de arabinosilanos solubles en agua (WEAX), en las muestras crudas osciló entre 1,07 (CF y CF#1) y 1,44 g/100 g (CF#2).

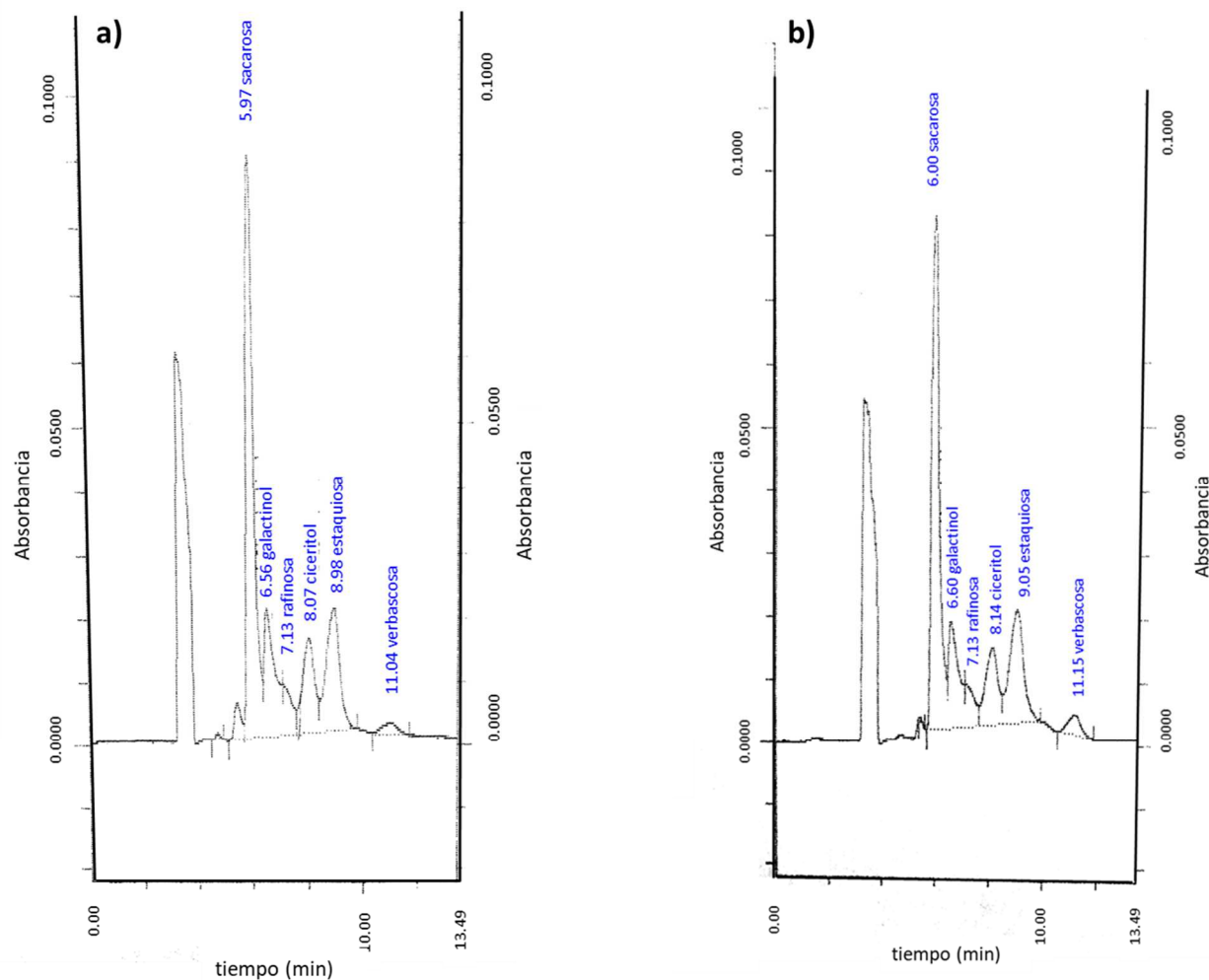
En todas las muestras analizadas, se observó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en el contenido de arabinosilanos, tanto solubles en agua como totales, después del tratamiento de **extrusión**. En este sentido, Arcila et al. (2015) estudiaron los cambios que se producían en la extracción de los principales componentes de la fibra del salvado de trigo tras someterlo a un proceso de extrusión y sus resultados indicaron que este tratamiento tecnológico afecta principalmente a los arabinosilanos, cuya extracción fue mayor en el caso del salvado extruido. Estos autores observaron que las condiciones de extrusión influían en gran medida en la extracción de estos compuestos y comprobaron que las condiciones más favorables de extracción consistían en una baja humedad de la materia prima y una baja velocidad del extrusor. Por su parte, Honcu et al. (2016) estudiaron el efecto de la extrusión sobre los arabinosilanos presentes en harinas de cebada y sus resultados indicaron que, en el caso de las harinas crudas, el contenido de arabinosilanos osciló entre 3,09 - 4,14 %, mientras que en el caso de las harinas extruidas estos valores fueron ligeramente superiores (entre 3,11 y 4,48 %). Sin embargo, en el caso concreto de las harinas de lentejas, existe muy poca información sobre el impacto que el proceso de extrusión puede tener en el contenido de arabinosilanos de las mismas.

La literatura científica relativa al contenido de arabinosilanos en legumbres es muy escasa. A día de hoy, únicamente existe un estudio realizado en el 2013 por Dodevska et al., en el que analizaron el contenido de arabinosilanos en alubias, lentejas y guisantes, obteniendo valores comprendidos entre 1,03 y 2,21 g/100 g. No obstante, debido a la importancia en la salud que

tienen estos compuestos, y al papel que desempeñan las legumbres en la alimentación de la población, sería importante profundizar sobre su presencia en este grupo de alimentos mediante la realización de estudios científicos que permitan ampliar el conocimiento en este campo de investigación.

Respecto al estudio de otros compuestos de gran relevancia dentro de la fracción de fibra soluble como son los **oligosacáridos**, en este trabajo se caracterizaron la rafinosa, la estaquiosa y la verbascosa. Además, se identificaron y cuantificaron otros azúcares solubles como la sacarosa y la maltosa (disacáridos) y el galactinol y el ciceritol (di- y trisacáridos de tipo azúcar-alcohol).

La sacarosa fue en azúcar soluble mayoritario en las formulaciones crudas analizadas y su concentración osciló entre 5,25 – 7,21 g/100 g de harina (muestras CF#1 y CF#4, respectivamente). En estas muestras no sometidas al proceso de extrusión, el contenido de sacarosa generalmente aumentó al incrementarse el porcentaje de levadura nutricional de la formulación. Esto podría explicarse debido a que la levadura nutricional contiene éste disacárido (0,10 g/100 g). El galactinol y el ciceritol se encontraron en menores cantidades en las muestras crudas y la maltosa sólo estuvo presente en la muestra CF#4 (con un 16 % de levadura nutricional), lo que indica que la levadura nutricional, que contiene 0,21 g de maltosa por 100 gramos, es la principal fuente de este disacárido en las formulaciones. Además, el análisis de la levadura nutricional utilizada en la elaboración de las formulaciones objeto de estudio mostró que ésta contenía 11,08 de galactinol por 100 g. Por otro lado, el contenido total de oligosacáridos ( $\alpha$ -galactósidos) en las muestras crudas fue de 2,68 – 3,49 g/100 g de harina, en las muestras CF y CF#4, respectivamente, observándose un incremento en la concentración de estos compuestos a medida que aumentó el porcentaje de levadura nutricional de las muestras. Una excepción se encontró en la muestra CF#3, que contenía un 12 % de levadura nutricional y cuya concentración de  $\alpha$ -galactósidos (2,92 g/100 g de harina) no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en comparación con la muestra CF#2 que contiene un 8 % de levadura nutricional. Aunque en el análisis de la levadura nutricional no se detectaron oligosacáridos, en la literatura científica se ha encontrado información sobre la presencia de manano-oligosacáridos en la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* (Tanimoto et al. 2002; Conejos et al., 2012), lo que podría explicar el incremento en el contenido de oligosacáridos que se observa en las formulaciones con mayor porcentaje de levadura nutricional.



**Figura 37.** Ejemplos de cromatogramas de la determinación de azúcares solubles y  $\alpha$ -galactósidos, correspondiente a la muestras CF#1 (a) y E140#1 (b)

La **Tabla 24** recoge los rangos de concentración encontrados en la literatura científica relativos a la presencia de oligosacáridos (rafinosa, estaquirosa y verbascosa) en distintas legumbres. Se puede observar que, en el caso de las lentejas (*Lens culinaris* L.), estos rangos (rafinosa: 0,27 – 1,21 g/100 g; estaquirosa: 1,81 – 3,09 g/100 g; verbascosa: 0,36 – 1,65 g/100 g) son muy similares a los obtenidos para las muestras objeto de estudio (rafinosa: 0,24 – 0,86 g/100 g; estaquirosa: 1,88 – 3,31 g/100 g; verbascosa: 0,32 – 1,61 g/100 g). Si comparamos las distintas legumbres, se puede ver que los altramuces (*Lupinus* sp.) presentan un contenido significativamente superior ( $p < 0,05$ ) de rafinosa y estaquirosa, mientras que las habas (*Vicia faba* L.) son las que menor concentración tienen de rafinosa. Los garbanzos (*Cicer arietinum* L.) junto con las habas son las legumbres que presentan los valores más bajos de estaquirosa.

En el caso de la verbascosa, las habas, los guisantes (*Pisum sativum* L.) y los altramuces presentan concentraciones significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) de este compuesto, en comparación con las alubias (*Phaseolus vulgaris* L.), los garbanzos y las lentejas. El hecho de que los altramuces sean las legumbres con mayor contenido de oligosacáridos se relaciona con el mayor contenido de fibra (especialmente fibra soluble) de los mismos, en comparación con el resto de legumbres (**Tabla 23**).

En el presente trabajo, tal y como se ha indicado anteriormente, también se analizaron los azúcares solubles y los oligosacáridos en las harinas objeto de estudio, siendo la rafinosa, la estaquiosa y la verbascosa, los oligosacáridos encontrados en las mismas. El  $\alpha$ -galactósido mayoritario fue la estaquiosa, seguido de la rafinosa y la verbascosa, salvo en la muestra CF#4 en la que la verbascosa se encontró en mayor cantidad que la rafinosa. Estos resultados están acorde con los obtenidos previamente por [Morales et al. \(2015a\)](#). Estos autores analizaron distintas formulaciones a base de harina de lenteja enriquecidas con distintos tipo de fibra y encontraron que el contenido total de  $\alpha$ -galactósidos varió entre 2,6 y 4,2 g/100 g. Además, unos años antes, [Berrios et al. \(2010\)](#) analizaron estos compuestos en otras formulaciones de harina de lenteja y obtuvieron valores ligeramente inferiores de rafinosa (0,31 g/100 g de harina) y estaquiosa (1,48 g/100 g de harina). Por otro lado, [Hefnawy \(2011\)](#) cuantificó la cantidad de rafinosa, estaquiosa y verbascosa en diferentes harinas de lentejas, observando que la cantidad de estos compuestos fue de 0,40 g/100 g, 1,81 g/100 g y 0,48 g/100 g de harina, respectivamente. En la literatura científica se han encontrado valores de rafinosa y estaquiosa en distintas legumbres. En el caso de los garbanzos, estos valores son similares a los obtenidos en nuestro trabajo, ya que oscilan entre 0,57 - 0,63 g de rafinosa/100g y 0,74 - 1,17 g de estaquiosa/100 g. Además, también se ha estudiado la concentración de estos compuestos en guisantes (0,48 g de rafinosa/100g; 0,64 g de estaquiosa/100 g) y alubias (0,25 – 0,51 g de rafinosa/100 g; 1,65 – 2,49 g de estaquiosa/100 g) ([Sánchez-Mata et al., 1998](#); [Sánchez-Mata et al., 1999](#)).

**Tabla 24.** Contenido de oligosacáridos tipo  $\alpha$ -galactósidos (rafinosa, estaquiosa y verbascosa) en distintas legumbres (valores expresados en g/100 g, sss)

		Rafinosa	Estaquiosa	Verbascosa	Referencias
<b>Harinas de lenteja</b> <b>objeto de estudio</b>	<b>Rango</b>	0,24 – 0,86	1,88 – 3,31	0,32 – 1,61	Ciudad-Mulero et al., 2020b
<b>Alubias</b> <i>(Phaseolus vulgaris L.)</i>	<b>Rango</b>	0,39 – 0,66	1,56 – 5,23	0,06 – 0,51	Berrios et al., 2002; Cardador-Martínez et al., 2020; Fan et al., 2015; Moussou et al., 2017; Siva et al., 2019
	<b>Media</b>	<b>0,54<sup>ab</sup></b>	<b>3,48<sup>b</sup></b>	<b>0,25<sup>a</sup></b>	
<b>Habas</b> <i>(Vicia faba L.)</i>	<b>Rango</b>	0,11 – 0,48	0,72 – 1,37	2,28 – 3,67	Fan et al., 2015; Moussou et al., 2017; Njoumi et al., 2019
	<b>Media</b>	<b>0,26<sup>a</sup></b>	<b>1,02<sup>a</sup></b>	<b>2,72<sup>b</sup></b>	
<b>Garbanzos</b> <i>(Cicer arietinum L.)</i>	<b>Rango</b>	0,44 – 0,69	1,41 – 2,94	0,08 – 0,12	Berrios et al., 2010; Moussou et al., 2017; Njoumi et al., 2019; Siva et al., 2019
	<b>Media</b>	<b>0,57<sup>ab</sup></b>	<b>1,93<sup>ab</sup></b>	<b>0,11<sup>a</sup></b>	
<b>Lentejas</b> <i>(Lens culinaris L.)</i>	<b>Rango</b>	0,27 – 1,21	1,81 – 3,09	0,36 – 1,65	Berrios et al., 2010; Hefnawy et al., 2011; Morales et al., 2015a; Moussou et al., 2017; Njoumi et al., 2019; Siva et al., 2019
	<b>Media</b>	<b>0,49<sup>ab</sup></b>	<b>2,25<sup>ab</sup></b>	<b>0,94<sup>a</sup></b>	
<b>Guisantes</b> <i>(Pisum sativum L.)</i>	<b>Rango</b>	0,33 – 1,56	2,02 – 3,09	2,01 – 3,21	Berrios et al., 2010; Fan et al., 2015; Moussou et al., 2017
	<b>Media</b>	<b>0,97<sup>bc</sup></b>	<b>2,56<sup>ab</sup></b>	<b>2,61<sup>b</sup></b>	
<b>Altramuces</b> <i>(Lupinus sp.)</i>	<b>Rango</b>	0,89 – 1,35	3,98 – 8,34	2,10 – 4,24	Osorio et al., 2018
	<b>Media</b>	<b>1,11<sup>c</sup></b>	<b>6,16<sup>c</sup></b>	<b>3,17<sup>b</sup></b>	

Los rangos de variación así como los valores medios se han calculado en base a los datos encontrados en la literatura científica. En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), tras análisis estadístico (ANOVA simple) mediante el test de Duncan.

La concentración de azúcares solubles (sacarosa, maltosa, galactinol, ciceritol) encontrada en el presente trabajo también es similar a la que se observó en los estudios anteriormente citados. Concretamente, [Sánchez-Mata et al. \(1998\)](#) estudiaron el contenido de estos compuestos en lentejas (sacarosa: 1,04 – 1,43 g/100 g; maltosa: 0,13 – 0,20 g/100 g; ciceritol: 1,36 – 1,82 g/100

g), guisantes (sacarosa: 2,45 g/100 g; maltosa: 0,11 g/100 g), alubias (sacarosa: 1,45 – 3,49 g/100 g; maltosa: 0,40 – 0,87 g/100 g) y garbanzos (sacarosa: 1,09 – 2,28 g/100 g; maltosa: 0,57 – 0,61 g/100 g; ciceritol: 2,51 – 2,79 g/100 g). Por lo general, los resultados de estos autores muestran valores más bajos de sacarosa y cantidades más altas de maltosa, en comparación con los resultados obtenidos en nuestro trabajo.

Al igual que ocurre con otros compuestos, el efecto de la **extrusión** sobre los azúcares solubles y los  $\alpha$ -galactósidos depende de las condiciones del proceso (temperatura y humedad, especialmente), la matriz alimentaria y el hecho de que no todos los azúcares se ven afectados en la misma medida por este tratamiento tecnológico (Arribas et al., 2019c). En el caso de las muestras analizadas, el contenido de sacarosa fue significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) en las formulaciones extruidas que en las correspondientes muestras crudas. Esto podría deberse a que como consecuencia de las altas presiones y las altas temperaturas que se emplean durante el proceso, la sacarosa se podría hidrolizar en glucosa más fructosa (Singh et al., 2007). En el caso de la maltosa, el contenido de este disacárido fue generalmente superior en las muestras extruidas, mientras que el efecto de la extrusión sobre el galactinol y el ciceritol no siguió un patrón consistente.

Como consecuencia de la extrusión, se observó un incremento significativo ( $p < 0,05$ ) en la concentración total de  $\alpha$ -galactósidos (rafinosa, estaquiosa y verbascosa) en todas las muestras analizadas, con la excepción de la muestra E160#3, que presentó un contenido similar que su correspondiente muestra cruda (CF#3). Además, en el caso de las formulaciones consideradas como control (sin levadura nutricional incorporada), el contenido total de  $\alpha$ -galactósidos presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) tras someter las muestras a las distintas condiciones de extrusión (140 °C y 160 °C). En este sentido, el contenido total de  $\alpha$ -galactósidos fue superior en las muestras extruidas a 160 °C. El contenido de rafinosa y verbascosa aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ) tras la extrusión y este hecho repercute directamente en el incremento observado en la concentración total de  $\alpha$ -galactósidos. Sin embargo, el efecto de la extrusión sobre el contenido de estaquiosa no sigue una tendencia clara.

El aumento de la concentración de  $\alpha$ -galactósidos tras la extrusión ha sido previamente observado por otros autores (Arribas et al., 2019c; Berrios et al., 2002; Berrios et al., 2010; Morales et al., 2015a; Tosh & Yada, 2010) y puede deberse a que durante este proceso tienen lugar modificaciones en la pared celular que dan lugar a un aumento en la extractabilidad de los  $\alpha$ -galactósidos de la matriz alimentaria. Además, se sabe que la cocción por extrusión

mejora el valor nutricional de las formulaciones basadas en harinas de legumbres, puesto que los oligosacáridos se consideran compuestos con efecto prebiótico (Tosh & Yada, 2010). Teniendo en cuenta que el efecto de la extrusión en las legumbres depende de la matriz alimentaria y de las condiciones del tratamiento, es importante seleccionar los ingredientes y optimizar los parámetros del proceso con el fin de que el producto extruido mantenga o incremente el contenido de  $\alpha$ -galactósidos, de manera que los productos alimenticios que se obtengan presenten un valor añadido, atribuido al efecto prebiótico de estos compuestos (Arribas et al., 2019c; Morales et al., 2015a; Patterson et al., 2017).

#### 4.5.2. Estudio del contenido de tocoferoles

En el presente trabajo, se caracterizaron los vitámeros  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -tocoferol en todas las muestras objeto de estudio. El  $\gamma$ -tocoferol fue el compuesto mayoritario en las harinas de lenteja analizadas tal y como habían demostrado previamente otros autores en estudios anteriores (Morales et al., 2015b; Zhang et al., 2014). Como se puede ver en la **Tabla 25**, este vitámero ( $\gamma$ -tocoferol) es el más abundante en todas las legumbres, siendo su contenido significativamente superior ( $p < 0,05$ ) en los altramuces (*Lupinus* sp.) y en los garbanzos (*Cicer arietinum* L.) que en otros alimentos de este grupo, como las alubias (*Phaseolus vulgaris* L.), las habas (*Vicia faba* L.), las lentejas (*Lens culinaris* L.) o los guisantes (*Pisum sativum* L.).

En el caso de las muestras objeto de estudio, el contenido total de tocoferoles en las formulaciones crudas osciló entre 2,05 mg/100 g (muestra CF#4, con 16 % de levadura nutricional) y 3,02 mg/100 g de harina (muestra CF#1, con 4% de levadura nutricional), estando estos valores dentro del rango encontrado en la literatura científica (0,91 – 6,44 mg/100 g) (**Tabla 25**).

**Tabla 25.** Contenido de tocoferoles ( $\alpha$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocoferol y tocoferoles totales) en distintas legumbres (valores expresados en mg/100 g, sss)

		$\alpha$ -tocoferol	$\gamma$ -tocoferol	Tocoferoles totales	Referencias
<b>Harinas de lenteja</b> <b>objeto de estudio</b>	<b>Rango</b>	nd – 0,07	nd – 2,98	nd – 3,03	Ciudad-Mulero et al., 2018
<b>Alubias</b> <i>(Phaseolus vulgaris L.)</i>	<b>Rango</b>	nd – 0,23	1,00 – 4,85	1,22 – 8,60	Boschin & Arnoldi, 2011; Kan et al., 2017; Kan et al., 2018; Padhi et al., 2017
	<b>Media</b>	<b>0,06<sup>a</sup></b>	<b>2,59<sup>a</sup></b>	<b>4,62<sup>a</sup></b>	
<b>Habas</b> <i>(Vicia faba L.)</i>	<b>Rango</b>	nd – 0,84	0,78 – 5,60	0,90 – 6,19	Boschin & Arnoldi, 2011, Fernández-Marín et al., 2014; Kan et al., 2018
	<b>Media</b>	<b>0,44<sup>a</sup></b>	<b>3,07<sup>a</sup></b>	<b>2,96<sup>a</sup></b>	
<b>Garbanzos</b> <i>(Cicer arietinum L.)</i>	<b>Rango</b>	0,32 – 2,36	6,44 – 14,18	6,49 – 17,05	Boschin & Arnoldi, 2011; Fernández-Marín et al., 2014; Padhi et al., 2017; Sarmiento et al., 2015
	<b>Media</b>	<b>1,74<sup>b</sup></b>	<b>10,07<sup>b</sup></b>	<b>11,71<sup>b</sup></b>	
<b>Lentejas</b> <i>(Lens culinaris L.)</i>	<b>Rango</b>	nd – 0,44	1,62 – 6,35	0,91 – 6,44	Boschin & Arnoldi, 2011; Ciudad-Mulero et al., 2018; Fernández-Marín et al., 2014; Kan et al., 2018; Morales et al., 2015b; Padhi et al., 2017; Zhang et al., 2014
	<b>Media</b>	<b>0,18<sup>a</sup></b>	<b>3,95<sup>a</sup></b>	<b>3,92<sup>a</sup></b>	
<b>Guisantes</b> <i>(Pisum sativum L.)</i>	<b>Rango</b>	nd – 0,96	0,62 – 13,30	0,85 – 14,00	Boschin & Arnoldi, 2011; Fernández-Marín et al., 2014; Kan et al., 2018; Padhi et al., 2017
	<b>Media</b>	<b>0,27<sup>a</sup></b>	<b>5,25<sup>a</sup></b>	<b>5,57<sup>a</sup></b>	
<b>Altramuces</b> <i>(Lupinus sp.)</i>	<b>Rango</b>	nd -0,55	6,12 – 20,10	6,32 – 13,40	Boschin & Arnoldi, 2011; Frias et al., 2005
	<b>Media</b>	<b>0,25<sup>a</sup></b>	<b>13,07<sup>b</sup></b>	<b>9,86<sup>b</sup></b>	

Los rangos de variación así como los valores medios se han calculado en base a los datos encontrados en la literatura científica. En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), tras análisis estadístico (ANOVA simple) mediante el test de Duncan. nd: no detectado.

Entre los numerosos factores que afectan a la estabilidad de las vitaminas durante el proceso de **extrusión**, se incluyen las condiciones de mezclado, la temperatura, la presión, la humedad, o la velocidad a la que se lleva a cabo el proceso. Dentro de las vitaminas liposolubles, la vitamina A y la vitamina E son las más sensibles a la extrusión. Por su parte, la vitamina C, la vitamina

B<sub>1</sub> y el ácido fólico (B<sub>9</sub>) son las vitaminas hidrosolubles que se ven más afectadas por este tratamiento tecnológico (Riaz et al., 2009).

Según lo esperado, el contenido de todos los vitámeros de tocoferol estudiados se redujo significativamente ( $p < 0,05$ ) después de la extrusión y se observó un descenso entre el 81,5 % y el 92 % en el contenido total de tocoferoles. Otros autores han observado una reducción similar en el contenido de estos compuestos bioactivos como consecuencia de la extrusión en distintas matrices alimentarias (Morales et al., 2015b; Sundarrajan, 2014; Zielinski et al., 2001a).

En el caso de harinas de legumbres, Morales et al. (2015b) estudiaron formulaciones de harina de lenteja enriquecidas con fibra alimentaria, y observaron una reducción del 83 – 94 % en el contenido de tocoferoles de las muestras extruidas a 160 °C, en comparación con las muestras no procesadas. Recientemente, Arribas et al. (2019a) comprobaron que el proceso de extrusión conllevó una disminución significativa en el contenido de todos los vitámeros de tocoferoles, en formulaciones a base de arroz, algarrobo y alubias, siendo el  $\gamma$ -tocopherol el único vitámero detectado en algunas formulaciones extruidas.

Las condiciones a las que se lleva a cabo la extrusión influyen en el efecto que este proceso tecnológico tiene sobre el contenido de los diferentes vitámeros de vitamina E. En este sentido, un estudio realizado en almortas (*Lathyrus sativus* L.) confirmó que el incremento de la temperatura de extrusión favorece la disminución del contenido de  $\alpha$ -tocopherol, mientras que el aumento de la humedad se relacionó con valores más bajos de  $\gamma$ -tocopherol (Grela et al., 1999).

Por otro lado, en el caso de cereales extruidos (avena, cebada, trigo y centeno), se ha visto que el contenido total de tocoferoles disminuyó entre el 40 % y en 93 % después de someterlos al tratamiento térmico (extrusión a 120 °C). También se ha observado que la matriz alimentaria sobre la que se aplica la extrusión condiciona el grado de reducción del contenido de vitamina E, cuyas pérdidas fueron menores en el caso de la harina de avena en comparación con harinas obtenidas a partir de otros cereales (Zielinski et al., 2001a).

En pseudocereales como el amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) o la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) y en leguminosas del género *Lupinus* como el altramuz también se ha visto una disminución entre el 40 % y el 77 % en el contenido total de tocoferoles como consecuencia de la extrusión (Sundarrajan, 2014).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo así como la información disponible en la bibliografía científica, ponen de manifiesto que la optimización de los parámetros de extrusión (temperatura, humedad, velocidad, entre otros) resulta fundamental para disminuir las pérdidas de vitamina E que están asociadas a la aplicación de este tratamiento tecnológico.

#### 4.5.3. Estudio del contenido de compuestos fenólicos (individuales y totales)

El perfil de compuestos fenólicos de las lentejas (*Lens culinaris* L.) ha sido ampliamente estudiado por diferentes autores, analizándose distintas variedades de diversos lugares de procedencia. Entre los numerosos estudios realizados sobre la composición fenólica de estas legumbres, se pueden citar, entre otros, los llevados a cabo en lenteja Pardina (Aguilera et al., 2010; Dueñas et al., 2006; Dueñas et al., 2007), lentejas verdes (Amarowicz et al., 2010; Troszyńska et al., 2011), lentejas rojas (Amarowicz et al., 2009), brotes de lenteja (Troszyńska et al., 2011), cubiertas de semilla de lenteja (Mirali et al., 2014), diferentes cultivares de lenteja canadiense (Alshikh et al., 2015; Zhang et al., 2015), semillas de lentejas var. Brotes de Tina (Swieca et al., 2012), lentejas castellanas de España (Dueñas et al., 2006), distintos genotipos de lentejas comerciales (Johnson et al., 2013), *Lens culinaris* var. Morton (Zou et al., 2011), *Lens culinaris* Medik. cv. Dimitra (Giannakoula et al., 2012), o en diferentes cultivares de lentejas de Idaho (EE.UU.) (Xu & Chang, 2010). También se han estudiado los efectos de la cocción y la germinación sobre la composición fenólica de las lentejas (Dueñas et al., 2016; Zhang et al., 2014).

En el presente este estudio, se evaluaron los cambios inducidos por el proceso de extrusión en la composición de compuestos bioactivos, incluidos los compuestos fenólicos, de las distintas formulaciones de harina de lenteja enriquecidas con levadura nutricional. En las muestras analizadas se detectaron ocho compuestos fenólicos, seis de los cuales eran derivados de flavonol, uno derivado de flavan-3-ol y otro derivado de ácido fenólico. El hexósido de catequina fue el compuesto fenólico más abundante en las formulaciones objeto de estudio. Se trata de un compuesto mayoritario en las lentejas que, al igual que el kaempferol tetraglucósido y los kaempferol triglucósidos, ha sido identificado previamente por muchos de los autores anteriormente citados.

En las muestras analizadas, el contenido de compuestos fenólicos totales, y particularmente el contenido de hexósido de catequina (compuesto fenólico principal), aumentó de forma proporcional al incremento del porcentaje de levadura nutricional incorporado en las formulaciones de harina de lenteja.

**Tabla 26.** Contenido total de compuestos fenólicos en distintas legumbres (valores expresados en mg/100 g, sss)

		Contenido fenólico total	Referencias
<b>Harinas de lenteja objeto de estudio</b>	<b>Rango</b>	<b>2,47 – 84,31</b>	Ciudad-Mulero et al., 2018
<b>Alubias</b> ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	<b>Rango</b>	14,70 – 418,40	Grela et al., 2017b; Lafarga et al., 2019
	<b>Media</b>	<b>216,55<sup>a</sup></b>	
<b>Habas</b> ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>Rango</b>	2,88 – 366,70	Grela et al., 2017b; Lafarga et al., 2019; Magalhães et al., 2017
	<b>Media</b>	<b>109,58<sup>a</sup></b>	
<b>Garbanzos</b> ( <i>Cicer arietinum</i> L.)	<b>Rango</b>	2,75 – 459,70	Grela et al., 2017b; Han & Baik, 2008; Lafarga et al., 2019; Magalhães et al., 2017
	<b>Media</b>	<b>141,89<sup>a</sup></b>	
<b>Lentejas</b> ( <i>Lens culinaris</i> L.)	<b>Rango</b>	19,06 -1.200	Grela et al., 2017b; Han & Baik, 2008; Lafarga et al., 2019
	<b>Media</b>	<b>699,34<sup>b</sup></b>	
<b>Guisantes</b> ( <i>Pisum sativum</i> L.)	<b>Rango</b>	17,93 – 250,00	Grela et al., 2017b; Han & Baik, 2008; Lafarga et al., 2019
	<b>Media</b>	<b>160,65</b>	
<b>Altramuces</b> ( <i>Lupinus</i> sp.)	<b>Rango</b>	13,03 – 328,90	Grela et al., 2017b; Magalhães et al., 2017
	<b>Media</b>	<b>182,78<sup>a</sup></b>	

Los rangos de variación así como los valores medios se han calculado en base a los datos encontrados en la literatura científica. En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), tras análisis estadístico (ANOVA simple) mediante el test de Duncan.

En la **Tabla 26** se recogen los rangos de concentración de compuestos fenólicos totales en distintas legumbres encontrados en la literatura científica. Se observa que el contenido total de estos compuestos es significativamente superior ( $p < 0,05$ ) en las lentejas (*Lens culinaris* L.), que en el resto de legumbres objeto de comparación. En el caso de las muestras analizadas en este estudio, el contenido total de compuestos fenólicos de las formulaciones crudas fue de 45,80 – 82,94 mg/100 g, en CF y CF#4, respectivamente, encontrándose dichos valores dentro de rango según datos bibliográficos (19,06 – 1.200 mg/100 g).

Analizando el efecto de la **extrusión**, se observó que la temperatura a la que se llevó a cabo el proceso estaba directamente relacionada con la disminución del contenido total de fenoles así como con la reducción del contenido de cada uno de los compuestos fenólicos individuales. En las muestras control (sin levadura), y particularmente en la muestra CE160 (extruida a 160 °C), se apreció una marcada disminución (97 %) en el contenido total de compuestos fenólicos en comparación con la muestra CE140 (extruida a 140 °C). Por otra parte, la tendencia observada

indica que, tanto el contenido fenólico total como el contenido de hexósido de catequina, experimentaron una mayor reducción en aquellas harinas que llevaban mayor proporción de levadura (12 % y 16 %) en su formulación, siendo esta reducción del 90 % y del 95 % en el caso de las muestras extruidas E160#4 y E140#3, respectivamente. El resto de compuestos fenólicos con menor peso molecular, también experimentaron una disminución en su contenido, pero este descenso fue menos acusado, probablemente debido a la hidrólisis parcial de los fenoles conjugados, que inicialmente se encontraban unidos covalentemente a la fracción de fibra insoluble y que se podrían liberar tras la extrusión, aumentando así la bioaccesibilidad de estos polifenoles (Manach et al., 2004; Wang et al., 2014).

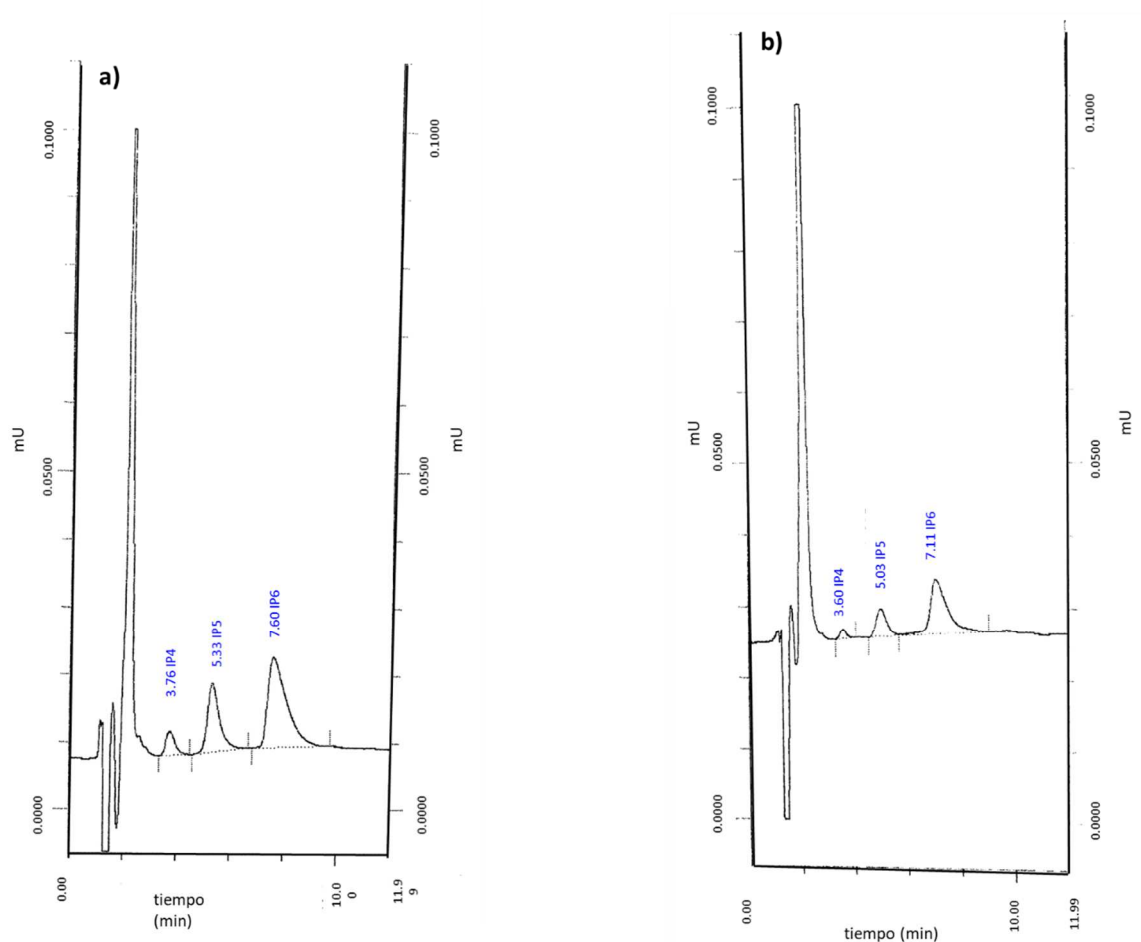
Generalmente, se piensa que los tratamientos tecnológicos que se aplican durante el procesado de los alimentos causan pérdidas sustanciales en el contenido de compuestos antioxidantes, sin embargo, se ha visto que la cocción por extrusión puede afectar positiva o negativamente a la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos en granos de cereales (Wang et al., 2014). Esto puede explicarse debido a que la alta temperatura a la que se lleva a cabo el tratamiento de extrusión, provoca la degradación de los compuestos fenólicos termolábiles mientras que, por otra parte, como consecuencia de la alta presión aplicada durante la cocción puede tener lugar la polimerización de algunos compuestos fenólicos. En este sentido, Morales et al. (2015b) analizaron harinas de lenteja enriquecidas con diferentes fuentes de fibra, observando que las muestras que habían sido sometidas al proceso de extrusión presentaban un contenido fenólico total significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) que sus correspondientes muestras crudas. En el citado estudio, tras la extrusión también se observó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) del contenido de ácido hidroxibenzoico y ácido hidroxicinámico, mientras que el contenido de flavonoles disminuyó significativamente después de la extrusión.

Korus et al. (2007) indicaron que los efectos de la extrusión (a 120 °C y a 180 °C) sobre el contenido fenólico total de las alubias (*Phaseolus vulgaris* L.) dependían del tipo de cultivar. Al comparar las alubias crudas con las extruidas, en algunos cultivares, se observó que la extrusión se asociaba con un aumento del 14 % de la cantidad de compuestos fenólicos, siendo este aumento mayor en el caso de la quercetina. Sin embargo, en otros cultivares analizados en el mismo estudio, los autores observaron una disminución tras la extrusión del 19 - 21 %, atribuyendo este efecto a la reducción en el contenido de miricetina, quercetina y ácidos clorogénicos, principalmente.

#### 4.5.4. Estudio del contenido de inositol fosfatos

El inositol hexafosfato (IP6), también conocido como ácido fítico o fitato, constituye una reserva de fósforo en las semillas de legumbres maduras. Se sabe que este compuesto forma complejos con los minerales y reduce su biodisponibilidad, pudiendo causar deficiencias nutricionales (Arribas et al., 2019b; Nikmaram et al., 2017; Sozer et al., 2017). Sin embargo, los inositol fosfatos (IP) menos fosforilados (inositol tetrafosfato: IP4, inositol trifosfato: IP3, inositol difosfato: IP2, e inositol monofosfato: IP) han mostrado efectos beneficiosos para la salud ya que promueven la absorción intestinal de minerales y reducen la formación de cálculos renales (Morales et al., 2015a).

En este trabajo se analizó el contenido de IP individuales (IP4, IP5 e IP6), así como el contenido total de estos compuestos, como se puede ver en el artículo 3 (apartado 4.4.2. de la presente Tesis Doctoral).



**Figura 38.** Ejemplos de cromatogramas de la determinación de inositol fosfatos, correspondiente a las muestras CF#1 (a) y E140#1 (b)

En las muestras crudas (no procesadas) de harina de lenteja, la concentración total de IP fue de 366 – 564 mg/100 g de harina (muestras CF#4 y CF#1, respectivamente). Estos valores se encuentran dentro del rango encontrado en la literatura científica para el contenido total de IP en lentejas (*Lens culinaris* L.) (327 – 122 mg/100 g) (**Tabla 27**). Los resultados mostraron que tanto el contenido de los IP individuales (IP4, IP5, IP6), como el contenido total de los mismos en las muestras crudas, fue menor cuanto mayor era el porcentaje de levadura nutricional presente en las formulaciones. Esta reducción puede deberse a que ninguna de las isoformas de IP fue detectada en la levadura nutricional y, por lo tanto, la harina de lenteja constituyó la principal fuente de estos compuestos en las muestras objeto de estudio. En general, el IP6 fue la isoforma mayoritaria en todas las muestras analizadas, seguida de IP5 e IP4.

Si comparamos nuestros resultados con los disponibles en la literatura científica, se observa que, en términos generales, el contenido de IP individuales y totales es bastante similar en las distintas legumbres, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre alubias, habas, garbanzos, lentejas, guisantes y altramuces (**Tabla 27**). Así mismo, como se puede ver en la **Tabla 27**, el patrón observado en las muestras objeto de estudio ( $IP6 > IP5 > IP4$ ) es común en las distintas legumbres, tal y como han publicado previamente otros autores. En concreto, [Alonso et al. \(2001\)](#), observaron una tendencia similar en harinas de guisante (*Pisum sativum* L. c.v. Ballet) y de alubias (*Phaseolus vulgaris* L. var. Pinto) y [Morales et al. \(2015a\)](#) confirmaron este patrón en distintas formulaciones de harina de lenteja (*Lens culinaris* Medik.).

**Tabla 27.** Contenido de inositol fosfato individuales (IP4, IP5, IP6) y totales en distintas legumbres (valores expresados en mg/100 g, sss)

		IP4	IP5	IP6	IP Totales	Referencias
<b>Harinas de lenteja</b> <b>objeto de estudio</b>	<b>Rango</b>	27 – 58	68 – 159	148 – 367	261 – 575	Ciudad-Mulero et al., 2020b
<b>Alubias</b> <i>(Phaseolus vulgaris L.)</i>	<b>Rango</b>	0 – 42	19 – 139	470 – 1917	490 – 2.019	Alonso et al., 2001; Arribas et al., 2019b; Burbano et al., 1995; Pedrosa et al., 2015
	<b>Media</b>	<b>22<sup>a</sup></b>	<b>59<sup>a</sup></b>	<b>1.071<sup>a</sup></b>	<b>1.149<sup>a</sup></b>	
<b>Habas</b> <i>(Vicia faba L.)</i>	<b>Rango</b>	13 – 63	75 – 212	345 – 610	453 – 885	Burbano et al., 1995; Goyoaga et al., 2011
	<b>Media</b>	<b>42<sup>a</sup></b>	<b>168<sup>a</sup></b>	<b>483<sup>a</sup></b>	<b>711<sup>a</sup></b>	
<b>Garbanzos</b> <i>(Cicer arietinum L.)</i>	<b>Rango</b>	11 – 57	31 – 144	379 – 401	435 – 602	Burbano et al., 1995; Pedrosa et al., 2012
	<b>Media</b>	<b>34<sup>a</sup></b>	<b>81<sup>a</sup></b>	<b>390<sup>a</sup></b>	<b>511<sup>a</sup></b>	
<b>Lentejas</b> <i>(Lens culinaris L.)</i>	<b>Rango</b>	19 – 117	48 – 281	244 – 763	327 – 1.220	Burbano et al., 1995; Pedrosa et al., 2012; Morales et al., 2015a
	<b>Media</b>	<b>55<sup>a</sup></b>	<b>143<sup>a</sup></b>	<b>444<sup>a</sup></b>	<b>667<sup>a</sup></b>	
<b>Guisantes</b> <i>(Pisum sativum L.)</i>	<b>Rango</b>	2 – 49	39 – 149	350 – 882	51 – 1.108	Alonso et al., 2001; Arribas et al., 2019c; Frias et al., 2011
	<b>Media</b>	<b>30<sup>a</sup></b>	<b>99<sup>a</sup></b>	<b>570<sup>a</sup></b>	<b>711<sup>a</sup></b>	
<b>Altramuces</b> <i>(Lupinus sp.)</i>	<b>Rango</b>	52	60 – 107	314 – 754	314 – 887	Burbano et al., 1995; Pedrosa et al., 2012
	<b>Media</b>	<b>52<sup>a</sup></b>	<b>84<sup>a</sup></b>	<b>595<sup>a</sup></b>	<b>659<sup>a</sup></b>	

Los rangos de variación así como los valores medios se han calculado en base a los datos encontrados en la literatura científica. En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), tras análisis estadístico (ANOVA simple) mediante el test de Duncan.

Al analizar el efecto de la **extrusión** sobre los IP se aprecia que el contenido de IP, tanto individuales como totales, se reduce significativamente ( $p < 0,05$ ) tras la aplicación de este proceso en las formulaciones que contienen levadura nutricional. En general, el contenido de IP4, IP5, IP6 y el contenido total de IP en las muestras extruidas a 140 °C y a 160 °C, descendió a medida que aumentó el porcentaje de levadura presente en las formulaciones, al igual que ocurrió en las muestras no procesadas. Además, se pudo comprobar que el contenido total de IP en las muestras extruidas fue menor que el observado en las correspondientes muestras crudas.

Los resultados del presente trabajo concuerdan con los obtenidos previamente por otros autores. [Alonso et al. \(2001\)](#) observaron una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) del contenido total de IP en semillas de guisante extruidas, en comparación con sus respectivas muestras crudas. Esta

reducción también fue comprobada por [Morales et al. \(2015a\)](#) en harinas de lenteja enriquecidas con fibra extruidas. Asimismo, se ha visto que la aplicación de otros tratamientos tecnológicos en los que se utilizan altas temperaturas y altas presiones, como es el caso de la Descompresión Instantánea Controlada (DIC®), también se asocia con una disminución del contenido total de IP. En este sentido, [Pedrosa et al. \(2012\)](#) analizaron el efecto de esta tecnología en distintas legumbres (altramuz, soja, lenteja, garbanzo) y observaron una reducción muy marcada en el contenido de IP6, lo cual resulta muy interesante puesto que, como ya se ha indicado anteriormente, este compuesto afecta negativamente a la biodisponibilidad de los minerales. Sin embargo, el IP6 también se asocia con efectos positivos para la salud tales como la regulación de los niveles de colesterol en sangre, la prevención de la formación de cálculos renales así como el papel protector frente al cáncer de colon, por lo que resulta interesante conservar ciertas cantidades del mismo después de la aplicación de los tratamientos tecnológicos, como ocurre en el caso de la extrusión.

La reducción del contenido de IP6 depende de la temperatura y de la humedad de la matriz alimentaria ([Rathod & Annapure, 2016](#)). En este sentido [Rathod & Annapure \(2016\)](#) evaluaron el efecto de la temperatura de extrusión sobre la inactivación de factores antinutritivos, como el ácido fítico, en lentejas. Estos autores observaron una reducción del contenido de IP6, que fue superior al 90 %, 97 % y 99 % cuando el proceso se llevó a cabo a 140 °C, 160 °C y 180 °C, respectivamente. En el caso de las formulaciones de harina de lenteja enriquecidas con levadura nutricional, analizadas en el presente trabajo, la reducción de la concentración de IP6 estuvo en el rango de 34,84 % a 48,31 %, en las muestras extruidas a 140 °C y a 160 °C, respectivamente.

Recientemente, [Arribas et al. \(2019b\)](#) evaluaron el efecto de la extrusión sobre distintas formulaciones a base de arroz, algarrobo y alubias, procesadas a 125 °C. Estos autores observaron un descenso significativo ( $p < 0,05$ ) en el contenido de IP6, así como un incremento en las isoformas de menor grado de fosforilación (IP5, IP4). Sin embargo, en el presente estudio, no solo disminuyó el contenido de IP6, sino que también se observó una reducción del 19 – 51 % y del 17 – 43 % en el contenido de IP5 e IP4, respectivamente, después de la extrusión. Estas diferencias en los resultados obtenidos ponen de manifiesto la importancia de la optimización de los parámetros de extrusión para conseguir una reducción de los factores antinutritivos a la vez que se conservan las propiedades nutricionales de los productos alimenticios desarrollados a partir de legumbres extruidas ([Nikmaram et al., 2017](#)).

#### 4.5.5. Estudio del contenido de inhibidores de tripsina

En las formulaciones de harinas de lentejas analizadas en este trabajo, la actividad inhibitoria de tripsina más elevada se correspondió con la formulación cruda CF (4,32 UIT/mg de harina). Esta muestra estaba constituida por un 100 % de harina de lenteja y se observó que, a medida que el porcentaje de levadura nutricional (con 0,61 UIT/mg de levadura nutricional) aumentaba en las formulaciones no procesadas, se producía una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) de la actividad inhibitoria de tripsina, de manera que la muestra CF#4 (con un 16% de levadura nutricional) presentó 3,50 UIT/mg. Por tanto, al comparar la muestra control CF con la muestra CF#4 se observó una reducción del 19 % en la actividad inhibitoria de tripsina. Los valores obtenidos para las muestras crudas, se encuentran dentro del rango de concentración encontrado en la literatura científica para las lentejas (*Lens culinaris* L.) (3,40 – 11,43 UIT/mg) (**Tabla 28**). Por otro lado, si comparamos las lentejas con otras legumbres, vemos que su contenido en inhibidores de tripsina es significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) que el que presentan las alubias (*Phaseolus vulgaris* L.), las habas (*Vicia faba* L.), los garbanzos (*Cicer arietinum* L.) o los guisantes (*Pisum sativum* L.) (**Tabla 28**).

**Tabla 28.** Contenido de inhibidores de tripsina (UIT/mg) en distintas legumbres

		UIT/mg	Referencias
<b>Harinas de lenteja objeto de estudio</b>	<b>Rango</b>	0,18 – 4,67	Ciudad-Mulero et al., 2020b
	<b>Alubias</b> ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)		
	<b>Rango</b>	17,43 – 51,11	Arribas et al., 2019b; Guillamón et al., 2008; Pedrosa et al., 2015
	<b>Media</b>	<b>28,56<sup>c</sup></b>	
<b>Habas</b> ( <i>Vicia faba</i> L.)	<b>Rango</b>	5,31 – 9,60	Guillamón et al., 2008
	<b>Media</b>	<b>8,05<sup>ab</sup></b>	
<b>Garbanzos</b> ( <i>Cicer arietinum</i> L.)	<b>Rango</b>	11,70 – 19,47	Guillamón et al., 2008; Pedrosa et al., 2012; Pedrosa et al., 2016
	<b>Media</b>	<b>14,61<sup>b</sup></b>	
<b>Lentejas</b> ( <i>Lens culinaris</i> L.)	<b>Rango</b>	3,40 – 11,43	Guillamón et al., 2008; Morales et al., 2015a; Pedrosa et al., 2012
	<b>Media</b>	<b>6,64<sup>a</sup></b>	
<b>Guisantes</b> ( <i>Pisum sativum</i> L.)	<b>Rango</b>	1,84 – 12,09	Arribas et al., 2019c; Frias et al., 2011; Guillamón et al., 2008
	<b>Media</b>	<b>8,02<sup>ab</sup></b>	
<b>Altramuces</b> ( <i>Lupinus</i> sp.)	<b>Rango</b>	0,50 – 1,1	Guillamón et al., 2008
	<b>Media</b>	<b>0,83<sup>a</sup></b>	

Los rangos de variación así como los valores medios se han calculado en base a los datos encontrados en la literatura científica. En cada columna, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ), tras análisis estadístico (ANOVA simple) mediante el test de Duncan.

Los inhibidores de proteasas, se consideran compuestos antinutritivos porque impiden que las enzimas pancreáticas tripsina (inhibidores de tripsina) y quimotripsina (inhibidores de quimiotripsina) lleven a cabo su función y, como consecuencia, se reduce la digestión y la absorción de las proteínas. Distintos procesos tecnológicos disponibles en la industria alimentaria, como es la extrusión, se aplican con el fin de lograr una inactivación efectiva de estos compuestos o una reducción de los mismos por debajo del umbral de 1 – 1,5 UIT/mg (límite de seguridad para el consumo humano) (Pedrosa et al., 2012). Además, con la aplicación de estos procesos, entre los que se incluye la **extrusión**, se pueden obtener productos alimenticios a base de legumbres con una calidad nutricional mejorada.

Westfall & Hauge (1948) llevaron a cabo uno de los primeros estudios en los que se evaluó el efecto del tratamiento térmico (cocción a 108 °C durante 15 – 30 min) sobre la inactivación de los inhibidores de tripsina en soja. En años sucesivos, distintos autores han estudiado otros tratamientos térmicos, considerándose la extrusión a altas temperaturas durante tiempos cortos uno de los más eficaces para inactivar los inhibidores de tripsina (Avilés-Gaxiola et al., 2018; Berrios et al., 2013; Edwards et al., 1994; Van der Poel et al., 1992).

Las condiciones de extrusión empleadas en este trabajo (temperaturas de 140 °C y 160 °C) permitieron conseguir una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) del contenido de inhibidores de tripsina de las muestras analizadas. Esta reducción fue de un 93,43 – 95,40 %, en comparación con las correspondientes muestras crudas y el descenso más acusado se observó en las formulaciones con mayor porcentaje de harina de lenteja (muestras CE140 y CE160, con 100 % de lenteja). Puesto que la fuente principal de inhibidores de tripsina en las muestras fue la lenteja, el contenido de estos compuestos se redujo progresivamente a medida que aumentó el contenido de levadura nutricional en las formulaciones.

Los porcentajes de reducción de los inhibidores de tripsina que se observaron tras la extrusión son similares a los que previamente encontraron otros autores. Rathod & Annapure (2016) comprobaron que al someter a extrusión distintos productos a base de lenteja se redujo el contenido de inhibidores de tripsina en un 98 %. Estos mismos autores estudiaron el efecto de la cocción por extrusión sobre distintos antinutrientes en fideos de lenteja y observaron una reducción de la concentración de los inhibidores de tripsina del 89,9 – 97,0 % (Rathod & Annapure, 2017). Así mismo, Morales et al. (2015a) comprobaron que, en el caso de distintas formulaciones a base de harina de lenteja, los inhibidores de tripsina descendían tras la extrusión en un porcentaje superior al 90 %. Por otro lado, Batista et al. (2010) demostraron

que tras el proceso de extrusión a 150 °C, las harinas de alubias (*Phaseolus vulgaris* L.) reducían en un 70 % en el contenido de inhibidores de tripsina (Batista et al., 2010) y Arribas et al. (2019c) indicaron que el efecto de la extrusión sobre estos compuestos depende tanto de la matriz alimentaria como de las condiciones del proceso.

#### 4.5.6. Estudio del contenido de lectinas

Las lectinas son proteínas de unión a carbohidratos de origen no inmune, que interaccionan con las células epiteliales del tracto digestivo. Como consecuencia, estos compuestos pueden producir daños en las microvellosidades del epitelio intestinal de manera que se producen cambios en la permeabilidad intestinal y se dificulta la absorción de nutrientes, pudiendo dar lugar a deficiencias nutricionales. Además, pueden tener efectos tóxicos o desencadenar procesos alérgicos. Debido a su naturaleza proteica, las lectinas se desnaturalizan como consecuencia de la aplicación de calor y, por lo tanto, sus efectos nocivos se evitan al tratar térmicamente los alimentos. En el caso concreto de las legumbres, la eliminación de las lectinas se consigue mediante cocción convencional o mediante la aplicación de tratamientos tecnológicos entre los que se incluye la extrusión. A pesar de que las lectinas se han considerado tradicionalmente como compuestos antinutritivos, en los últimos años estos compuestos han sido objeto de numerosas investigaciones debido a sus beneficios potenciales para la salud, ya que han mostrado propiedades antitumorales, así como capacidad para inhibir la transcriptasa inversa del VIH, lo que permitiría utilizar estos compuestos en la elaboración de fármacos dirigidos a el tratamiento de distintas patologías (Bhutia et al., 2019; Cuadrado et al., 2019; De Lorenzo-Carretero & Guasch Pereira, 2017; Gautam et al., 2020; He et al., 2018).

Existen varios estudios en los que se ha analizado el contenido de lectinas en distintas legumbres. En el caso de las alubias, se ha estudiado el contenido de estos compuestos mediante el ensayo ELISA, obteniéndose valores de 0,60 y 16,50 % PHA (lectina de *Phaseolus vulgaris*), para las variedades Almonga y Curruquilla, respectivamente (Pedrosa et al., 2015). Recientemente, Arribas et al. (2019b) encontraron valores de 0,30 % PHA en alubias. La técnica ELISA también se ha aplicado para conocer la cantidad de lectinas que presentan las lentejas. En este sentido, Morales et al. (2015a) obtuvieron valores de 1,36 % LCA (lectina de *Lens culinaris*), siendo esta cantidad más baja que la que se encontró en las muestras crudas analizadas en el presente trabajo (30,75 – 36,86 % LCA, en CF#3 y CF#4, respectivamente). El ensayo de hemaglutinación es otra de las técnicas empleadas para la determinación de lectinas en legumbres. Con la aplicación de este método se ha visto que la cantidad de lectinas

en guisantes es de 83,33 HU/kg (Arribas et al., 2019c), mientras que en las lentejas los valores son superiores de 167,67 HU/kg (Morales et al., 2015a).

Las formulaciones crudas analizadas en este trabajo presentaron un contenido de lectinas significativamente superior ( $p < 0,05$ ) que sus correspondientes muestras extruidas (a 140 °C y a 160 °C). Los resultados de la técnica de hemaglutinación mostraron que esta reducción del contenido de lectinas, que tuvo lugar como consecuencia de someter las muestras al proceso de **extrusión**, fue del 95,0 – 99,6 %, lo que indica que este tratamiento tecnológico es altamente efectivo en cuanto a la inactivación de las lectinas en matrices alimentarias a base de legumbres. Además, los resultados obtenidos del ensayo ELISA confirman que estos compuestos tradicionalmente considerados como antinutrientes se eliminan por completo tras la extrusión.

Los resultados de nuestro estudio concuerdan con los obtenidos por distintos autores recogidos en la literatura científica. Los científicos Patterson et al. (2017) concluyeron que la extrusión es un tratamiento eficaz para eliminar la capacidad de hemaglutinación de las lectinas en legumbres, como guisantes o alubias. Además, en distintas formulaciones elaboradas con legumbres se observó que la extrusión daba lugar a una reducción del contenido de lectinas de entre el 50 % y el 97 % (Arribas et al., 2019c; Morales et al., 2015a).

Por último, si comparamos el contenido de lectinas que presentan las distintas legumbres, se puede observar que las lentejas son las más ricas en estos compuestos mientras que los garbanzos y los altramuces contienen la menor cantidad de lectinas, pudiendo incluso estar exentos de estos compuestos antinutritivos (**Tabla 29**).

**Tabla 29.** Contenido de lectinas en distintas legumbres (valores expresados en HU/kg)

		UH/kg	Referencias
<b>Harinas de lenteja</b> <b>objeto de estudio</b>	<b>Rango</b>	2,57 – 2.500	Ciudad-Mulero et al., 2020b
<b>Alubias</b> <i>(Phaseolus vulgaris L.)</i>	<b>Rango</b>	0,32 – 88,59	Arribas et al., 2019b; Muzquiz et al., 2012; Shi et al., 2018
	<b>Media</b>	<b>45,32</b>	
<b>Habas</b> <i>(Vicia faba L.)</i>	<b>Rango</b>	5,52 – 5,55	Shi et al., 2018
	<b>Media</b>	<b>5,54</b>	
<b>Garbanzos</b> <i>(Cicer arietinum L.)</i>	<b>Rango</b>	nd – 2,74	Pedrosa et al., 2012; Pedrosa et al., 2016; Shi et al., 2018
	<b>Media</b>	<b>1,37</b>	
<b>Lentejas</b> <i>(Lens culinaris L.)</i>	<b>Rango</b>	10,91 - 500	Morales et al., 2015a; Muzquiz et al., 2012; Pedrosa et al., 2012; Shi et al., 2018
	<b>Media</b>	<b>237,93</b>	
<b>Guisantes</b> <i>(Pisum sativum L.)</i>	<b>Rango</b>	0,24 – 83,33	Arribas et al., 2019c; Muzquiz et al., 2018; Shi et al., 2018
	<b>Media</b>	<b>19,08</b>	
<b>Altramuces</b> <i>(Lupinus sp.)</i>	<b>Rango</b>	nd	Pedrosa et al., 2012
	<b>Media</b>	<b>Nd</b>	

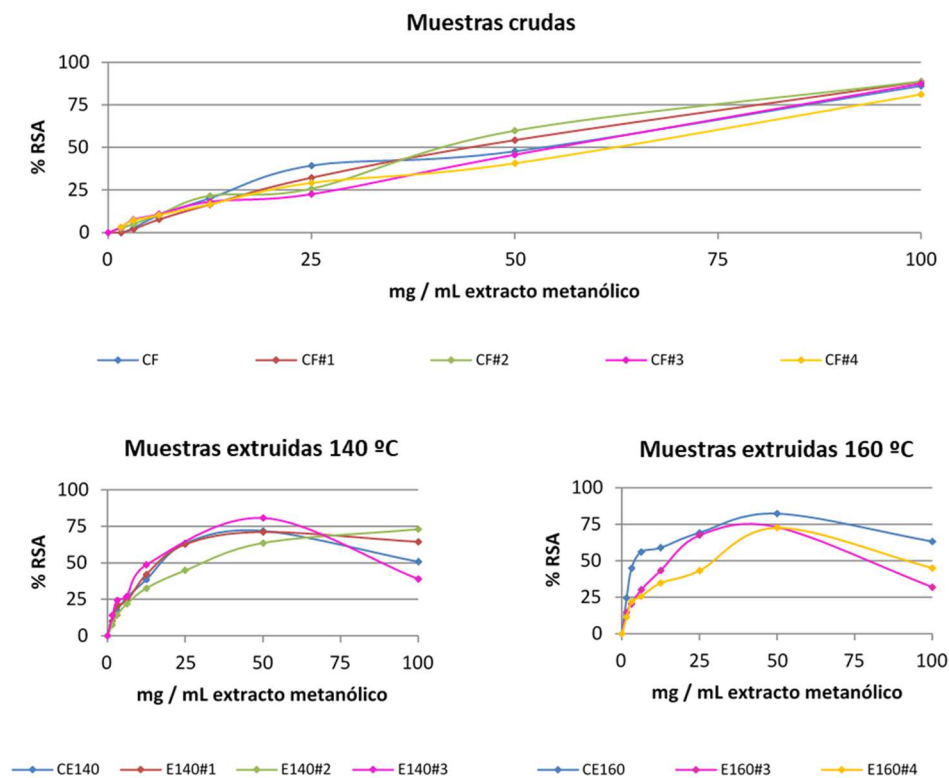
#### 4.5.7. Evaluación de la actividad antioxidante

Tal y como ha quedado de manifiesto a lo largo de la discusión integradora, las condiciones de extrusión repercuten en gran medida sobre el contenido de compuestos bioactivos presentes en las legumbres, de modo que es de esperar que las condiciones a las que se lleva a cabo el proceso de extrusión influyan enormemente en el impacto que este tratamiento tecnológico tiene sobre la actividad antioxidante de las distintas matrices alimentarias.

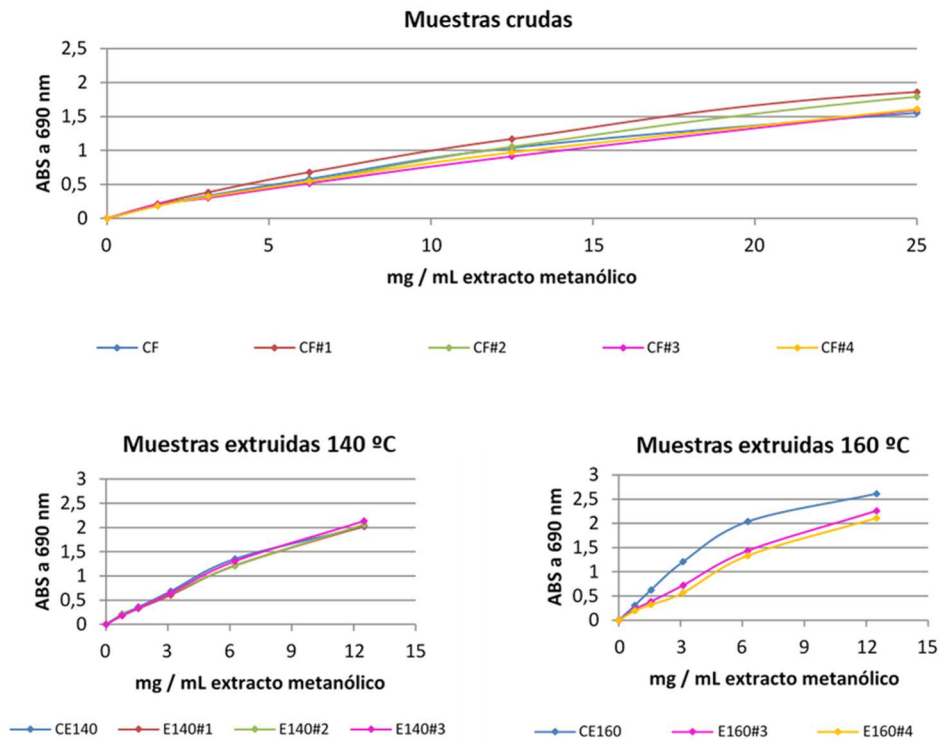
Como se ha indicado previamente, la actividad antioxidante de las harinas de lenteja objeto de estudio se evaluó mediante la aplicación de tres ensayos *in vitro* distintos con el fin de analizar tanto la capacidad antioxidante total (método de DPPH y poder reductor), como la capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica (método de la inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno), mostrándose las correspondientes cinéticas en las **Figuras 39, 40 y 41**.

Tal y como se muestra en las **Figuras 39, 40 y 41**, se observó que los valores de EC<sub>50</sub> obtenidos mediante el método DPPH para las muestras crudas y extruidas fueron superiores a los obtenidos mediante la aplicación de los otros ensayos de actividad antioxidante evaluados.

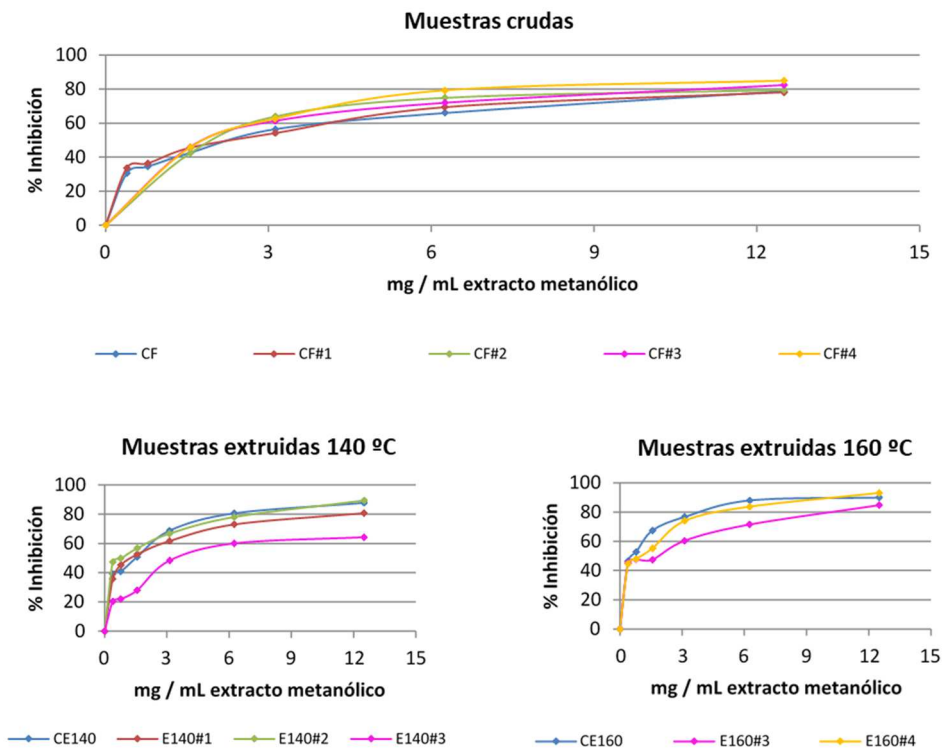
Todas las muestras extruidas con la excepción de la muestra E140#3, en el ensayo de la inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno, mostraron valores de  $EC_{50}$  significativamente inferiores ( $p < 0,05$ ) (mejores propiedades antioxidantes) que sus correspondientes muestras crudas. En todos los casos, las formulaciones extruidas a 160 °C (CE160, E160#3 y E160#4) presentaron menores valores de  $EC_{50}$ , poniendo de manifiesto la importancia que los parámetros de extrusión tienen sobre las propiedades antioxidantes de las distintas matrices alimentarias estudiadas.



**Figura 39.** Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de actividad antioxidante DPPH, realizado en las muestras de harina de lenteja objeto de estudio



**Figura 40.** Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de actividad antioxidante poder reductor, realizado en las muestras de harina de lenteja objeto de estudio



**Figura 41.** Cinéticas obtenidas a partir del ensayo de inhibición de la decoloración del  $\beta$ -caroteno, realizado en las muestras de harina de lenteja objeto de estudio

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la actividad antioxidante de las distintas formulaciones analizadas a base de harina de lenteja enriquecidas con levadura nutricional aumentó como consecuencia de la extrusión. Aunque con la aplicación de este proceso disminuyó el contenido de compuestos fenólicos de las muestras, esta reducción no siempre se asocia con una pérdida de capacidad antioxidante puesto que la actividad antioxidante de una matriz alimentaria depende tanto de la cantidad como del tipo de compuestos bioactivos presentes en la misma (Leonard et al., 2020). En este sentido, Morales et al. (2015b) indicaron que la capacidad antioxidante total de distintas harinas de lenteja se puede incrementar después del proceso de extrusión debido a un aumento en la biodisponibilidad fenólica, ya que como consecuencia de este tratamiento tecnológico se puede producir la liberación de los fenoles que en la matriz original están ligados a la fibra. En concreto, los arabinosilanos que forman parte de la fracción soluble de la fibra, se caracterizan porque su estructura está asociada con frecuencia a moléculas de ácido ferúlico (Ciudad-Mulero et al., 2019; Saura-Calixto, 2011) que se liberarían tras el proceso de extrusión, quedando disponibles para ejercer sus efectos antioxidantes. Otros autores han atribuido el incremento de actividad antioxidante producido tras la extrusión a la formación de pigmentos con propiedades antioxidantes resultantes de la reacción de Maillard (Sharma et al., 2012).

Sin embargo, en la literatura científica también se encuentran datos que indican que la actividad antioxidante de distintas matrices alimentarias se ve negativamente afectada por la extrusión. En esta línea, Altan et al. (2009) observaron que la extrusión conllevaba una reducción tanto del contenido fenólico total como de la actividad antioxidante de productos a base de cebada. Recientemente, Arribas et al. (2019c) evaluaron la actividad antioxidante, mediante el método ORAC, de distintas formulaciones a base de arroz, algarrobo y guisante, confirmaron que la composición del producto que se somete a extrusión influye en el efecto que el procesamiento tiene sobre las propiedades antioxidantes del mismo. En este sentido, observaron que las formulaciones extruidas con 20 % de guisante mostraron un aumento de la actividad antioxidante de aproximadamente un 16 %, mientras que las mezclas que contenían un 40 % de guisante, mostraron una disminución de la actividad antioxidante de 2 – 7 %, en comparación con sus correspondientes muestras no procesadas.

**5. ESTUDIO DE PRODUCTOS ELABORADOS A BASE DE  
HARINAS DE CEREALES Y DE HARINAS DE LEGUMBRES:  
PANES Y SNACKS**

En la sociedad actual los consumidores tienden a buscar productos alimenticios novedosos con un adecuado perfil nutricional, agradables desde el punto de vista organoléptico y con propiedades funcionales añadidas que les permita mantener la salud e incluso optimizarla. Siguiendo esta tendencia, la industria alimentaria ha desarrollado nuevos productos alimenticios a base de harinas de cereales y legumbres, con el fin de satisfacer las preferencias actuales de los consumidores y cubrir la demanda para todos los sectores de población (población infantil, adolescentes, adultos y personas mayores) en cuanto a productos con un perfil nutricional más saludable.

La principal aplicación de la harina de trigo por parte de la industria alimentaria es la elaboración de pan y pastas. La norma de calidad para el pan está recogida en el [Real Decreto 308/2019](#), en el cual se define **pan**, sin otro calificativo, como el producto resultante de la cocción de una masa obtenida por la mezcla de harina y agua, con o sin adición de sal, fermentada con la ayuda de levadura de panificación o masa madre. Por su parte, se considera **pan integral** aquél que está elaborado con harina integral o de grano entero, de acuerdo con lo establecido en la legislación vigente ([Real Decreto 677/2016](#)), distinguiéndose los siguientes tipos:

- *Pan 100 % integral o pan integral*: elaborado con harina exclusivamente integral.
- *Pan elaborado con harina integral X %*: pan en cuya elaboración se ha utilizado una harina que no sea exclusivamente integral (“X” es el porcentaje de harina integral utilizada. Dicho porcentaje se debe calcular sobre la harina total utilizada en la elaboración).

En los últimos años ha tenido lugar un cambio en los hábitos de consumo de la población y como respuesta a estas nuevas tendencias de consumo la industria de la panadería ha desarrollado panes con cereales distintos al trigo, lo que supone un desafío a la hora de conseguir productos con una adecuada calidad sensorial. El [Real Decreto 308/2019](#) considera que el **pan elaborado con harinas de cereales** es aquél que está elaborado con harina de cereales distintos al trigo. De este modo se pueden distinguir:

- *Pan elaborado con harina de otro cereal*: es el pan elaborado, exclusivamente, con harina de un cereal distinto al trigo.
- *Pan elaborado con dos o más harinas de cereales*: es el pan elaborado con dos o más harinas de cereales, entre las que puede encontrarse el trigo.

Por otro lado, se considera **pan especial** aquél que se diferencia del pan común por su composición o por su elaboración. Dentro de los panes especiales, el pan multicereal es aquél elaborado con tres o más harinas diferentes, de las cuales dos al menos procederán de cereales ([Real Decreto 308/2019](#)).

La industria alimentaria también emplea las harinas de cereales en la elaboración de otros productos alimenticios, entre los que se incluyen:

- **Pastas alimenticias:** se obtienen por desecación de una masa no fermentada elaborada con sémolas o harina procedente de trigo duro, trigo semiduro o trigo blando o sus mezclas y agua potable. Se distinguen las pastas alimenticias simples (elaborada únicamente con sémolas o harina de trigo), pastas alimenticias compuestas (pueden incorporar gluten, soja, huevos, leche, hortalizas, verduras, leguminosas, etc.), pastas alimenticias rellenas (contienen en su interior un preparado elaborado con carne de animales de abasto, grasas animales y vegetales, productos de la pesca, pan rallado, verduras, hortalizas, huevos, etc.) y pastas alimenticias frescas (no han sufrido proceso de desecación) ([Decreto 2181/1975](#)).
- **Productos de bollería:** están elaborados básicamente con masa de harinas fermentada y han sido sometidos a un tratamiento térmico adecuado ([Real Decreto 496/2010](#)).
- **Productos de pastelería y repostería:** están elaborados básicamente con masa de harina, fermentada o no, rellena o no, cuyos ingredientes principales son harinas, aceites o grasas, agua, con o sin levadura. En este grupo de productos alimenticios se incluyen las masas de hojaldre, las masas azucaradas, las masas escaldadas, las masas batidas y las masas de repostería ([Real Decreto 496/2010](#)).
- **Galletas:** están elaboradas, fundamentalmente por una mezcla de harina, grasas comestibles y agua, adicionada o no de azúcares y otros productos alimenticios o alimentarios (aditivos, aromas, condimentos, especias, etc.), sometida a proceso de amasado y posterior tratamiento térmico, dando lugar a un producto de presentación muy variada, caracterizado por su bajo contenido en agua ([Real Decreto 1124/1982](#)).
- **Masas fritas:** son preparados alimenticios de consumo inmediato fabricados por una mezcla de agua potable, harina y sal, adicionados o no de gasificantes autorizados, fritos en aceite vegetal comestible autorizado para estos fines ([Real Decreto 2507/1983](#)).
- **Productos de aperitivo:** los productos de aperitivo fritos (snacks y similares) son productos alimenticios de forma variable, de relativa baja densidad y pequeño peso por

unidad, manufacturados fundamentalmente a partir de almidón procedente de productos tales como patatas, maíz, arroz, trigo y otros vegetales, y otros ingredientes alimenticios. Este tipo de productos se elaboran por extrusión, troquelado u otras operaciones y pueden freírse en aceite o grasa comestible. Por otro lado, los productos de aperitivo secados u horneados (palitos, “prezzels”, lazos y similares) son las masas de harina, agua y otros ingredientes alimenticios que se moldean en formas características, secados u horneados ([Real Decreto 126/1989](#)).

En el caso de las legumbres, tal y como se ha indicado previamente en la introducción de la presente Tesis Doctoral, los derivados de leguminosas se definen como los productos obtenidos por la elaboración de legumbres secas, aptos para la alimentación, o destinados a servir de materia prima para la fabricación de productos alimenticios. Dentro de los derivados de leguminosas, se encuentran las **harinas de legumbres**, que se definen como el producto resultante de la molienda de las legumbres secas, despojadas de la parte cortical ([Decreto 2484/1967](#)). Las harinas de legumbres presentan interesantes propiedades tecnológicas y funcionales que permiten su utilización en la elaboración de distintos productos alimenticios, por lo que cada vez es más frecuente su empleo por parte de la industria alimentaria. Se caracterizan por ser ingredientes muy versátiles que pueden utilizarse en la elaboración de una amplia gama de productos, entre los que se incluyen aperitivos tipo “snacks”, cremas, salsas o productos de repostería ([De Lorenzo Carretero & Guasch Pereira, 2017](#)).

## 5.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para el estudio de los aspectos relativos a la calidad nutricional y sensorial de distintos productos alimenticios elaborados a base de harinas de cereales y legumbres se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar la composición nutricional de distintos panes elaborados a base de harinas de cereales.
2. Evaluar distintos atributos sensoriales en panes elaborados a base de harinas de cereales, como parámetros indicadores de su calidad sensorial.
3. Evaluar la aceptación por parte de los consumidores de snacks elaborados a base de harinas de legumbres.

## 5.2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.2.1. MATERIAL Y MÉTODOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE PANES

#### 5.2.1.1. Materiales: panes

En el presente trabajo se han analizado cinco tipos de panes (**Tabla 30**), elaborados a partir de harina blanca de trigo (*Triticum aestivum* L.) junto con otras harinas (harinas especiales), como harina de avena, centeno, harina integral de trigo, harina integral de centeno de Baviera y mezcla de otros ingredientes como semillas sésamo, girasol, linaza y algarroba.

**Tabla 30.** Ingredientes y condiciones de fermentación para los distintos panes analizados

Tipo de pan	Código	Harina de trigo blanca (g)	Harina especial (g)	Condiciones de fermentación
Multicereal	MB	850	150	24 horas a 4 °C
Integral de centeno de Baviera	BB	500	500	24 horas a 4 °C
Integral de trigo	LB	500	500	24 horas a 4 °C
Centeno	RB	300	700	60 minutos a temperatura ambiente
Avena	OB	800	200	60 minutos a temperatura ambiente

Todas las muestras de pan se elaboraron utilizando la misma cantidad de agua (600 mL) y de masa madre (200 g) y las condiciones de horneado fueron las mismas en todos los casos. Sin embargo, las cantidades de las harinas especiales empleadas en cada tipo de pan fueron variables, como se muestra en la **Tabla 30**. El proceso de panificación se llevó a cabo en la panadería Pão de Gimonde, en Gimonde (Bragança, Portugal). Las distintas harinas se mezclaron con el agua y la masa madre y las mezclas obtenidas se amasaron durante 20 minutos utilizando una batidora de panificación industrial de espiral (Mondial Forni, Verona, Italia) (**Figura 42**). El tiempo de fermentación en cada tipo de pan está especificado en la **Tabla 30**. A continuación, todas las muestras fueron horneadas en el mismo horno de panadería (Ramalhos, Valongo do Vouga, Portugal) durante 30 minutos, a temperatura de 250 °C, se dejaron enfriar y posteriormente se empaquetaron en bolsas de plástico microperforadas, en las que se llevaron al laboratorio de análisis. Cada lote constaba de 20 panes y para el análisis de las muestras se seleccionaron 3 panes al azar (uno de cada lote de los distintos tipos de pan).



**Figura 42.** Amasado industrial (a) y manual (b) de los panes (Fotos: Márcio Caroch)



**Figura 43.** Aspecto de uno de los panes tras el horneado (Fotos: Márcio Caroch)

### 5.2.1.2. Metodología analítica de la caracterización de panes

Para el estudio de los panes elaborados a base de harinas de cereales se realizó el análisis de la composición nutricional de los mismos, así como el estudio de distintos atributos sensoriales que determinan la calidad de este tipo de productos. Para ello se llevaron a cabo las determinaciones que se indican a continuación.

#### 5.2.1.2.1. Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad se analizó siguiendo el método 925.09 de AOAC. Para ello se colocaron 2 g de muestra en una cápsula de metal tapada, previamente desecada y pesada. La cápsula se colocó en una estufa (Serie científica, Contherm, Nueva Zelanda) a 100 ° C durante 5 h. Una vez transcurrido ese tiempo, la cápsula se colocó en un desecador y, una vez fría, se pesó. El contenido de humedad se expresó en g/100 g y se calculó aplicando la siguiente ecuación (**Ecuación 11**):

$$\text{Humedad (g/100 g)} = \frac{P' - P''}{P' - P} \times 100 \quad \text{Ecuación [11]}$$

Donde:

- P = peso (g) de la cápsula vacía
- P' = peso (g) de la cápsula + muestra
- P'' = peso (g) de la cápsula + muestra desecada

#### 5.2.1.2.2. Determinación del contenido de carbohidratos disponibles totales

Los carbohidratos disponibles totales se determinaron siguiendo el método de la antrona (Osborne & Voogt, 1986). Se trata de un método colorimétrico, en el que el reactivo de la antrona (9,10-dihidro-9-oxoantraceno) da lugar a una coloración verdosa al reaccionar con los productos resultantes de la hidrólisis de carbohidratos, en presencia de ácido sulfúrico y calor. Para llevar a cabo este método se pesaron 0,3 g de cada muestra y se colocaron en un matraz de 100 mL. Se añadieron 13 mL de ácido perclórico (52 %) y 10 mL de agua destilada. Los matraces se dejaron en reposo y oscuridad toda la noche y al día siguiente la solución se filtró a través de un filtro de pliegues. El filtrado se recogió sobre un matraz aforado de 100 mL que se enrasó con agua destilada. Para cada muestra, se prepararon 3 tubos, identificados de la siguiente manera: “muestra” (1 mL de la solución previamente preparada), “blanco” (1 mL de

agua destilada) y “patrón” (1 mL de solución patrón de glucosa 0,1 %). En cada tubo se añadieron 5 mL de la solución de antrona (0,01 %) y se cerraron con parafilm. Se preparó una curva patrón de D-glucosa (10 – 100 µg/mL) para poder comparar los resultados de las muestras y, todos los tubos, con el reactivo de la antrona, se colocaron en un baño de agua a 100 °C durante 12 minutos. Transcurrido este tiempo los tubos se sacaron rápidamente del baño y se enfriaron en hielo. Finalmente, se midió la absorbancia de los tubos (“blanco”, “patrón” y “muestra”, respectivamente) a 630 nm, empleando un espectrofotómetro EZ210 Perkin Elmer (Waltham, Massachusetts, EE. UU.). Los resultados se expresaron en g de glucosa/100 g de peso fresco.

#### **5.2.1.2.3. Determinación del contenido de azúcares solubles**

Los azúcares solubles se determinaron mediante HPLC acoplado a un detector de índice de refracción. Se siguió el procedimiento previamente descrito por [Carocho et al. \(2015\)](#), utilizando melecitosa como estándar interno. El equipo contaba con una bomba y un desgasificador (Knauer, Smartline system 1000, Berlín, Alemania) y un inyector automático (AS-2057 Jasco, Easton, MD, EE. UU.), acoplado a un detector de índice de refracción (Knauer). Los azúcares se identificaron comparando sus picos con los tiempos de retención de los estándares comerciales, y los datos se analizaron con el software Clarity 2.4 (DataApex, Praga, República Checa).

#### **5.2.1.2.4. Determinación del contenido de fibra: insoluble, soluble y total**

El contenido de fibra de las muestras de pan analizadas se determinó siguiendo el método enzimático-gravimétrico de la AOAC (Ref. 993.19 y 991.42), cuantificándose la fibra soluble, insoluble y total ([Latimer, 2012](#)). Este procedimiento (**Esquema 1**) ha sido anteriormente descrito en el apartado 3.3.1. de la presente Tesis Doctoral. Los resultados se expresaron en g/100 g de peso fresco.

#### **5.2.1.2.5. Determinación del contenido de proteínas**

La determinación del contenido de proteínas se realizó mediante el método Kjeldahl. Este ensayo permite cuantificar el nitrógeno presente en la muestra y relacionarlo directamente con la cantidad de proteínas, utilizando un factor de conversión de 5,8 (método AOAC 920.87). Para llevar a cabo este análisis se pesaron 0,5 g de cada muestra y se colocaron en un tubo de digestión junto con 10 g (aproximadamente) de mezcla catalizadora (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/CuSO<sub>4</sub>). A continuación se adicionaron 25 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y se procedió a la digestión de la

materia orgánica presente en las muestras. Durante esta digestión (en medio ácido y en caliente) tuvo lugar la destrucción de toda la materia orgánica, de manera que el nitrógeno de la muestra quedó retenido en forma de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . En una segunda etapa, se llevó a cabo la destilación en corriente de vapor de agua (destilador Kjeldahl, modelo Pro-Nitro-A, JP Selecta, Barcelona). Para ello se adicionó NaOH en los tubos donde se había realizado la digestión, de forma que se liberó  $\text{NH}_3$ . Este  $\text{NH}_3$  con el nitrógeno proteico se recogió sobre un matraz que contenía 25 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  N/10 y, a continuación, se realizó una valoración por retroceso con NaOH N/10 en presencia del indicador rojo de metilo. Los resultados se expresaron en g/100 g de peso fresco.

#### 5.2.1.2.6. Determinación del contenido de grasa total

Para la determinación de la grasa total se empleó un equipo Soxhlet y se siguió el método AOAC 983.283. Se utilizaron 3 g de cada muestra y se empleó éter de petróleo como medio de extracción. La muestra se colocó en un cartucho de papel de filtro y se cubrió con algodón. Estos cartuchos se colocaron en el Soxhlet y se añadió éter de petróleo. Se aplicó calor y después de 30 ciclos se retiró el matraz de fondo redondo que contenía la grasa extraída y el éter de petróleo. El éter se evaporó utilizando un rotavapor (Büchi, Flawil, Suiza) y cuando el matraz estuvo a temperatura ambiente se pesó para calcular el contenido de grasa (**Ecuación 12**). Los resultados se expresaron en g/100 g de peso fresco.

$$\text{Grasa (g/100 g)} = \frac{P' - P''}{P} \times 100 \quad \text{Ecuación [12]}$$

Donde:

- P = peso (g) de la muestra
- P' = peso (g) del matraz con la grasa
- P'' = peso (g) del matraz

#### 5.2.1.2.7. Determinación del contenido de ácidos grasos individuales: perfil lipídico

Los ácidos grasos individuales se determinaron por cromatografía de gases (CG) acoplada a un detector de ionización de llama (DIF). La grasa de las muestras se extrajo con éter de petróleo mediante el método Soxhlet y a partir del extracto etéreo obtenido se llevó a cabo la

determinación de los ácidos grasos individuales. Para ello, los ácidos grasos presentes en el extracto se metilaron con 5 mL de una solución de metanol:ácido sulfúrico:tolueno (2:1:1, v:v:v) durante toda la noche, en un baño a 50 °C y 160 rpm. Posteriormente se añadieron 3 mL de agua desionizada para conseguir la separación de las fases. Los ácidos grasos presentes en la fase lipídica se recuperaron adicionando 3 mL de éter dietílico y posterior agitación en vórtex. Los ésteres metílicos de ácidos grasos se recuperaron en viales con sulfato de sodio anhidro (para eliminar el agua) y la muestra se recuperó en viales de teflón previa filtración a través de un filtro Milipore de nylon de 0,2 micras. Posteriormente se llevó a cabo la determinación de los ácidos grasos individuales mediante cromatografía de gases (CG) acoplada a un detector de ionización de llama (DIF) (Barros et al., 2007) y la identificación de los ácidos grasos individuales se logró comparando los tiempos de retención de los ésteres metílicos de ácidos grasos con los estándares comerciales, FAME Mix C4-C24 (estándar 4788-U, Sigma-Aldrich). Para el análisis de datos se empleó el software Clarity 2.4 (DataApex, Praga, República Checa).

**Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:**

- Cromatógrafo de gases: modelo DANI (DANI 1000, Contone, Suiza) con split / splitless y un DIF
- Columna: Zebron-Kame (30 m × 0.25 mm i.d., 0.20 µm) (Macherey-Nagel, Düren, Alemania)
- Programa de temperatura de horno: temperatura inicial de la columna de 100 °C, durante 2 minutos, incremento de 10 °C/min en pista a 140 °C y posterior aumento 3 °C/min hasta 190 °C y 30 °C/min hasta 260 °C (esta temperatura se mantuvo durante 2 min)
- Gas portador (hidrógeno): caudal de 1,1 mL/min, medido a 100 °C; la inyección de Split (1:50) se llevó a cabo a 250 °C
- Volumen de inyección: 1µL

**5.2.1.2.8. Determinación del contenido de cenizas y minerales**

El contenido de cenizas se calculó según el método 930.05 de la AOAC (Latimer, 2012) y el análisis de elementos minerales (macroelementos: Ca, Mg, Na, K; y microelementos: Fe, Cu, Mn, Zn) se realizó mediante la técnica de Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA). Estos procedimientos se han descrito previamente en el apartado 3.3.5. de la presente Tesis Doctoral.

#### 5.2.1.2.9. Determinación del valor calórico

El valor calórico (kcal/100 g) de las muestras de pan analizadas se calculó aplicando la siguiente ecuación (**Ecuación 13**) (Reglamento (UE) N° 1169/2011):

$$\text{Valor calórico } \left( \frac{\text{kcal}}{100\text{g}} \right) = 4 \times (\text{g de proteínas} + \text{g de carbohidratos disponibles}) + 2 \times \text{gramos de fibra} + 9 \times \text{gramos de grasa} \quad \text{Ecuación [13]}$$

#### 5.2.1.2.10. Análisis de la textura

El perfil de textura de los distintos panes analizados se determinó utilizando un analizador de textura TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Vienna Court, Godalming, Reino Unido) con una celda de carga de 30 kg. La sonda empleada fue un cilindro de aluminio P/45 45, que permitió la realización de un análisis de perfil de textura, que es una prueba típica que simula la masticación de la boca humana al realizar dos compresiones de la matriz. Las velocidades previas y posteriores a la prueba se establecieron a 3 mm/s y el modo objetivo se ajustó a una tensión del 25 % que comenzó a 50 g de fuerza. Los resultados se combinaron y procesaron a través de una macro informática para alcanzar las diversas dimensiones de la textura (dureza, adhesividad, elasticidad, cohesión, masticabilidad y resistencia). Los resultados fueron analizados a través del programa Exponent.

#### 5.2.1.2.11. Análisis del color

El color se analizó con un colorímetro portátil CR400 de Konica Minolta (Chiyoda, Toko, Japón), utilizando el iluminante D65, un estándar de la Comisión Internacional de Iluminación (CIE) que representa la luz del mediodía en Europa. Se utilizó el espacio de color CIE de 1976, en el que los parámetros analizados fueron L\* (luminosidad), a\* (rojo-verde) y b\* (azul-amarillo), con un ángulo de observación de 10° y 8 mm de apertura. La variación en la diferencia de color total ( $\Delta E^*$ ) también se calculó entre las muestras de pan siguiendo la **Ecuación 14**:

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2} \quad \text{Ecuación [14]}$$

#### 5.2.1.2.12. Análisis estadístico

Con el fin de realizar una interpretación objetiva de los resultados obtenidos se llevó a cabo un estudio estadístico empleando el programa Statgraphics Plus 5.1. Los datos se analizaron

estadísticamente con un nivel de confianza del 95 %. Se llevó a cabo un **análisis de la varianza (ANOVA)** y se aplicó el test de Tukey. El nivel de significación estadística se fijó en  $p < 0,05$ .

## 5.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS DEL ANÁLISIS SENSORIAL DE SNACKS DE LEGUMBRES

### 5.2.2.1. Materiales: snacks

En el presente estudio se analizaron un total de 6 nuevas formulaciones de snacks (**Figura 44** y **Figura 45**) elaborados a base de harina de legumbres (lenteja y garbanzo) comercializados en la actualidad en el mercado español. Las características de las formulaciones están recogidas en las **Tablas 31** y **32**.



**Figura 44.** Formulaciones de snacks de lenteja

(LT: snack de lenteja con tomate y albahaca; LE: snack de lenteja con saborizante cremoso de eneldo; LS: snack de lenteja con sal marina)



**Figura 45.** Formulaciones de snacks de garbanzo

(GT: snack de garbanzo con tomate y albahaca; GE: snack de garbanzo con saborizante cremoso de eneldo; GS: snack de garbanzo con sal marina)

**Tabla 31.** Ingredientes de las formulaciones de snacks de legumbres

Ingredientes	Tipo de snack y código de la muestra					
	Snacks de lenteja			Snacks de garbanzo		
	LS (con sal marina)	LT (con tomate y albahaca)	LE (con saborizante cremoso de eneldo)	GS (con sal marina)	GT (con tomate y albahaca)	GE (con saborizante cremoso de eneldo)
Harina legumbre	L	L	L	G	G	G
Almidón patata	x	x	x	x	x	x
Aceite colza	x	x	x	x	x	x
Saborizante		T	C		T	C
Arroz				x	x	x
Harina arroz		x	x		x	x
Harina maíz				x	x	x
Azúcar		x			x	
Jarabe seco glucosa			x			x
Dextrosa		x	x		x	x
Sal	M	x	x	M	x	x
Tomate polvo		x			x	
Extracto levadura polvo		x	x		x	x
Cebolla polvo		x	x		x	x
Hierbas		A	E		A	E
Ajo polvo		x			x	
Ácido cítrico		x	x		x	x
Colorante natural		P			P	
Saborizantes naturales		x	x		x	x
Espicias		x			x	

L: harina de lenteja (48%); G: harina de garbanzo (45%); M: sal marina; P: pimentón; T: tomate y albahaca (2,5%);

C: saborizante cremoso de eneldo (2,5%); A: incluido albahaca; E: incluido eneldo

### 5.2.2.2. Participantes

El estudio utilizó una muestra no probabilística compuesta por 81 consumidores españoles que fueron reclutados de la Universidad Complutense en el área de la Comunidad de Madrid, España (Hough et al., 2006). La muestra estuvo compuesta por 42 mujeres y 39 hombres de entre 20 y 65 años (Tabla 32). Los criterios de inclusión en la muestra era ser consumidor de snacks en España. Por su parte, los criterios de exclusión que se tuvieron en cuenta fueron las alergias a alguno de los ingredientes de las formulaciones de snacks.

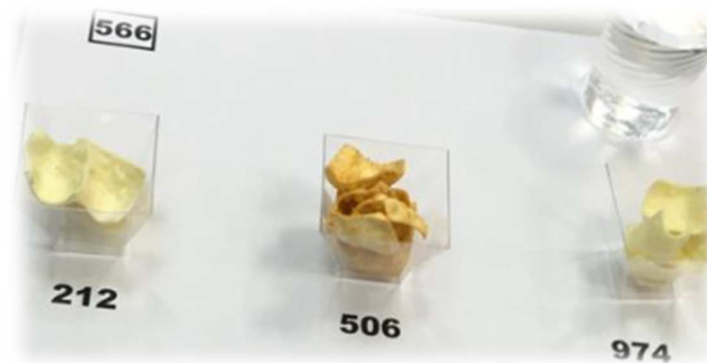
Tabla 32. Distribución por edad y sexo de los participantes (N = 81)

Característica	Distribución	Total de participantes
Sexo	Masculino	39
	Femenino	42
Edad (años)	20 – 65	81

### 5.2.2.3. Metodología del estudio de consumidores

Para llevar a cabo el estudio de aceptación de los snacks de legumbres, se contactó con los consumidores en el campus universitario de la Universidad Complutense de Madrid y se les preguntó acerca de su disposición para participar en el estudio. Una vez que aceptaron participar voluntariamente, se les recibió en el laboratorio del Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, donde un investigador les acompañó para que, en privado, firmaran un documento de consentimiento informado previo a la realización de la encuesta. Los datos sobre los consumidores relativos al sexo, edad, nacionalidad y frecuencia de consumo de snacks se registraron previamente a la realización de la prueba. Los consumidores recibieron información acerca del procedimiento y se consideraron criterios de exclusión para su participación en el estudio las alergias a alguno de los ingredientes de los snacks. El panel estuvo compuesto por 81 consumidores que cataron los seis tipos de snacks de legumbres y realizaron la **prueba de aceptación hedónica** (UNE-EN ISO 11136:2014). En la sala en la que se llevó a cabo el procedimiento se cumplieron los requisitos establecidos en la normativa vigente de buena iluminación, así como el aislamiento del ruido, olores y cumpliendo con las buenas prácticas de laboratorio de análisis sensorial de los alimentos (AENOR, 2010; Carpenter et al., 2009). Todas las muestras de snacks de legumbres se prepararon antes de cada prueba y para cada consumidor se asignó al azar el orden

de presentación de los productos (**Figura 46**) con el fin de minimizar el sesgo de aprendizaje. La prueba se realizó a ciegas con un total de seis muestras codificadas formadas por una cantidad fija de snacks de legumbres. Cada consumidor calificó las muestras utilizando una escala hedónica de 9 puntos, desde “me gusta muchísimo” hasta “me disgusta muchísimo” ([Peryam & Pilgrim, 1975](#)) (**Figura 47**). Se pidió a los consumidores que se enjuagaran con agua entre las muestras y no se proporcionó información sobre los productos o el experimento antes de la prueba, cumpliendo con las buenas prácticas del análisis sensorial de los alimentos.



**Figura 46.** Ejemplo de un puesto de cata de los snacks analizados

La **escala hedónica de 9 puntos** es la escala más utilizada para evaluar la preferencia de los consumidores así como la aceptabilidad de los productos alimenticios. Se trata de una escala bipolar equilibrada cuyo centro representa el punto neutral y que cuenta con cuatro categorías positivas y cuatro negativas a cada lado del mismo ([Peryam & Pilgrim, 1975](#)). Las categorías están ordenadas y representan diversos grados de aceptación. Los descriptores que se emplean en esta escala están destinados a ayudar a los sujetos a responder de acuerdo con sus preferencias y, además ayudan a los investigadores a interpretar el valor medio de las respuestas en términos de grado de agrado/disgusto mostrado frente a un producto concreto. En la práctica, las respuestas de la escala se tratan como valores continuos de manera que se puede aplicar un análisis estadístico, siendo el análisis de la varianza uno de los más utilizados ([Lim, 2011](#)). Para conocer la capacidad discriminante de los diferentes productos de snacks de legumbres por parte de los consumidores, en este estudio se aplicó un ANOVA mixto y HSD Tukey.

Código de muestra: _____
<input type="checkbox"/> Me gusta muchísimo
<input type="checkbox"/> Me gusta mucho
<input type="checkbox"/> Me gusta moderadamente
<input type="checkbox"/> Me gusta ligeramente
<input type="checkbox"/> Ni me gusta ni me disgusta
<input type="checkbox"/> Me disgusta ligeramente
<input type="checkbox"/> Me disgusta moderadamente
<input type="checkbox"/> Me disgusta mucho
<input type="checkbox"/> Me disgusta muchísimo

**Figura 47.** Escala hedónica de 9 puntos  
(Peryam & Pilgrim, 1975)

Con el fin de profundizar en el estudio realizado y ayudar a interpretar y analizar las preferencias de los consumidores para cada muestra, se aplicó un análisis multidimensional, **mapa de preferencias** (PM), a los datos obtenidos. También se exploró la relación entre las puntuaciones hedónicas y la composición nutricional de los snacks de legumbres. Los mapas de preferencias son ampliamente utilizados para describir las características de los productos alimenticios que contribuyen a su aceptación por parte de los consumidores (Delgado & Guinard, 2012). Las dos áreas principales del mapeo de preferencias están constituidas por el mapa de preferencias interno y el mapa de preferencias externo. El primero de ellos, *mapa de preferencias interno*, consiste en realizar un análisis de componentes principales (ACP) de la matriz de puntuaciones hedónicas entre los productos alimenticios (las observaciones) y los consumidores (las variables), que se lleva a cabo en una matriz de covarianza que permite apreciar diferencias en la magnitud de las preferencias del consumidor. Por su parte, el *mapa de preferencias externo* es una regresión individual de la preferencia de los consumidores relacionada con los datos sensoriales (Guinard, 1998; Young et al., 2004).

También se aplicó un análisis **clúster de los consumidores** según las preferencias de los consumidores mediante una **agrupación jerárquica** (AHC). La clasificación de los consumidores en diferentes perfiles permite un estudio detallado para observar los cambios en

la aceptabilidad de los diferentes snacks de legumbres comercializados actualmente en España, y proporciona información de interés sobre el desarrollo u optimización de nuevos productos. Todos los análisis se realizaron con Statgraphics Plus versión 5.1. y XLSTAT® 1994.

### **5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DEL ESTUDIO DE PRODUCTOS ELABORADOS A BASE DE HARINAS DE CEREALES Y DE HARINAS DE LEGUMBRES: PANES Y SNACKS**

Los resultados correspondientes al análisis de las muestras de productos alimenticios (panes) elaborados a base de harinas de cereales han sido publicados en el artículo que se presenta en el apartado 5.4.1. (Artículo 4). Este artículo se publicó en la revista *Food Chemistry* en el año 2020 (doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125954) y en él están recogidos los datos correspondientes a la composición nutricional y aspectos de la calidad sensorial de los panes objeto de estudio.

Por su parte, los resultados del estudio de aceptación de nuevas formulaciones de snacks a base de harinas de legumbres por consumidores españoles se recogen en el apartado 5.4.2.

### 5.3.1. Artículo 4. Caracterización nutricional y sensorial de panes elaborados a base de harinas de cereales

#### Article 4. Comparison of Different Bread Types: Chemical and Physical Parameters

Carocho, M., Morales, P., Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Ferreira E., Heleno, S., Rodrigues, P., Barros, L., & Ferreira, I.C.F.R. (2020). Food Chemistry, 310, 125954. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125954

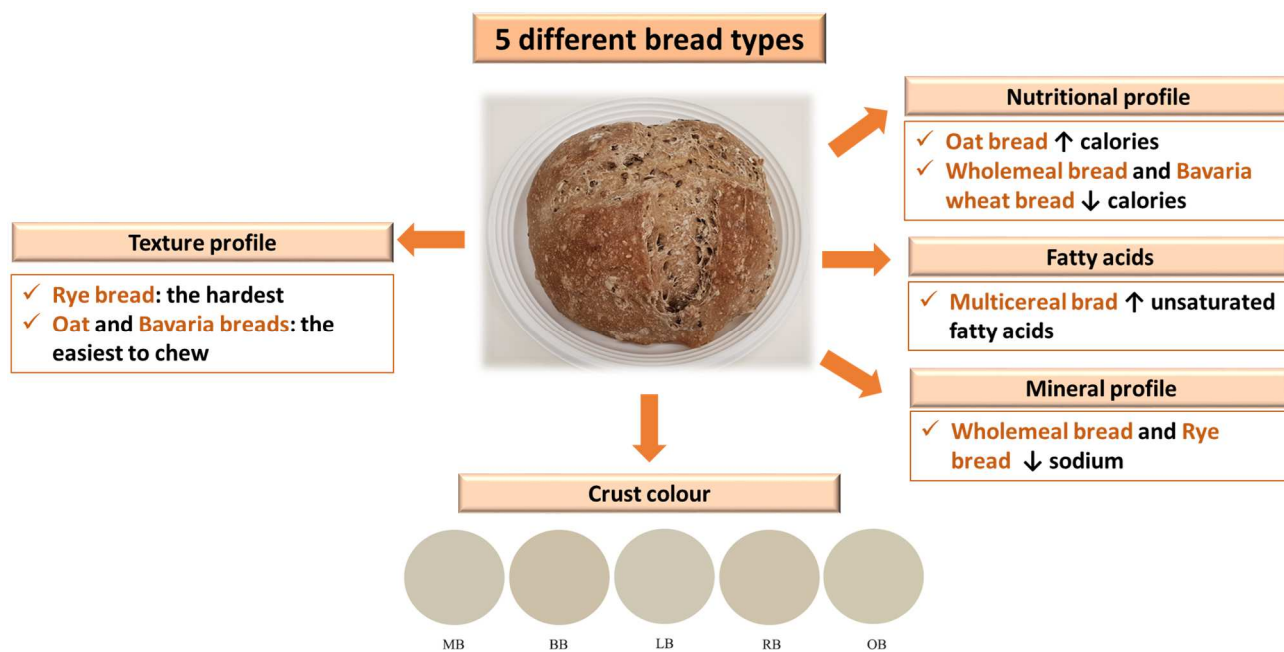


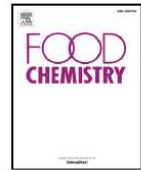
Figure 48. Graphical abstract article 4.



Contents lists available at ScienceDirect

Food Chemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem)



## Comparison of different bread types: Chemical and physical parameters

Márcio Carochó<sup>a</sup>, Patricia Morales<sup>b</sup>, María Ciudad-Mulero<sup>b</sup>, Virginia Fernández-Ruiz<sup>b</sup>,  
Elisabete Ferreira<sup>c</sup>, Sandrina Heleno<sup>a</sup>, Paula Rodrigues<sup>a</sup>, Lillian Barros<sup>a</sup>, Isabel C.F.R. Ferreira<sup>a,\*</sup>



<sup>a</sup> Centro de Investigação de Montanha, (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

<sup>b</sup> Department of Nutrition and Food Science, Faculty of Pharmacy, Complutense University of Madrid, Plaza Ramón y Cajal, s/n, 28040 Madrid, Spain

<sup>c</sup> M. Ferreira & Filhas, LDA, Av. Do Sabor, n.º 2, Gimonde, 5300-553 Bragança, Portugal

### Abstract

In this work, the chemical and physical profile of 5 different bread types (Multicereal bread, Bavaria wheat bread, Wholemeal bread, Rye and Oat bread) were analysed in depth, namely the nutritional profile, individual fatty acids and soluble sugars through GC-FID and HPLC-RI, respectively, as well as the mineral profile, including micro and macroelements. Furthermore, a texture profile analysis was carried out in addition to the measurement of the crust colour. Each bread type showed a distinct profile, with Wholemeal and Bavaria having the lowest calories, and Oat the highest. Multicereal showed the highest amount of unsaturated fatty acids, while Wholemeal and Rye scored the least sodium amounts. The hardest bread was Rye and the easiest to chew were Oat and Bavaria breads. The latter was also the one with the darkest crumb of all the analysed breads. This work shows that bread can be baked to meet the needs and particularities of various kinds of diets.

**Keywords:** Bread, nutritional profile, chemical composition, texture, mineral analysis

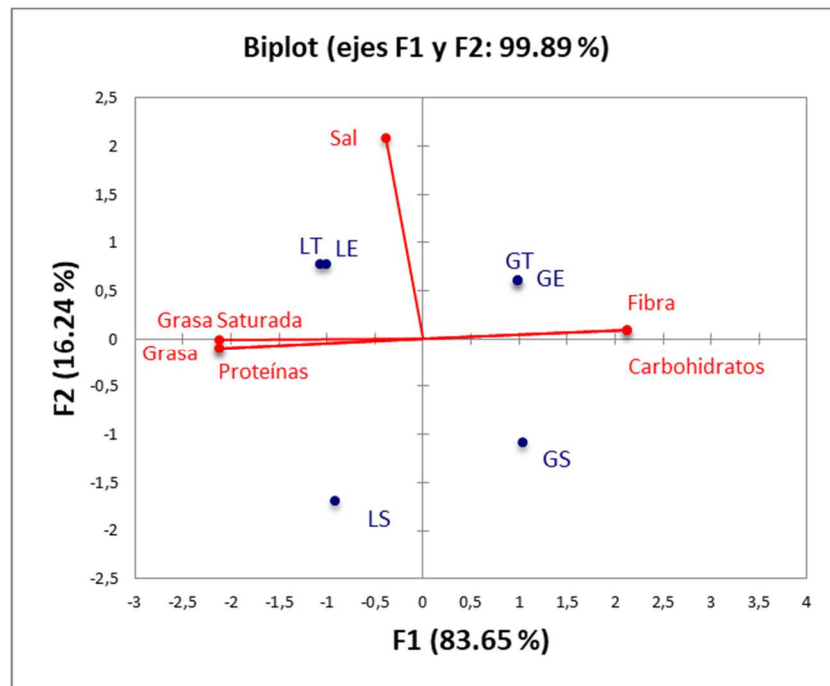
### 5.3.2. Aceptación de nuevas formulaciones de snacks a base de harinas de legumbres por consumidores españoles

Los resultados obtenidos del estudio de aceptación por parte de los consumidores de nuevas formulaciones de snacks elaborados a base de harinas de legumbres se detallan en la **Tabla 33**. Se comprobó que los consumidores españoles son capaces de discriminar entre las 6 formulaciones de snacks ( $p > 0,05$ ) evaluadas y tras aplicar el análisis de componentes principales se observa que se disponen gráficamente en los cuatro cuadrantes basándose en la composición nutricional de los mismos (**Figura 49**). En general, las formulaciones de lenteja (con más proteína, más grasa y menos fibra) obtuvieron puntuaciones más altas que las de garbanzo siendo los productos GE y LE (ambas con saborizante cremoso de eneldo) las mejor valoradas por los consumidores reclutados. El estudio revela que los hombres tienen una mayor preferencia por estas formulaciones dando puntuaciones más altas a los snacks que las mujeres.

**Tabla 33** Puntuaciones de los snacks obtenidas mediante el empleo de la escala hedónica de 9 puntos

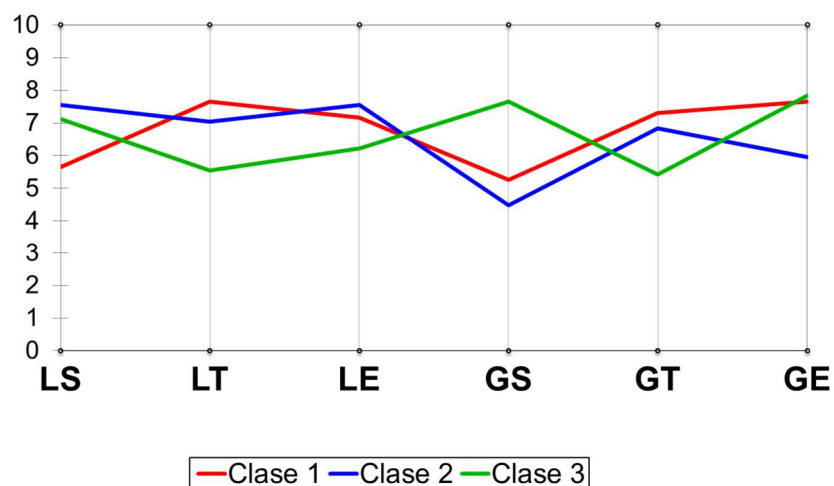
Puntuación escala hedónica		Código de la muestra					
		Snacks de lenteja			Snacks de garbanzo		
		LS	LT	LE	GS	GT	GE
<b>Puntuación media</b>		6,8	6,8	7,0	5,8	6,5	7,1
<b>Puntuación por sexo</b>	<b>Masculino</b>	7,1	7,0	7,4	6,1	6,9	7,1
	<b>Femenino</b>	6,5	6,6	6,4	5,5	6,2	7,1
<b>Puntuación por edad</b>	<b>&lt; 20 años</b>	6,7	7,4	7,1	5,9	7,3	6,6
	<b>20–35 años</b>	7,0	6,8	7,3	5,7	6,6	7,2
	<b>36-50 años</b>	6,2	6,8	6,3	6,1	5,7	6,9
	<b>51-65 años</b>	6,7	5,6	6,3	5,6	6,4	7,0
	<b>&gt; 65 años</b>	6,0	7,3	6,0	5,7	7,3	7,3

LS: snack de lenteja con sal marina; LT: snack de lenteja con tomate y albahaca; LE: snack de lenteja con saborizante cremoso de eneldo; GS: snack de garbanzo con sal marina; GT: snack de garbanzo con tomate y albahaca; GE: snack de garbanzo con saborizante cremoso de eneldo.



**Figura 49.** Análisis de componentes principales (ACP)

Se realizó un análisis de agrupación jerárquica ascendente que clasificó a los consumidores en tres grupos o clases (clase 1 con 26 consumidores, clase 2 con 29 consumidores y clase 3 con 26 consumidores) (**Figura 50**).



**Figura 50.** Perfil de las clases de consumidores

(LS: snack de lenteja con sal marina; LT: snack de lenteja con tomate y albahaca; LE: snack de lenteja con saborizante cremoso de eneldo; GS: snack de garbanzo con sal marina; GT: snack de garbanzo con tomate y albahaca; GE: snack de garbanzo con saborizante cremoso de eneldo).

Se estudió la relación existente entre las preferencias de los consumidores y las características de los productos y los resultados obtenidos indican que la clase 1 prefiere el producto LT (formulado con saborizante de tomate y albahaca), mientras que a los consumidores de la clase 2 les gusta sobre todo LT y LE (formulado con mayor contenido en grasa, lo que aumenta su palatabilidad), y valoran con puntuaciones bajas al producto GS (con menor contenido de grasa y de sal). Por último, la clase 3 es el grupo de consumidores que da las menores puntuaciones y el producto que prefiere es GE (formulado con mayor contenido en fibra alimentaria).

## 5.4. DISCUSIÓN INTEGRADORA DEL ESTUDIO DE PRODUCTOS ELABORADOS A BASE DE HARINAS DE CEREALES Y DE HARINAS DE LEGUMBRES: PANES Y SNACKS

### 5.4.1. Estudio de distintos tipos de panes elaborados a base de harinas de cereales

Teniendo en cuenta los tipos de panes recogidos en el [Real Decreto 308/2019](#) que establece la norma de calidad para el pan, y cuyas características han sido descritas previamente, los panes analizados en el presente estudio están clasificados de la siguiente forma:

- Pan elaborado con harina integral de trigo 50 %: pan integral de trigo (LB)
- Panes elaborados con dos o más harinas de cereales: pan integral de centeno de Baviera (50 %) (BB), pan de centeno (70 %) (RB), pan de avena (20 %) (OB)
- Pan multicereal: pan multicereal (MB)

#### 5.4.1.1. Estudio de la composición nutricional de los distintos panes analizados

Tal y como viene recogido en la tabla 2 del artículo 4, el contenido de **humedad** fue similar en todos los panes analizados. Los panes OB (pan de avena) y MB (pan multicereal) mostraron los valores más bajos de humedad (33 y 34,1 g de agua/100 g, respectivamente), mientras que los panes BB (pan integral de centeno de Baviera) y LB (pan integral de trigo), presentaron el mayor contenido de agua (38,4 y 37,1 g/100 g, respectivamente). El pan MB (pan multicereal) fue el que mostró mayor contenido de **proteínas** (9,5 g/100 g), **grasa total** (3,65 g/100 g) y **fibra total** (10,7 g /100 g). Esto puede deberse a que este pan contiene semillas de sésamo, girasol, linaza y harina de algarroba, que contribuyen al enriquecimiento nutricional del producto final. Por el contrario, el pan RB fue el que menor contenido presentó de proteínas (5,68 g/100 g) y de fibra total (1,02 g/100 g), mientras que el menor contenido de grasa total (0,18 g/100 g) se encontró en el pan LB. El contenido de **carbohidratos** (hidratos de carbono disponibles) fue similar en el caso de los panes LB, BB, RB y OB (50 – 56 g de glucosa/100 g), mientras que el pan MB presentó valores de hidratos de carbono significativamente ( $p < 0,05$ ) inferiores (41 g de glucosa/100 g). El mayor **valor calórico** correspondió al pan OB (265 kcal/100 g) y los panes BB y LB fueron los de menor valor energético (242 kcal/100 g).

Analizando las distintas **fracciones de fibra** en los panes objeto de estudio se observa que, con la excepción del pan multicereal (MB), la fracción insoluble fue la mayoritaria en todos los casos. Como ya se ha indicado previamente, esta tendencia es característica de los cereales (ver

**Tabla 2** de la introducción). En el caso del pan MB y, de acuerdo con el [Reglamento \(CE\) N° 1924/2006](#), se puede declarar que tienen un “*alto contenido de fibra*”, puesto que presenta más de 6 g de fibra por 100 g. Además, los panes MB y LB pueden hacer uso de la declaración nutricional “*fuerza de fibra*”, ya que tienen más de 3 g de fibra por 100 g. La posibilidad de utilizar estas declaraciones recogidas en la normativa vigente permite poner en valor la calidad nutricional de estos productos alimenticios, que forman parte de la dieta diaria de la mayoría de la población.

El análisis del **perfil lipídico** de los panes objeto de estudio muestra que los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) fueron los que se encontraron en mayor cantidad, llegando a representar el 81 % del total de ácidos grasos, en el caso del pan de centeno (RB). El contenido de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) fue estadísticamente superior en el pan multicereal (MB) seguido del pan de avena (OB). En el caso del pan MB, los altos valores de AGMI se atribuyen a las semillas utilizadas como ingredientes en la elaboración de este producto. Las cantidades más altas de ácidos grasos saturados (AGS) se encontraron en el pan integral de centeno de Baviera (BB) y en el pan de avena (OB), mientras que el pan de centeno (RB) y el pan multicereal (MB) fueron los que presentaron los valores más bajos. Teniendo en cuenta los ácidos grasos individuales, el ácido linoleico (C18:2) fue el mayoritario en todos los panes objeto de estudio y el ácido palmítico (C16:0) fue el AGS más abundante.

Una ingesta excesiva de AGS se relaciona con mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares o síndrome metabólico, así como con alteraciones de la microbiota intestinal. Sin embargo, los AGMI y AGPI han mostrado efectos beneficiosos a nivel cardiovascular ([Julibert et al., 2019](#); [Li et al., 2015](#); [Wolters et al., 2018](#)). Debido a la influencia que el tipo de grasa tiene sobre la salud, resulta muy interesante conocer la calidad de la grasa de los alimentos en particular y de la dieta en general. Para ello, existen algunos índices que permiten evaluar la calidad de la grasa, siendo los cocientes AGPI/AGS y (AGPI + AGMI)/AGS los más utilizados. Con la aplicación de estos índices, que tienen en cuenta las distintas familias de ácidos grasos, se puede decir que la calidad de la grasa es buena cuando ([Moreiras et al., 2018](#)):

- $AGPI/AGS \geq 0,5$
- $(AGPI + AGMI)/AGS \geq 2$

Como se puede ver en la **Tabla 34**, los valores de estos índices se relacionan con una buena calidad de la grasa, en el caso de todos los panes analizados.

**Tabla 34.** Índices de calidad de la grasa de los panes analizados

Tipo de pan	Código	AGPI/AGS	(AGPI + AGMI)/AGS
Multicereal	MB	4,85	5,93
Integral de centeno de Baviera	BB	1,67	2,06
Integral de trigo	LB	2,51	2,80
Centeno	RB	5,06	5,26
Avena	OB	1,87	2,33

Con respecto a los **azúcares solubles**, el contenido total de estos compuestos varió entre 0,9 – 1,7 g/100 g (muestras BB y OB, respectivamente) y fue significativamente superior en el caso del pan de avena (OB). En el resto de los panes no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) relativas al contenido total de azúcares solubles. Puesto que ninguno de los panes analizados presentó un contenido de azúcares superior a 5 g/100 g, se puede declarar que estos productos poseen un “*bajo contenido de azúcares*” ([Reglamento \(CE\) N° 1924/2006](#)). En todas las muestras se detectaron fructosa y maltosa. Como era de esperar, la maltosa fue el azúcar soluble más abundante, siendo este compuesto característico de los cereales. Además, en los panes MB, BB y RB también se encontró glucosa en pequeñas cantidades. Esto podría deberse al bajo contenido de glucosa presente en la mayoría de los cereales ([Žilić et al., 2017](#)) y al prolongado tiempo de fermentación que experimentaron la mayoría de los panes, de manera que se habría consumido la poca glucosa disponible.

En cuanto a los **elementos minerales** presentes en los panes analizados, se cuantificó el contenido de macroelementos (Ca, Mg, Na y K) y microelementos (Fe, Cu, Mn y Zn). Según lo previsto, los minerales más abundantes fueron el magnesio y el potasio, mientras que el cobre y el manganeso estuvieron presentes en cantidades inferiores. Este patrón es característico de los cereales ([Benincasa et al., 2015](#); [Vignola et al., 2016](#)).

El hierro juega un papel importante en la síntesis de hemoglobina, es un componente estructural de la mioglobina y es cofactor de numerosas enzimas ([Abbaspour et al., 2014](#); [Carbajal, 2013](#); [Moreiras et al., 2018](#)). En los panes analizados en este estudio, no se encontraron diferencias significativas relativas al contenido de Fe, con la excepción del pan integral de centeno de Baviera (BB), que presentó un contenido de Fe significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) al resto de panes. Teniendo en cuenta el [Reglamento \(UE\) N° 1169/2011](#), que establece que el valor de

referencia de nutrientes (VRN) para los minerales, siendo este valor de 14 mg/día en el caso del Fe, el consumo de 100 g de los panes analizados en el presente trabajo, cubriría entre un 8,9 - 12,1 % de la ingesta diaria de referencia (IDR) de Fe para población adulta (panes BB y OB, respectivamente).

El cobre también es importante en la síntesis de la hemoglobina y es cofactor de múltiples enzimas implicadas en reacciones de oxidación – reducción (Abbaspour et al., 2014; Askwith & Kaplan, 1998; Carbajal, 2013). En este trabajo, la mayor concentración de este mineral se encontró en el pan integral de trigo (LB) (0,84 mg Cu/100 g), mientras que el pan integral de centeno de Baviera (BB) fue el que menos contenido de Cu presentó (0,38 mg Cu/100 g). Teniendo en cuenta que el VRN para el cobre es de 1 mg de Cu/día, el consumo de 100 g de los panes analizados en el presente trabajo, cubriría entre un 38 - 84 % de la ingesta diaria de referencia (IDR) de Cu para población adulta (panes BB y LB, respectivamente) (Reglamento (UE) N° 1169/2011). Por lo tanto, se puede declarar que todos los panes analizados en este estudio son “fuente de cobre”, ya contienen, como mínimo, una cantidad significativa de este mineral (15% VRN), es decir, 0,15 mg de Cu por 100 g (Reglamento (CE) N° 1924/2006; Reglamento (UE) N° 1169/2011). Además, por su contenido en este mineral, está justificado el uso de las 8 declaraciones de propiedades saludables aprobadas para el Cu (Reglamento (UE) N° 432/2012) (ver tabla 17, apartado 3.5.4.).

El zinc es un elemento con importantes funciones enzimáticas, reguladoras y estructurales. Es uno de los minerales más importantes para la salud humana, ya que más de 300 enzimas son dependientes de Zn para su funcionamiento normal. Además, el 10% del genoma humano codifica proteínas que pueden unirse al Zn. Se trata de un mineral fundamental para el crecimiento y también favorece la cicatrización de las heridas (Carbajal, 2013; Moreiras et al., 2018; Nriagu, 2018). Las mayores concentraciones de Zn en los panes analizados se encontraron en el pan multicereal (MB) (2,0 mg/100 g) y en el pan de avena (OB) (1,8 mg/100 g), mientras que el pan integral de trigo (LB) fue el que menor contenido presentó (1,08 mg/100 g). El consumo de 100 g de los panes analizados en el presente trabajo, cubriría entre un 10,8 – 20,0 % de la IDR de Zn para población adulta (panes LB y MB, respectivamente) (Reglamento (UE) N° 1169/2011). Teniendo en cuenta los valores de Zn obtenidos y de acuerdo con la normativa vigente, que establece que el VRN para el zinc es de 10 mg/día, se puede declarar que el pan multicereal (MB), el pan de centeno (RB) y el pan de avena (OB) constituyen una “fuente de zinc”, ya que tienen al menos una cantidad significativa de este mineral (15% VRN), es decir, 1,5 mg de Zn por 100 g (Reglamento (CE) N° 1924/2006; Reglamento (UE) N°

1169/2011). Además, en el caso de estos tres panes, (MB, RB y OB) está permitido el uso de las 18 declaraciones de propiedades saludables aprobadas para el Zn (Reglamento (UE) N° 432/2012) (ver tabla 17, apartado 3.5.4.).

El manganeso es esencial para muchas funciones metabólicas ya que se trata de un constituyente fundamental de numerosas enzimas (Carbajal, 2013). El Reglamento (UE) N° 1169/2011 establece que, para la población adulta, la ingesta diaria de referencia de Mn es de 2 mg/día. La cantidad de este mineral en los panes analizados varió entre 0,43 – 0,54 mg Mn/ 100 g, en el pan integral de trigo (LB) y el pan multicereal (MB), respectivamente. Todos los panes objeto de estudio presentaron, al menos, 0,3 mg de Mn por 100 g y, por lo tanto, se puede declarar que son “fuente de manganeso”, siendo posible la utilización de las 4 declaraciones de propiedades saludables aprobadas para este mineral (Reglamento (CE) N° 1924/2006; Reglamento (UE) N° 1169/2011; Reglamento (UE) N° 432/2012) (ver tabla 17, apartado 3.5.4.).

El calcio es el mineral que se encuentra en mayor concentración en el organismo, principalmente en huesos y dientes. Desempeña un papel fundamental en la formación y el mantenimiento del tejido óseo y tiene gran importancia en el crecimiento. Además, interviene en la coagulación sanguínea, en el mantenimiento de la actividad neuromuscular y en la regulación de la permeabilidad de las membranas (Carbajal, 2013; Moreiras et al., 2018). La legislación europea establece que la ingesta diaria de referencia de calcio para población adulta es de 800 mg/día (Reglamento (UE) N° 1169/2011). En el caso de los panes analizados, la mayor concentración de calcio se encontró en el pan integral de trigo (LB) (10,8 mg Ca/100 g), seguido del pan de centeno (RB) (9,7 mg Ca/100 g). Por el contrario, el pan multicereal (MB) fue el más pobre en calcio (3,5 mg Ca/100 g).

El magnesio es un mineral fundamental para el adecuado funcionamiento del organismo. Actúa como cofactor de varias enzimas intracelulares, interviene en el metabolismo de los hidratos de carbono y participa en la función neuromuscular (Carbajal, 2013; Moreiras et al., 2018). El Reglamento (UE) N° 1169/2011 establece que, para la población adulta, la ingesta diaria de referencia de Mg es de 375 mg Mg/día. En el caso de los panes analizados en este estudio, el pan multicereal (MB) fue especialmente rico en magnesio (56 mg Mg/100 g), mientras que la menor cantidad de este mineral se encontró en el pan de centeno (RB) (28 mg Mg/100 g).

El sodio es el principal catión del líquido extracelular y tiene un papel esencial en la regulación del balance hidroelectrolítico y ácido – base del organismo. Este mineral también participa en la transmisión nerviosa y en los procesos de contracción muscular. Sin embargo, un consumo

excesivo de sodio se relaciona con un aumento de la presión arterial y riesgo cardiovascular, por lo que se aconseja no superar la ingesta de 2 g de sodio al día (Carbajal, 2013; Moreiras et al., 2018). El contenido de este mineral en los panes analizados osciló entre 18 – 28 mg/100 g (pan integral de trigo y pan de avena, respectivamente) y puesto que en todos los casos fue menor de 40 mg Na/100g, se puede declarar que todos los panes objeto de estudio tienen “muy bajo contenido de sodio/sal” (Reglamento (CE) N° 1924/2006; Reglamento (UE) N° 1169/2011).

El potasio es el principal catión del líquido intracelular y resulta fundamental para el mantenimiento del balance hidroelectrolítico y la integridad celular (Carbajal, 2013). La legislación europea establece que, para la población adulta, la ingesta diaria de referencia de K es de 2.000 mg/día (Reglamento (UE) N° 1169/2011). A la vista de los resultados obtenidos en este estudio, se aprecia que el pan integral de centeno de Baviera (BB) fue el que menor contenido de potasio presentó (25 mg K/100 g), mientras que el pan de centeno (RB) fue el más rico en este mineral (56 mg K/100 g).

En la **Tabla 35** se recogen las declaraciones nutricionales que podrían incluirse en el etiquetado de los panes analizados.

**Tabla 35.** Declaraciones nutricionales autorizadas para cada uno de los panes autorizados (Reglamento (CE) N° 1924/2006; Reglamento (UE) N° 1169/2011)

Tipo de pan	Código	Declaraciones nutricionales autorizadas
Multicereal	MB	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Bajo contenido de azúcares</i></li> <li>- <i>Alto contenido de fibra</i></li> <li>- <i>Fuente de fibra</i></li> <li>- <i>Fuente de cobre</i></li> <li>- <i>Fuente de manganeso</i></li> <li>- <i>Fuente de zinc</i></li> </ul>
Integral de centeno de Baviera	BB	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Bajo contenido de azúcares</i></li> <li>- <i>Fuente de cobre</i></li> <li>- <i>Fuente de manganeso</i></li> </ul>

**Tabla 35** (continuación).

Tipo de pan	Código	Declaraciones nutricionales autorizadas
Integral de trigo	LB	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Bajo contenido de azúcares</i></li> <li>- <i>Fuente de fibra</i></li> <li>- <i>Fuente de cobre</i></li> <li>- <i>Fuente de manganeso</i></li> </ul>
Centeno	RB	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Bajo contenido de azúcares</i></li> <li>- <i>Fuente de cobre</i></li> <li>- <i>Fuente de manganeso</i></li> <li>- <i>Fuente de zinc</i></li> </ul>
Avena	OB	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Bajo contenido de azúcares</i></li> <li>- <i>Fuente de cobre</i></li> <li>- <i>Fuente de manganeso</i></li> <li>- <i>Fuente de zinc</i></li> </ul>

#### 5.4.1.2. Estudio de los atributos sensoriales de los distintos panes analizados

El pan es uno de los alimentos básicos más antiguos del mundo y en la actualidad la industria alimentaria está continuamente innovando en este sector con el fin de satisfacer la demanda de los consumidores. Hoy en día la tendencia está orientada al desarrollo de una amplia gama de productos de panadería elaborados a partir de granos no convencionales, siendo fundamental la evaluación sensorial de este tipo de productos para garantizar su aceptación y éxito en el mercado (Boukid et al., 2020).

En este trabajo, los parámetros indicadores de la calidad sensorial de los panes analizados fueron la textura y el color. Para mantener la homogeneidad entre los diferentes tipos de panes, el análisis se realizó en la rebanada central de los mismos, con un ancho definido de 2 cm (Figura 51).



**Figura 51.** Rebanada central de uno de los panes analizados

(Foto: Márcio Caroch)

En los productos horneados con levadura, y en particular en el caso del pan, la textura de la miga está fuertemente relacionada con la percepción de calidad y constituye un criterio decisivo para la aceptación de estos productos por parte de los consumidores (Callejo, 2011).

Para la evaluación sensorial de los panes objeto de estudio se llevaron a cabo tres análisis del perfil de **textura** (APT) en cada corte de pan y en todos los casos se evaluaron las siguientes dimensiones: dureza, adhesividad, elasticidad, cohesividad, masticabilidad y resiliencia.

La dureza es un parámetro mecánico de textura que se define como la fuerza necesaria para alcanzar una deformación preestablecida. Desde el punto de vista experimental, la aplicación de esta fuerza se lleva a cabo mediante el empleo de texturómetros. No obstante, la dureza también puede definirse como la fuerza que los dientes deben aplicar sobre los alimentos para comprimirlos (García Calabuig, 2012; Mónaco et al., 2008). Dentro de los panes analizados en el presente trabajo, el pan de centeno (RB) fue el que mayor dureza presentó, seguido del pan de centeno de Baviera (BB) y el pan multicereal (MB). Por el contrario, el pan de avena (OB) y el pan integral de trigo (LB) fueron los de menor dureza. Estos resultados concuerdan con otros encontrados en la literatura científica (Salehifar & Shahedi, 2007; Young, 2012) y pueden deberse a la elasticidad del gluten, cuya presencia es mayor en la harina de trigo. Por este motivo los valores de dureza más altos correspondieron a los panes RB y BB, siendo estos panes los que menor proporción de harina de trigo tenían (30 % y 50 %, respectivamente) y, por lo tanto, los que menos gluten presentaban. Además, la avena se caracteriza por dar lugar a masas y

panes blandos y el pan OB, que contenía un 80 % de harina base (harina de trigo) mostró la dureza más baja de todas las muestras analizadas.

Otra de las dimensiones de la textura analizada fue la adhesividad, que se define como la capacidad que tienen los alimentos para adherirse a los dientes mientras se mastica y se expresa en valores negativos debido a que la fuerza que se aplica durante la medición se ejerce de abajo hacia arriba en el texturómetro (Paula, 2014). El pan se caracteriza por su baja adhesividad y, según lo esperado, los valores obtenidos fueron bastante bajos en todos los casos. No obstante, se observó que la adhesividad de las muestras analizadas aumentaba a medida que disminuía el porcentaje de harina de trigo de las mismas. De esta manera, las muestras RB (pan de centeno, con un 30 % de harina de trigo) y BB (pan integral de centeno de Baviera, con un 50 % de harina de trigo) mostraron valores de -0,3 y -0,23 g x s, respectivamente, mientras que la muestra LB (pan integral de trigo) presentó la adhesividad más baja (-0,04 g x s). Este comportamiento ha sido previamente observado por otros autores. En concreto, Hsieh et al. (2017) estudiaron el efecto de la sustitución de harina de trigo por distintos porcentajes de harina de arroz integral y de avena (10 % y 30 %) en la elaboración de pan tipo Mantou, observando que cuanto menor proporción de harina de trigo tenía el pan, mayor era su adhesividad. Por otro lado, la adhesividad está relacionada con la dureza y, en este sentido, en el presente trabajo se puede apreciar que los panes más duros fueron también los más adhesivos.

Dentro de la evaluación de la textura de los panes también se analizó la elasticidad, que se define como la velocidad a la que un alimento deformado recupera su estado inicial (no deformado), una vez que cesa la fuerza causante de esa deformación (Faber et al., 2017). El pan no es un alimento que presente gran elasticidad y dentro de las muestras analizadas el pan integral de trigo (LB) fue el más elástico (3,82 % de elasticidad), seguido por los panes multicereal (MB) y de centeno (RB) (ambos con 2,5 % de elasticidad). Estos resultados podrían explicarse por la mayor esponjosidad de las masas y, en el caso concreto del pan multicereal, la menor densidad de la masa fue consecuencia de la presencia de semillas. Por el contrario, el pan integral de centeno de Baviera (BB) fue el que menor elasticidad presentó (0,976 %). En la literatura científica, valores más bajos de elasticidad del pan se relacionan con la menor proporción de harina de trigo en los mismos, debido a que esta propiedad depende, en gran medida, de la presencia de gliadinas y gluteninas (Hsieh et al., 2017).

Se considera que la cohesividad es la capacidad que tiene un alimento para resistir una segunda deformación. Dado que la capacidad de compresión del pan es relativamente baja, los valores

de cohesividad mostrados por los panes analizados fueron muy similares en todos los casos y oscilaron entre 0,84 % (pan multicereal y pan integral de centeno de Baviera) y 0,92 % (pan integral de trigo). Otros autores obtuvieron valores similares de cohesividad (0,78 - 0,86 %) en panes elaborados con distintas proporciones de harina de distintos cereales (trigo, avena, maíz y sorgo) (Vásquez Lara et al., 2017).

La masticabilidad se puede definir como la energía necesaria para masticar los alimentos y está relacionada con su dureza, su elasticidad y su cohesividad (Chandra & Shamasundar, 2015). El pan de centeno (RB) fue el que mayor masticabilidad mostró y como ya se ha mencionado, también fue el que presentó valores más altos tanto de dureza como de adhesividad. En el extremo opuesto se encuentra el pan de avena (OB), que obtuvo los valores más bajos de masticabilidad así como el segundo valor más bajo de dureza. Teniendo en cuenta la definición de masticabilidad, está justificado que los panes más duros sean los que presenten valores más altos de este parámetro, puesto que requerirán mayor energía para ser masticados. Existen estudios que relacionan la masticabilidad del pan con el contenido de fibra alimentaria que presenta, observándose una correlación positiva entre ambos factores (Torbica et al., 2019). En el caso de las muestras analizadas en el presente trabajo se puede ver que, con la excepción del pan RB (pan de centeno), los valores más altos de masticabilidad se corresponden con los panes que presentan una mayor concentración de fibra alimentaria.

Por último, la evaluación de la textura de los panes objeto de estudio se completó con el análisis de la resiliencia. Este parámetro es similar a la elasticidad, pero mide tanto la velocidad como las fuerzas implicadas en la recuperación de un alimento que ha sido deformado una vez que se elimina la fuerza causante (Chandra & Shamasundar, 2015). En general, los panes analizados mostraron valores similares de resiliencia, que variaron entre 0,374 – 0,54 % (pan integral de centeno de Baviera y pan integral de trigo, respectivamente).

A la vista de los resultados obtenidos, se puede decir que las harinas empleadas en la elaboración de los distintos panes analizados no afectaron ni a la adhesividad, ni a la cohesividad, ni a la resiliencia de los mismos. Sin embargo, las dimensiones de dureza y elasticidad si se vieron condicionadas por el tipo de harina utilizada en la fabricación de los panes.

Además de los atributos relacionados con la textura, en el análisis sensorial del pan es fundamental evaluar otros parámetros relacionados con la apariencia del producto, entre los que se incluyen distintos atributos percibidos a través del sentido de la vista, tales como el color de

la miga, el color de la corteza o la estructura de la miga (Callejo, 2011). En el presente estudio, para el análisis del **color** de los panes, se evaluaron los parámetros  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (rojo-verde) y  $b^*$  (azul-amarillo). El color de la miga está muy relacionado con los ingredientes empleados en la elaboración de los distintos tipos de panes y el tipo de harina utilizada influye enormemente en este parámetro. En este sentido, la incorporación de harina de maíz se relaciona con un color de miga amarillento mientras que los panes que contienen harina de centeno se caracterizan por la tonalidad gris de su miga. Otro factor directamente relacionado con el color de la miga del pan es la tasa de extracción de las harinas empleadas. En el caso de la harina de trigo, cuanto mayor es la tasa de extracción de la harina, más oscuro es el color de la miga, pudiendo variar desde el blanco cremoso hasta el marrón pálido. Por su parte, el color de la corteza está muy relacionado con la Reacción de Maillard que tiene lugar durante la cocción de los panes. El color de la corteza del pan es el primer atributo sensorial evaluado por los consumidores, de forma que este factor condiciona enormemente la aceptación organoléptica de este tipo de productos (Callejo, 2011; Torbica et al., 2019). En el presente trabajo no se observaron diferencias en cuanto a  $L^*$ , lo que indica que el tipo de harina no afectó a la luminosidad de los panes. Todas las muestras mostraron valores de  $a^*$  cercanos a 0, siendo los panes BB (pan integral de centeno de Baviera) y RB (pan de centeno) aquéllos cuyo color fue más rojizo (mayor  $a^*$ ). Sin embargo, el color de la muestra OB (pan de avena) tendió hacia el verde (menor  $a^*$ ). Tampoco se observaron diferencias relativas a los valores de  $b^*$ , que oscilaron entre 15 (pan integral de trigo) y 19.3 (pan integral de centeno de Baviera). La integración de estos resultados permite conocer que, como era de esperar, el pan integral de centeno de Baviera (BB) fue el de color más oscuro, debido al tono oscuro tanto de los granos como de la harina empleada en la elaboración de dicho pan. Este pan fue el que presentó los valores más bajos de  $L^*$  (a menor valor de  $L^*$ , más oscuro es el pan). Por el contrario, el pan de color más claro fue el pan integral de trigo (LB). Para completar la información relativa al color de los panes, se aplicó la **ecuación 14**, descrita en el apartado 5.3.1.2.11. y se observó que las mayores diferencias significativas de color se encontraron entre los panes LB (integral de trigo) y BB (integral de centeno de Baviera). Además, los panes con el color de miga más similar fueron los panes BB y RB (estas muestras mostraron mayores valores de  $a^*$ ), así como los panes MB y LB (con valores de  $a^*$  próximos a 0). En general, no se observaron grandes diferencias de color entre los panes analizados. Esto puede ser debido a que en todos los casos el porcentaje de harina base de trigo fue bastante alto. El porcentaje de este tipo de harina no puede reducirse para garantizar la aceptabilidad de estos productos por parte de los consumidores.

#### 5.4.2. Estudio de la aceptación de nuevas formulaciones de snacks a base de harinas de legumbres

Tal y como se ha indicado anteriormente en la presente Tesis Doctoral, las legumbres son alimentos de gran valor nutricional que deben formar parte de la dieta habitual de la población. Sin embargo, en la sociedad actual el consumo de este grupo de alimentos tiende a ser escaso debido a que su preparación suele ser laboriosa. Por este motivo, la industria alimentaria ha centrado sus esfuerzos en el desarrollo de nuevos productos alimenticios elaborados a base de legumbres, que faciliten el consumo de estos alimentos tan interesantes en todos los sectores de la población. En este sentido, en los últimos años la industria ha desarrollado nuevos productos de aperitivo tipo snacks a base de legumbres que pueden ser buenos candidatos para promover el consumo de legumbres al mismo tiempo que amplían el abanico de snacks saludables, algo demandado por una parte de los consumidores (Ciudad-Mulero et al., 2018; do Carmo et al., 2019; Morales et al., 2015b). La mayoría de los snacks que se encuentran en el mercado están elaborados a base de maíz o almidón de arroz, y suelen ser productos de baja calidad nutricional debido a su baja densidad de nutrientes, su alto aporte calórico, alto contenido en sal y aditivos alimentarios. Por esta razón, el empleo de legumbres en la elaboración de este tipo de productos permite obtener snacks con un interesante perfil nutricional, ricos en fibra y por tanto más saludables (do Carmo et al., 2019).

Para asegurar el éxito en el mercado de estos productos es imprescindible garantizar su aceptación por parte de los consumidores. En el caso de los snacks, esta aceptación depende de atributos tales como la apariencia, la textura, la facilidad de consumo y el perfil nutricional de los mismos (do Carmo et al., 2019; Handa & Goomer, 2015). La aplicación de la ciencia del análisis sensorial de los alimentos, concretamente técnicas de análisis sensorial de estudios de consumidores resultan fundamentales para el desarrollo de nuevos productos por parte de la industria alimentaria y constituyen una herramienta clave en la evaluación de las preferencias de los consumidores, las cuales determinan la implementación o no de estos nuevos productos en la dieta.

En el presente trabajo se aplicaron técnicas de análisis sensorial a un estudio de un panel de consumidores que cataron “*in situ*” 6 tipos de snacks diferentes comercializados en España elaborados con harinas de legumbres (lenteja y garbanzo), con el fin de determinar el grado de aceptación de los mismos por los consumidores y valorar los factores que influyen en la

aceptación de estos productos, así como evaluar la posible relación entre el contenido en nutrientes del producto y las preferencias de los consumidores.

Según la información facilitada por el etiquetado (**Tabla 31**, apartado 5.2.2.1.), todas las muestras objeto de estudio contenían harina de legumbres como ingrediente principal. En el caso de los snacks de lenteja el porcentaje de legumbre fue de un 48 %, mientras que este porcentaje fue de un 45 % en el caso de los snacks de garbanzo. Del mismo modo, todas las muestras contenían almidón de patata, aceite de colza y sal (sal marina en el caso de las muestras LS y GS). Los snacks elaborados a base de harina de garbanzo (muestras GS, GT y GE) incluían en su composición arroz y harina de maíz. Además, 4 de las formulaciones estudiadas (muestras LT, LE, GT y GE) presentaban harina de arroz, dextrosa, extracto de levadura en polvo, cebolla en polvo, hierbas (albahaca en el caso de LT y GT y eneldo en LE y GE), ácido cítrico y saborizantes. En el caso concreto de las muestras LT y GT (ambas con sabor a tomate y albahaca), la composición incluía azúcar, ajo en polvo, especias y pimentón como colorante natural. Por su parte, las muestras LE y GE (ambas con saborizante cremoso de eneldo) contenían jarabe seco de glucosa.

Por otro lado, teniendo en cuenta la información nutricional reflejada en el etiquetado de los snacks analizados (**Tabla 36**), se puede observar que el valor energético fue similar en todas las muestras (466 kcal/100 g en las formulaciones de lenteja y 449 kcal/100 g en las de garbanzo). Los snacks elaborados a base de lenteja presentaron mayor cantidad de grasa (total y grasa saturada) y proteínas, mientras que el contenido de hidratos de carbono y de fibra fue superior en el caso de los snacks de garbanzo. Todas las muestras presentaron la misma cantidad de azúcar (2,2 g/100 g) pero distinto contenido de sal (1,89 g/100 g en LS; 1,98 g/100 g en GS; 2,6 g/100 g en GT y GE; y 2,8 g/100 g en LT y LE).

**Tabla 36.** Perfil nutricional de las formulaciones de snacks de legumbres

Información nutricional	Código de la muestra					
	Snacks de lenteja			Snacks de garbanzo		
	LS	LT	LE	GS	GT	GE
Valor energético (kcal/100g, ssf)	466	466	466	449	449	449
Grasas (g/100g, ssf)	19,5	19,9	19,5	17	17	17
Grasas saturadas (g/100g, ssf)	1,4	1,4	1,4	1,2	1,2	1,2
Hidratos de carbono (g/100g, ssf)	66	66	66	68,4	68,4	68,4
Azúcares (g/100g, ssf)	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
Fibra (g/100g, ssf)	3,2	3,2	3,2	4,5	4,5	4,5
Proteínas (g/100g, ssf)	9,3	9,3	9,3	6,5	6,5	6,5
Sal (g/100g, ssf)	1,89	2,8	2,8	1,98	2,6	2,6

LS: snack de lenteja con sal marina; LT: snack de lenteja con tomate y albahaca; LE: snack de lenteja con saborizante cremoso de eneldo; GS: snack de garbanzo con sal marina; GT: snack de garbanzo con tomate y albahaca; GE: snack de garbanzo con saborizante cremoso de eneldo.

El análisis de componentes principales (ACP) de todos los parámetros nutricionales incluidos en este estudio explica el 99,89 % de la variación total de los datos. A partir de los resultados obtenidos de este ACP, las muestras se posicionan en el gráfico en función de su composición nutricional, tal y como se observa en la **Figura 49** (apartado 5.3.2.).

El ACP nos representa gráficamente en el espacio de dos dimensiones los snacks analizados introduciendo la composición nutricional de los mismos explicando un alto porcentaje de la varianza. Los productos se distribuyen en función de su composición en los cuatro cuadrantes mostrando sus diferencias en cuanto a su valor nutricional. Las muestras GT y GE se disponen en el primer cuadrante más caracterizado por el eje o componente 1, con mayor contenido en carbohidratos y fibra mientras que los snacks que están gráficamente en el segundo cuadrante (LT y LE, con mayor contenido de grasa total y grasa saturada). Por otro lado, la muestra GS siendo rica en fibra y carbohidratos y la muestra LS se encuentran en el 3 y 4 cuadrante respectivamente y están caracterizadas principalmente en el eje 2, productos con un contenido de sal menor de entre todos los distintos tipos de snack estudiados.

Los resultados obtenidos en el presente estudio ponen de manifiesto que los consumidores españoles son capaces de discriminar entre las 6 formulaciones de snacks objeto de estudio (p

> 0,05). En general, las formulaciones de lenteja obtuvieron puntuaciones más altas que las de garbanzo, siendo las muestras GE y LE (ambas con saborizante cremoso de eneldo) las mejor valoradas por los consumidores españoles, con una puntuación media de 7,1 y 7,0 respectivamente (**Tabla 33**, apartado 5.3.2.).

Tal y como se puede observar en la **Tabla 33** del apartado 5.3.2., los consumidores que participaron en el estudio utilizaron un rango pequeño de la escala hedónica de 9 puntos, encontrándose las puntuaciones medias de los snacks entre 5,8 y 7,1 puntos. El hecho de que los consumidores puntúen las formulaciones en una zona pequeña de la escala hedónica ha sido observado previamente por otros autores, que han estudiado la aceptación de distintos snacks elaborados a partir de harina de maíz y enriquecidos con distintas fuentes de proteína, tales como proteína de soja o proteínas séricas. Estos autores confirmaron que los consumidores calificaron las muestras utilizando un pequeño rango de la escala hedónica de 9 puntos, dando puntuaciones cercanas al punto medio de la misma ([Kreger et al., 2012](#)).

Como se ha indicado anteriormente, el creciente interés de la sociedad actual por encontrar en el mercado productos nutritivos y saludables ha hecho que la industria alimentaria trabaje en el desarrollo de nuevos productos y, en este sentido, se está trabajando en la fabricación de una amplia gama de productos tipo snacks elaborados a base de distintos ingredientes, siendo fundamental llevar a cabo estudios que evalúen la aceptación de los mismos por parte de los consumidores. En esta línea, [Suknark et al. \(1998\)](#) evaluaron la aceptación entre estudiantes americanos y asiáticos de snacks de pescado y de snacks de cacahuete, obtenidos mediante el proceso de extrusión. Estos investigadores comprobaron que, por lo general, los estudiantes americanos dieron puntuaciones más altas a los snacks de cacahuete mientras que los estudiantes asiáticos evaluaron de forma más positiva los snacks de pescado. Además, se observó que los participantes del citado estudio calificaron con puntuaciones medias de 6,7 - 6,9 (sobre la escala hedónica de 9 puntos) los productos analizados, siendo estas puntuaciones similares a las que se obtuvieron en nuestro trabajo. Por otro lado, [Holmer et al. \(2012\)](#) investigaron el grado de aceptación de distintos tipos de snack (tipo barrita) por parte de niños daneses y suecos de edades comprendidas entre 8 y 11 años. Para ello utilizaron una escala hedónica de 7 puntos y los resultados de su trabajo muestran que para los escolares de ambas nacionalidades los snacks preferidos fueron los de kamut y calabaza y los de avena y arándano, siendo estos productos los que mayor cantidad de grasa presentaban (20 y 19 g de grasa por 100 g, respectivamente). Sin embargo, la formulación que recibió la calificación más baja fue la elaborada a base de centeno y espino amarillo, que contenía 1 g de grasa por 100 g.

En el caso de los snacks analizados en el presente estudio, si se considera la composición nutricional de los mismos, se observa que las formulaciones de lenteja contenían más proteína, más grasa y menos fibra. El mayor contenido de grasa se relaciona con una mayor palatabilidad de los productos alimenticios (Fernández-Ruiz et al., 2019; Landry et al., 2018), lo que podría justificar que los participantes mostraran una mayor preferencia por los snacks de lenteja. Además, nuestro estudio revela diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en relación al sexo de los participantes, ya que se observa que los hombres tienen una mayor preferencia por los snacks, dando puntuaciones más altas a este tipo de productos que las mujeres (Tabla 33, apartado 5.3.2.). Estudios previos demostraron que el consumo de snacks es mayor en el caso de la población masculina, tanto en estudiantes universitarios argentinos (De Piero et al., 2015), como en estudiantes universitarios españoles (Moreno-Gómez et al., 2012).

Si tenemos en cuenta la edad de los consumidores que participaron en el presente trabajo se puede observar que las puntuaciones que recibieron los snacks fueron similares independientemente de la edad de los catadores.

Con el fin de profundizar en los resultados obtenidos, la evaluación sensorial de los snacks de legumbres objeto de estudio se completó con la realización de un análisis de agrupación jerárquica ascendente, que clasificó a los consumidores en tres grupos o clases con distinta aceptación de los snacks evaluados (Figura 50, apartado 5.3.2.).

Basándose en la matriz de datos hedónicos agrupados en las tres clases y en relación con su composición, como se puede observar en el mapa de preferencias externo, que relaciona la preferencia de los consumidores con las características de los productos, (Figura 52), los resultados obtenidos indican que la clase 1 (26 consumidores) prefiere LT (muestra con saborizante tomate y albahaca), mientras que la clase 2 se inclina por los productos LT y LE, que se caracterizan por presentar un mayor contenido en grasa, lo que aumenta su palatabilidad. Además, los consumidores de la clase 2 (29 consumidores) dieron una baja puntuación a la muestra GS. Por último, la clase 3 (26 consumidores) es el grupo de consumidores que da las menores puntuaciones y el producto que prefiere es GE (formulado con harina de garbanzo y saborizante cremoso de eneldo), caracterizado por un mayor contenido en fibra.

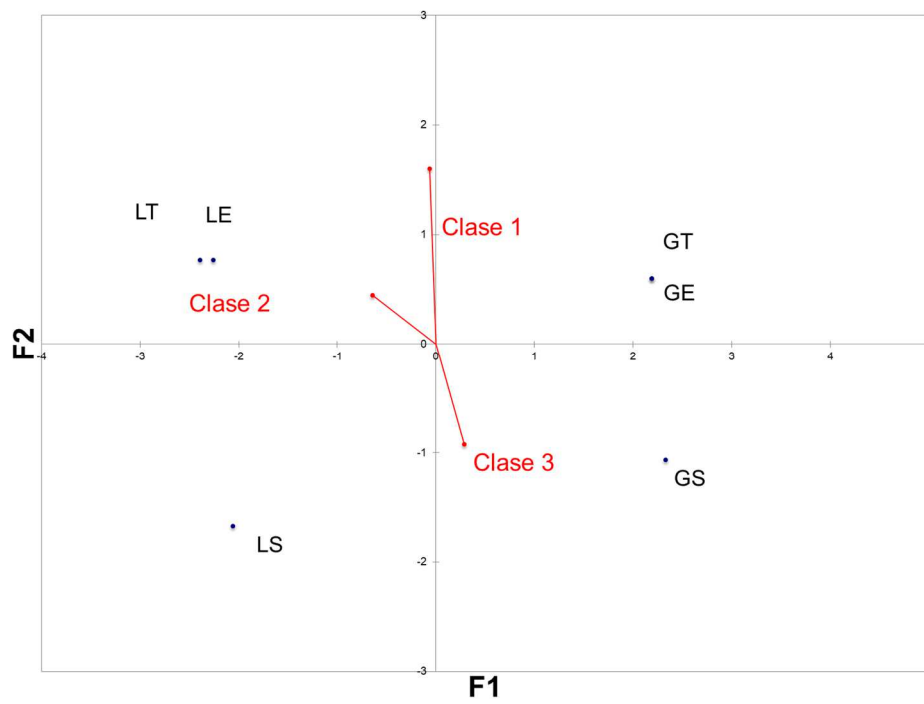


Figura 52. Mapa de preferencias externo

## **6. CONCLUSIONES / CONCLUSIONS**

## 6.1. CONCLUSIONES PARCIALES

### 1. Harinas de trigo

Tras el estudio de las distintas harinas de trigo (blanca e integral) y fracción de salvado analizadas, podemos concluir que:

- a) Las harinas de trigo procedentes de las variedades analizadas pueden considerarse una fuente importante de fibra, siendo la fibra insoluble la fracción mayoritaria, llegando a representar hasta el 96% de la fibra total.
- b) Tres de las muestras objeto de estudio (D-E#2-WF, S-C#1-WF y S-M#1-WF) cumplieron los requisitos necesarios para poder hacer uso de la declaración de propiedades saludables autorizada para los arabinoxilanos producidos a partir del albumen de trigo. El contenido de arabinoxilanos solubles fue superior en el caso de las muestras procedentes de variedades de trigo duro.
- c) Las técnicas de mejora genética tradicional permiten obtener harinas de trigo con cantidades importantes de elementos minerales, siendo posible, en la mayoría de los casos, el empleo de las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables establecidas en la legislación vigente.
- d) Las harinas de trigo objeto de estudio, especialmente las harinas integrales y fracciones de salvado, destacan por presentar compuestos con propiedades antioxidantes, tales como los tocoferoles y los compuestos fenólicos, que se relacionan con mejores resultados en los ensayos de evaluación de la capacidad antioxidante de las muestras.

### 2. Harinas de lenteja

En las harinas de lenteja enriquecidas con levadura nutricional se evaluó el efecto del proceso de extrusión sobre el contenido de compuestos bioactivos de las mismas. Además, se estudió la influencia de este proceso tecnológico sobre el contenido de algunos compuestos antinutritivos así como sobre la actividad antioxidante de las harinas objeto de estudio. Las conclusiones obtenidas fueron las siguientes:

- a) Tras la extrusión de las formulaciones objeto de estudio se observó un incremento en el contenido de fibra (especialmente soluble) y de arabinoxilanos de las mismas.
- b) En todas las muestras analizadas se identificaron el  $\alpha$ -, el  $\beta$ - y el  $\gamma$ -tocoferol, siendo este último el vitámero mayoritario. Además, se observó una disminución en el contenido de estos compuestos como consecuencia de la extrusión.

- c) Como consecuencia del tratamiento tecnológico (extrusión) se observó un incremento en el contenido de oligosacáridos tipo  $\alpha$ -galactósido,
- d) El hexósido de catequina fue el compuesto fenólico mayoritario en las harinas de lenteja analizadas. El proceso de extrusión se relacionó con una reducción en el contenido de compuestos fenólicos presentes en las mismas.
- e) Tras el tratamiento tecnológico, extrusión, se observó una marcada reducción en el contenido de compuestos antinutritivos (inositol fosfatos, inhibidores de tripsina y lectinas).
- f) Los resultados de los ensayos de evaluación de la capacidad antioxidante de las formulaciones de lenteja enriquecidas con levadura nutricional (crudas y extruidas) mostraron que las harinas analizadas presentan interesantes propiedades desde el punto de vista antioxidante.

### **3. Productos elaborados a base de harinas de cereales y de harinas de legumbres: panes y snacks**

Debido a que la industria alimentaria utiliza con frecuencia las harinas de cereales y de legumbres en la elaboración de productos alimenticios, en el presente trabajo se evaluaron distintos aspectos de la calidad nutricional y sensorial de panes elaborados a base de harinas de cereales y de snacks de legumbres, siendo posible concluir:

- a) El pan multicereal fue el que presentó un mayor contenido de proteínas, grasa total y fibra total, caracterizándose también por presentar los valores más bajos de hidratos de carbono disponibles.
- b) El pan de avena fue el que mayor valor calórico presentó. Por el contrario, el pan integral de centeno de Baviera y el pan integral de trigo fueron los de menor valor energético.
- c) El análisis del perfil lipídico muestra que los ácidos grasos poliinsaturados constituyeron la fracción mayoritaria en los panes objeto de estudio.
- d) Todos los panes analizados pueden hacer uso de las siguientes declaraciones nutricionales aprobadas por la normativa vigente: “*bajo contenido en azúcares*”, “*fuentes de cobre*” y “*fuentes de manganeso*”.
- e) El pan de centeno fue el que mayor dureza presentó, seguido del pan de centeno de Baviera y el pan multicereal. Por el contrario, el pan de avena y el pan integral de trigo fueron los de menor dureza.

- f) Se observó que la adhesividad de las muestras de pan analizadas aumentó a medida que disminuía el porcentaje de harina de trigo de las mismas, siendo el pan de centeno el que mayor adhesividad presentó.
- g) El pan integral de trigo fue el más elástico y el pan de centeno resultó el de mejor masticabilidad.
- h) Como resultado del estudio del color de los panes se comprobó que el tipo de harina no afecta a la luminosidad de los mismos. No obstante, el pan más oscuro fue el pan integral de centeno de Baviera.
- i) En relación con los snacks, los consumidores españoles son capaces de discriminar entre las 6 formulaciones de snacks objeto de estudio.
- j) En general, los snacks formulados con lenteja (con más proteína, más grasa y menos fibra) obtuvieron puntuaciones más altas que las de garbanzo, siendo las muestras GE y LE (ambas con saborizante cremoso de eneldo) las mejor valoradas por los consumidores españoles.
- k) Se observó que los hombres tienen una mayor preferencia por los snacks, ya que dieron puntuaciones más altas a estos productos que las mujeres.
- l) Las puntuaciones que recibieron los snacks evaluados fueron similares independientemente de la edad de los catadores.
- m) El análisis de agrupación jerárquica ascendente clasificó a los consumidores en tres grupos o clases. Los resultados obtenidos indican que la clase 1 (26 consumidores) prefiere LT (muestra de lenteja con saborizante tomate y albahaca), mientras que la clase 2 se inclina por los productos LT y LE, que se caracterizan por presentar un mayor contenido en grasa, lo que aumenta su palatabilidad. Además, los consumidores de la clase 2 (29 consumidores) dieron una baja puntuación a la muestra GS (muestra con menos contenido de grasa y sal). Por último, la clase 3 (26 consumidores) es el grupo de consumidores que da las menores puntuaciones y el producto que prefiere es GE (muestra de garbanzo con saborizante cremosos de eneldo), caracterizado por un mayor contenido en fibra.

## 6.2. CONCLUSIONES FINALES

Las harinas son ingredientes ampliamente utilizados en la elaboración de distintos productos alimenticios. Tradicionalmente se han empleado harinas de cereales y, especialmente de trigo, cuya principal aplicación ha sido la fabricación de pan. Sin embargo, en la actualidad los consumidores demandan productos novedosos, nutritivos y saludables, por lo que la industria alimentaria está haciendo un gran esfuerzo en el desarrollo de productos que satisfagan las exigencias de todos los grupos de población. Por un lado, cada vez es más frecuente encontrar en el mercado panes elaborados con distintos tipos de cereales y una estrategia para enriquecer estos productos desde el punto de vista nutricional así como para mejorar las propiedades tecnológicas de las harinas empleadas en su elaboración, puede ser llevar a cabo programas de mejora genética tradicional que permitan obtener variedades de cereales con un mejor perfil nutricional así como con interesantes propiedades tecnológicas. Por otro lado, el excelente perfil nutricional de las legumbres convierte a este grupo de alimentos en buenos candidatos para ser utilizados como ingredientes alternativos en la elaboración de aperitivos tipo snack. En este sentido, la extrusión es un proceso tecnológico que resulta muy interesante, ya que se ha observado que permite obtener una amplia variedad de productos. Además, se ha visto que este proceso tiene efectos beneficiosos relacionados con la composición nutricional de los productos extruidos, ya que se asocia con un aumento del contenido de fibra y arabinoxilanos así como con una reducción de algunos compuestos considerados como antinutrientes, como los inositol fosfatos, los inhibidores de tripsina o las lectinas. Por último, las técnicas de análisis sensorial constituyen una herramienta fundamental para evaluar la aceptación por parte de los consumidores de los productos alimenticios, de manera que se pueda anticipar el grado de aceptación de los mismos en el mercado.

## 6.3. PARTIAL CONCLUSIONS

### 1. Wheat flours

After studying the different wheat flours (white and whole) and the bran fraction analyzed, we can conclude that:

- a) Wheat flours from the analyzed varieties can be considered an important source of fiber, being the insoluble fiber the majority fraction and representing up to 96% of total fiber.
- b) Three of the samples under study (D-E#2-WF, S-C#1-WF y S-M#1-WF) met the necessary requirements to make use of the health claim authorized for arabinoxylans produced from the wheat albumen. The soluble arabinoxylan content was higher in the case of samples from durum wheat varieties.
- c) The traditional genetic improvement techniques make it possible to obtain wheat flours with significant amounts of mineral elements, being possible, in most cases, the use of nutrition and health claims established in the current legislation.
- d) The wheat flours subject of study, especially the whole wheat flours and bran fractions, stand out for containing compounds with antioxidant properties, such as tocopherols and phenolic compounds, which are related to better results in the tests aimed to evaluate the antioxidant capacity of the samples.

### 2. Lentil flours

In the lentil flours enriched with nutritional yeast, the effect of the extrusion process on the content of bioactive compounds was assessed. In addition, the influence of this technological process on the content of some antinutritive compounds as well as on the antioxidant activity of the flours under study was studied. The following conclusions were obtained:

- a) After extrusion of the formulations under study, an increase in the fiber (especially soluble) and arabinoxylan contents was observed.
- b) In all the analyzed samples,  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -tocopherol were identified, the latter being the major vitamer. In addition, a decrease in the content of these compounds was observed as a consequence of the extrusion process.
- c) As a consequence of the technological treatment (extrusion), an increase in the content of  $\alpha$ -galactoside type oligosaccharides was observed.

- d) Catechin hexoside was the major phenolic compound in the analyzed lentil flours. The extrusion process was related to a reduction in the content of phenolic compounds present in the analyzed samples.
- e) After the technological treatment (extrusion), a marked reduction in the content of antinutritive compounds (inositol phosphates, trypsin inhibitors and lectins) was observed.
- f) The results of the tests to evaluate the antioxidant capacity of the lentil formulations enriched with nutritional yeast (raw and extruded) showed that the analyzed flours have interesting properties from the antioxidant point of view.

### 3. Products made from cereal and legume flours: breads and snacks

Given that food industry frequently uses cereal and legume flours in the preparation of food products, in the present work different aspects of the nutritional and sensory quality of breads made from cereal flours and snacks from legumes were assessed. The following conclusions were obtained:

- a) Multigrain bread was the one that presented the highest protein, total fat and total fiber contents, as well as the lowest values of available carbohydrates.
- b) Oat bread was the one with the highest caloric value. In contrast, Bavarian rye wholemeal bread and whole wheat bread had the lowest energy value.
- c) The lipid profile analysis shows that polyunsaturated fatty acids constituted the majority fraction in the breads under study.
- d) All the analyzed breads can make use of the following nutrition claims approved by the current regulation: "*low sugar*", "*source of copper*" and "*source of manganese*".
- e) Rye bread was the one with the highest hardness, followed by Bavarian rye bread and multigrain bread. In contrast, oatmeal bread and whole wheat bread were the least hard breads.
- f) It was observed that the adhesiveness of the analyzed bread samples increased as the percentage of wheat flour in them decreased, being rye bread the one with the highest adhesiveness.
- g) Whole wheat bread was the most elastic bread and rye bread was the one with the best chewiness.
- h) As a result of the study of the color of breads, it was found that the type of flour does not affect their brightness. However, the darkest bread was Bavarian rye bread.

- i) Regarding the snacks, Spanish consumers are able to discriminate among the 6 snack formulations under study.
- j) In general, the snacks formulated with lentils (with more protein, more fat and less fiber) obtained higher scores than those of chickpea, being the GE and LE samples (both with creamy dill flavoring) the best valued by Spanish consumers.
- k) It was observed that men have a greater preference for snacks, since they gave higher scores to these products than women.
- l) The scores received by the evaluated snacks were similar regardless of the age of the tasters.
- m) The Agglomerative Hierarchical Clustering analysis classified consumers into three groups or classes. The results obtained indicate that class 1 (26 consumers) prefers LT (sample of lentils with tomato and basil flavoring), while class 2 favors LT and LE products, which are characterized by a higher fat content, which increases its palatability. In addition, consumers of class 2 (29 consumers) gave a low score to the GS sample (sample with less fat and salt content). Finally, class 3 (26 consumers) is the group of consumers that gives the lowest scores and the product they prefer is GE (chickpea sample with creamy dill flavoring), characterized by a higher fiber content.

#### 6.4. FINAL CONCLUSIONS

Flours are ingredients widely used in the production of different food products. Cereal flours have been traditionally used, especially wheat, whose main application has been the manufacture of bread. However, nowadays consumers demand novel, nutritious and healthy products, so the food industry is making a great effort to develop products that satisfy the demands of all groups of population. On the one hand, it is increasingly common to find breads made with different types of cereals on the market. A strategy to enrich these products from a nutritional point of view as well as to improve the technological properties of the flours used in their preparation, can be the implementation of traditional genetic improvement programs that allow obtaining varieties of cereals with a better nutritional profile and interesting technological properties. On the other hand, the excellent nutritional profile of legumes makes this food group a good candidate to be used as alternative ingredients in the preparation of snacks. In this sense, extrusion is a technological process quite interesting, since it has been observed that it allows to obtain a wide variety of products. In addition, it has been seen that this process has beneficial effects related to the nutritional composition of extruded products, as it is associated with an increase in fiber and arabinoxylan contents as well as with a reduction of some compounds considered antinutrients, such as inositol phosphates, trypsin inhibitors or lectins. Lastly, sensory analysis techniques are a fundamental tool for evaluating the consumer acceptance of food products, so that the degree of acceptance of them in the market can be anticipated.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

- AACC Report. (2001). The Definition of Dietary Fiber. *Cereal Foods World*, 46(3) 112-126.
- Abbaspour, N., Hurrell, R., & Kelishadi, R. (2014). Review on iron and its importance for human health. *Journal of Research in Medical Sciences*, 19: 164–174.
- Abozed, S.S., El-Kalyoubi, M., Abdelrashid, A., & Salama, M.F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant activities of various solvent extracts from whole wheat and bran. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(1): 63-67. doi: 10.1016/j.aogas.2014.06.009.
- Adams, E.L., Kroon, P.A., Williamson, G., Gilbert, H.J., & Morris, V.J. (2004). Inactivated enzymes as probes of the structure of arabinoxylans as observed by atomic force microscopy. *Carbohydrate Research*, 339: 579–590. doi:10.1016/j.carres.2003.11.023.
- AENOR (2010). Análisis sensorial. Normas UNE. Madrid: AENOR Ediciones.
- Aguilar-Garcia, C., Gavino, G., Baragaño-Mosqueda, M., Hevia, P., & Gavino, V.C. (2007). Correlation of tocopherol, tocotrienol,  $\gamma$ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. *Food Chemistry*, 102(4): 1228-1232. doi:10.1016/j.foodchem.2006.07.012.
- Aguilera, Y., Dueñas, M., Estrella, I., Hernández, T., Benitez, V., Esteban, R.M., & Martín-Cabrejas, M.A. (2010). Evaluation of phenolic profile and antioxidant properties of pardina lentil as affected by industrial dehydration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 10101–10108. doi::10.1021/jf102222t. ([2] Artículo 2).
- Akhtar, S., Anjum, F.M., & Sheikh, M.A. (2010). Effect of storage and baking on mineral contents of fortified whole wheat flour. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34(2): 335-349. doi: 10.1111/j.1745-4549.2009.00405.x.
- Akhtar, M., Tarik, A.F., Awais, M.M., Iqbal, Z., Muhammad, F., Shahid, M., & Hiszczynska-Sawicka, E. (2012). Studies on wheat bran Arabinoxylan for its immunostimulatory and protective effects against avian coccidiosis. *Carbohydrate Polymers*, 90: 333-339. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.05.048.
- Alam, M.S., Kaur, J., Khaira, H., & Gupta, K. (2016). Extrusion and extruded products: changes in quality attributes as affected by extrusion process parameters: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(3): 445-75. doi: 10.1080/10408398.2013.779568 PMID: 25574813.

- Alonso, R., Rubio, L.A., Muzquiz, M., & Marzo, F. (2001). The effect of extrusion cooking on mineral bioavailability in pea and kidney bean seed meals. *Animal Feed Science and Technology*, 94: 1-13. doi: 10.1016/S0377-8401 (01)00302-9.
- Alshikh, N., de Camargo, A.C., & Shahidi, F. (2015). Phenolics of selected lentil cultivars: Antioxidant activities and inhibition of low-density lipoprotein and DNA damage. *Journal of Functional Foods*, 18: 1022-1038. ([42] Artículo 2).
- Altan, A., McCarthy, K.L., & Maskan, M. (2009). Effect of extrusion process on antioxidant activity, total phenolics and  $\beta$ -glucan content of extrudates developed from barley-fruit and vegetable by-products. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(6): 1263-1271. doi:10.1111/j.1365-2621.2009.01956.x. ([58] Artículo 2).
- Amalraj, A., & Pius, A. (2015). Influence of Oxalate, Phytate, Tannin, Dietary Fiber, and Cooking on Calcium Bioavailability of Commonly Consumed Cereals and Millets in India. *Cereal Chemistry*, 92(4): 389-394. doi: 10.1094/CCHEM-11-14-0225-R.
- Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J.A. (2004). Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84: 551-562. doi: 10.1016/S0308-8146(03)00278-4.
- Amarowicz, R., Estrella, I., Hernández, T., Dueñas, M., Troszyńska, A., Kosińska, A., & Pegg, R. B. (2009). Antioxidant activity of a red lentil extract and its fractions. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(12): 5513-5527. ([39] Artículo 2).
- Amarowicz, R., Estrella, I., Hernández, T., Robredo, S., Troszyńska, A., Kosińska, A., & Pegg, R. B. (2010). Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Food chemistry*, 121(3): 705-711. ([1] Artículo 2).
- Anderson, J.W., Baird, P., Davis Jr, R.H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V., & Williams, C.L. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67(4): 188–205. doi:10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x.
- Anjum, F.M., Butt, M.S., Ahmad, N., & Ahmad, I. (2002). Phytate and mineral content in different milling fractions of some Pakistani spring wheats. *International Journal of Food Science & Technology*, 37(1): 13-17.

- Annor, G.A., Ma, Z., & Boye, J.I. (2014). Crops – Legumes. In: Clark S, Jung S, Lamsal, B, Eds. Food Processing: Principles and Applications. John Wiley & Sons, Ltd. Second Edition. pp. 305-337.
- Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127: 183-198. doi: DOI: 10.1039/b009171p.
- Arcila, J.A., Weier, S.A., & Rose, D. J. (2015). Changes in dietary fiber fractions and gut microbial fermentation properties of wheat bran after extrusion and bread making. *Food Research International*: 74, 217-223. doi: 10.1016/j.foodres.2015.05.005
- Arribas, C., Pereira, E., Barros, L., Alves, M.J., Calhella, R.C., Guillamón, E., Pedrosa, M.M., & Ferreira, I. C. (2019a). Healthy novel gluten-free formulations based on beans, carob fruit and rice: Extrusion effect on organic acids, tocopherols, phenolic compounds and bioactivity. *Food chemistry*, 292: 304-313. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.04.074.
- Arribas, C., Cabellos, B., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M.M. (2019b). Bioactive compounds, antioxidant activity, and sensory analysis of rice-based extruded snacks-like fortified with bean and carob fruit flours. *Foods*, 8(9): 381. doi:10.3390/foods8090381.
- Arribas, C., Cabellos, B., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M. M. (2019c). The effect of extrusion on the bioactive compounds and antioxidant capacity of novel gluten free expanded products based on carob fruit, pea and rice blends. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 52: 100–107. doi:10.1016/j.ifset.2018.12.003.
- Arribas, C., Cabellos, B., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M.M. (2019d). Extrusion effect on proximate composition, starch and dietary fibre of ready-to-eat products based on rice fortified with carob fruit and bean. *LWT*, 111: 387-393. doi: 10.1016/j.lwt.2019.05.064.
- Askwith, C., & Kaplan, J. (1998). Iron and copper transport in yeast and its relevance to human disease. *Trends in Biochemical Sciences*, 23: 135–138.
- Aune, D., De Stefani, E., Ronco, A., Boffetta, P., Deneo-Pellegrini, H., Acosta, G., & Mendilaharsu, M. (2009). Legume intake and the risk of cancer: a multisite case-control study in Uruguay. *Cancer causes control*, 20: 1605-1615. doi: 10.1007/s10552-009-9406-z.

- Avilés-Gaxiola, S., Chuck-Hernández, C., & Serna Saldívar, S.O. (2018). Inactivation Methods of Trypsin Inhibitor in Legumes: A Review. *Journal of Food Science*, 83, 1: 17-29 . doi:10.1111/1750-3841.13985.
- Ayala-Soto, F.E., Serna-Saldívar, S.O., García-Lara, S., & Pérez-Carrillo, E. (2014). Hydroxycinnamic acids, sugar composition and antioxidant capacity of arabinoxylans extracted from different maize fiber sources. *Food Hydrocolloids*, 35: 471-475. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.07.004.
- Bacchetti, T., Masciangelo, S., Micheletti, A., & Ferretti, G. (2013). Carotenoids, phenolic compounds and antioxidant capacity of five local Italian corn (*Zea mays* L.) kernels. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 3(6): 237. doi: 10.4172/2155-9600.1000237
- Bach-Faig, A., Fuentes-Bol, C., Ramos, D., Carrasco, J.L., Roman, B., Bertomeu, I.F., Cristià, E., Geleva, D., & Serra-Majem, L. (2010). The Mediterranean diet in Spain: adherence trends during the past two decades using the Mediterranean Adequacy Index. *Public Health Nutrition*, 14(4): 622–628. doi:10.1017/S1368980010002752.
- Bağcı, A., Gecgel, Ü., Dursun, N., Özcan, M. M., Tamkoç, A., Özer, İ., & Özcan, M.M. (2019). The Oil Yield, Mineral Content, and Fatty Acid Compositions of Some Rye (*Secale cereale*) Grains. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 38(5): 285-292.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1): 191-203. doi:10.1016/j.foodchem.2005.07.042.
- Baldassano, S., Accardi, G., & Vasto, S. (2017). Beta-glucans and cáncer: The influence of inflammation and gut peptide. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 142: 486-492. doi: 10.1016/j.ejmech.2017.09.013.
- Barbado Domínguez, J.A. (2019). Variabilidad genética para vernalización y fotoperiodo en una colección de variedades locales españolas de trigo duro. Trabajo de Fin de Grado. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid. España.

- Barczak, B., Jastrzębska, M., & Kostrzewska, M.K. (2019). Biofortification of spring barley grain with microelements through sulfur fertilization. *Journal of Chemistry*, 2019. doi: 10.1155/2019/8214298.
- Barros Santos, M.C., da Silva Lima, L.R., Nascimento, F.R., do Nascimento, T.P., Cameron, L.C., & Ferreira, M.S.L. (2019). Metabolomic approach for characterization of phenolic compounds in different wheat genotypes during grain development. *Food Research International*, 124: 118-128. doi: 10.1016/j.foodres.2018.08.034
- Barros, L., Baptista, P., Correia, D.M., Casal, S., Oliveira, B., & Ferreira, I.C.F.R. (2007). Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chemistry*, 105: 140–145.
- Barros, L., Correia, D.M., Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P., & Santos-Buelga, C. (2008a). Optimization of the determination of tocopherols in *Agaricus* sp. edible mushrooms by a normal phase liquid chromatographic method. *Food Chemistry*, 110: 1046-1050. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.03.016.
- Barros, L., Venturini, B.A., Baptista, P., Estevinho, L.M., & Ferreira, I.C.F.R. (2008b). Chemical composition and biological properties of portuguese wild mushrooms: A comprehensive study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 3856-3862. doi: 10.1021/jf8003114.
- Batista, K.A., Prudêncio, S.H., & Fernandes, K.F. (2010). Changes in the Functional Properties and Antinutritional Factors of Extruded Hard-to-Cook Common Beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). *Journal of Food Science*, 75: 3, 286-290. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01557.x.
- Belitz, H., & Grosch, W. (1997). *Química de los Alimentos*. (2th ed.). Spain: ACRIBIA S.A.
- Beloshapka, A.N., Buff, P.R., Fahey, G.C., & Swanson, K.S. (2016). Compositional analysis of whole grains, processed grains, grain co-products, and other carbohydrate sources with applicability to pet animal nutrition. *Foods*, 5(2), 23. doi:10.3390/foods5020023.
- Benincasa, P., Galieni, A., Manetta, A.C., Pace, R., Guiducci, M., Pisante, M., & Stagnari, F. (2015). Phenolic compounds in grains, sprouts and wheatgrass of hulled and non-hulled wheat species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95: 1795-1803. doi: 10.1002/jsfa.6877.

- Berk, Z. (2018). Extrusion. In: Food Process Engineering and Technology. (3<sup>rd</sup> Ed.). Elsevier.
- Berker, K.I., Güçlü, K., Tor, I., & Apak, R. (2007). Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, bathophenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*, 72: 1157-1165. doi: 10.1016/j.talanta.2007.01.019.
- Berker, K. I., Güçlü, K., Tor, İ., Demirata, B., & Apak, R. (2010). Total antioxidant capacity assay using optimized ferricyanide/prussian blue method. *Food Analytical Methods*, 3(3): 154-168.
- Berrios, J.D.J., Cámara, M., Torija, M.E., & Alonso, M. (2002). Effect of extrusion cooking and sodium bicarbonate addition on the carbohydrate composition of black bean flours. *Journal of Food Processing and Preservation*, 26(2): 113-128. ([14] Artículo 2).
- Berrios, J. D. J. (2006). "Extrusion cooking of legumes: Dry Bean Flours." In D. Heldman, & C. Moraru (Eds.), *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering* (pp. 1-8). Taylor & Francis., London. ([13] Artículo 2).
- Berrios, J. D. J., Tang, J., & Swanson, B. G. (2008). Extruded legumes, US patent application publication no. 2008/0145483A1. ([16] Artículo 2).
- Berrios, J.D.J., Morales, P., Cámara, M., & Sánchez-Mata, M.C. (2010). Carbohydrate composition of raw and extruded pulse flours. *Food Research International*, 43(2): 531–536. doi:10.1016/j.foodres.2009.09.035. ([5] Artículo 2).
- Berrios, J. D. J., Cheong, W. H., & Jüsten, P. (2013). Legume Food Products Containing Yeast Autolysate, Extruded Patent Application Publication US2013/0071491A1. ([15] Artículo 2).
- Berrios, J. D. J., Ramírez-Ascheri, J. L., & Losso, J. N. (2013). Extrusion processing of dry beans and pulses. In M. Siddiq, & M. A. Uebersax (Eds.), *Dry Beans and Pulses – Production, Processing and Nutrition* (pp. 185-203). Wiley-Blackwell, John Wiley & Son, Inc., Ames, IA.
- Bessada, S.M., Barreira, J.C.M., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R. & Oliveira, M.B.P.P. (2016). Phenolic profile and antioxidant activity of *Coleostephus myconis* (L.) Rchb. f.: An

- underexploited and highly disseminated species, *Industrial Crops and Products*, 89, 45–51. ([21] Artículo 2).
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E., & Sapirstein, H.D. (2005). Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. *Cereal Chemistry*, 82: 390–393. doi: 10.1094/CC-82-0390. ([30] Artículo 1).
- Bhutia, S.K., Panda, P.K., Sinha, N., Praharaj, P.P., Bhol, C.S., Panigrahi, D.P., Mahapatra, K.K., Saha, S., Patra, S., Mishra, S.R., Behera, B.P., Patil, S., & Behera, B. P. (2019). Plant lectins in cancer therapeutics: Targeting apoptosis and autophagy-dependent cell death. *Pharmacological Research*, 144: 8-18. doi: 10.1016/j.phrs.2019.04.001.
- Billingsley, H.E., & Carbone, S. (2018). The antioxidant potential of the Mediterranean Diet in patients at high cardiovascular risk: an in-depth review of the PREDIMED. *Nutrition & Diabetes*, 8(1): 1-8. doi: 10.1038/s41387-018-0025-1.
- Boschin, G., & Arnoldi, A. (2011). Legumes are valuable sources of tocopherols. *Food Chemistry*, 127(3): 1199-1203. doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.124.
- Boukid, F., Gentilucci, V., Vittadini, E., De Montis, A., Rosta, R., Bosi, S., Dinelli, G. & Carini, E. (2020). Rediscovering bread quality of “old” Italian wheat (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*.) through an integrated approach: Physicochemical evaluation and consumers’ perception. *LWT*, 122: 109043. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109043.
- Brier, N.D., Gomand, S.V., Donner, E., Paterson, D., Delcour, J.A., Lombi, E., & Smolders, E. (2015). Distribution of minerals in wheat grains (*Triticum aestivum* L.) and in roller milling fractions affected by pearling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(4): 1276-1285. doi: 10.1021/jf5055485.
- Broekaert, W.F., Courtin, C.M., Verbeke, K., Van de Wiele, T., Verstraete, W., & Delcour, J.A. (2011). Prebiotic and Other Health-Related Effects of Cereal-Derived Arabinoxylans, Arabinoxylan-Oligosaccharides, and Xylooligosaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51: 178-194. doi: 10.1080/10408390903044768. ([24] Artículo 1).
- Brouns, F., Hemery, Y., Price, R., & Anson, N.M. (2012). Wheat aleurone: separation, composition, health aspects, and potential food use. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6): 553-568. doi: 10.1080/10408398.2011.589540.

- Bryngelsson, S., Dimberg, L.H., & Kamal-Eldin, A. (2002). Effects of commercial processing on levels of antioxidants in oats (*Avena sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7): 1890-1896. doi: 10.1021/jf011222z.
- BucSELLA, B., Molnar, D., Harasztos, A.H., & Tömösközi, S. (2016). Comparison of the rheological and end-product properties of an industrial aleurone-rich wheat flour, whole grain wheat and rye flour. *Journal of Cereal Science* 69: 40-48. doi: 10.1016/j.jcs.2016.02.007.
- Bumrungpert, A., Lilitchan, S., Tuntipopipat, S., Tirawanchai, N., & Komindr, S. (2018). Ferulic acid supplementation improves lipid profiles, oxidative stress, and inflammatory status in hyperlipidemic subjects: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Nutrients*, 10(6): 713. doi:10.3390/nu10060713.
- Burbank, A.J., Duran, C.G., Pan, Y., Burns, P., Jones, S., Jiang, Q., Yang, C., Jenkins, S.L., Wells, H., Alexis, N., Kesimer, M., Bennett, W.D., Zhou, H., Peden, D.B., & Hernandez, M.L. (2018). Gamma tocopherol-enriched supplement reduces sputum eosinophilia and endotoxin-induced sputum neutrophilia in volunteers with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 141(4): 1231–1238. doi:10.1016/j.jaci.2017.06.029.
- Burbano, C., Muzquiz, M., Osagie, A., Ayet, G., & Cuadrado, C. (1995). Determination of phytate and lower inositol phosphates in Spanish legumes by HPLC methodology. *Food Chemistry*, 52: 321–325. doi: 10.1016/0308-8146(95)92831-4.
- Burton, R.A., & Fincher, G.B. (2014). Plant cell wall engineering: applications in biofuel production and improved human health. *Current Opinion in Biotechnology*, 26: 79–84. doi: 10.1016/j.copbio.2013.10.007.
- Butt, M.S., Tahir-Nadeem, M., Khan, M.K.I., Shabir, R., & Butt, M.S. (2008). Oat: unique among the cereals. *European Journal of Nutrition*, 47(2): 68-79. DOI 10.1007/s00394-008-0698-7.
- Cáceres, P.J., Martínez-Villaluenga, C., Amigo, L., & Frias, J. (2014). Assessment on Proximate Composition, Dietary Fiber, Phytic Acid and Protein Hydrolysis of Germinated Ecuatorian Brown Rice. *Plants Foods for Human Nutrition*, 69(3): 261-267. doi: 10.1007/s11130-014-0433-x.

- Călinoiu, L.F., & Vodnar, D.C. (2018). Whole Grains and Phenolic Acids: A Review on Bioactivity, Functionality, Health Benefits and Bioavailability. *Nutrients*, 10: 1615. doi:10.3390/nu10111615. ([31] Artículo 1).
- Callejo, M.J. (2011). Present situation on the descriptive sensory analysis of bread. *Journal of Sensory Studies*, 26(4), 255-268. doi: 10.1111/j.1745-459X.2011.00341.x.
- Câmara, C.R., Urrea, C.A., & Schlegel, V. (2013). Pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as a functional food: implications on human health. *Agriculture*, 3(1): 90-111. ([23] Artículo 2).
- Camara, M., Fernandez-Ruiz, V., Morales, P., & Sanchez-Mata, M.C. (2017). Fiber compounds and human health. *Current Pharmaceutical Design*, 23(19): 2835-2849. doi: 10.2174/1381612823666170216123219.
- Camire, M.E., & Flint, S.I. (1991). Thermal processing effects on dietary fiber composition and hydration capacity in corn meal, oat meal, and potato peels. *Cereal Chemistry*, 68(6): 645-647. ([31] Artículo 2).
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., & Oomah, B.D. (2010). Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, 43: 461-482. doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01292.x.
- Cao, L., Liu, X., Qian, T., Sun, G., Guo, Y., Chang, F., Zhou, S., & Sun, X. (2011). Antitumor and immunomodulatory activity of arabinoxylans: A major constituent of wheat bran. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48: 160-164. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2010.10.014.
- Carbajal, A. (2013) Manual de Nutrición y Dietética. Disponible en: <https://www.ucm.es/nutricioncarbajal/manual-de-nutricion>. (Acceso: 29/02/2020).
- Cardador-Martínez, A., Martínez-Tequitlalpan, Y., Gallardo-Velazquez, T., Sánchez-Chino, X.M., Martínez-Herrera, J., Corzo-Ríos, L.J., & Jiménez-Martínez, C. (2020). Effect of Instant Controlled Pressure-Drop on the Non-Nutritional Compounds of Seeds and Sprouts of Common Black Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Molecules*, 25(6): 1464. doi:10.3390/molecules25061464.

- Cardone, G., D’Incecco, P., Casiraghi, M.C., & Marti, A. (2020). Exploiting Milling By-Products in Bread-Making: The Case of Sprouted Wheat. *Foods*, 9(3): 260. doi:10.3390/foods9030260.
- Carocho, M., & Ferreira, I.C.F.R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51: 15–25. doi: 10.1016/j.fct.2012.09.021. ([39] Artículo 1).
- Carocho, M., Barreira, J.C.M., Barros, L., Bento, A., Cámara, M., Morales, P., & Ferreira, I.C.F.R. (2015). Traditional pastry with chestnut flowers as natural ingredients: An approach of the effects on nutritional value and chemical composition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 44: 93–101.
- Carpenter, R.P., Lyon, D.H., Hasdell, T. A., & Aguilera, M. A. (2009). Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de alimentos. Zaragoza: Editorial ACRIBIA, S.A.
- Carrillo, J.M., Martínez, M.C., Moita Brites, C., Nieto-Taladriz, M.T., & Vázquez, J.F. (2000). Relationship between endosperm proteins and quality in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Options méditerranéennes*, 40: 463-467.
- Carrillo Becerril, J.M. (2012). La mejora genética y la diversidad cultivada en trigo. En: La agrobiodiversidad como fuente de beneficio. Simó Cruanyes, J., & Casañas Artigas, F. (Eds.). Barcelona. España.
- Carvalho, A.V., de Andrade Mattietto, R., de Oliveira Rios, A., de Almeida Maciel, R., Moresco, K.S., & de Souza Oliveira, T.C. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity of pepper (*Capsicum* sp.) genotypes. *Journal of Food Science and Technology*, 52(11): 7457-7464. doi: 10.1007/s13197-015-1833-0
- Castro-Quezada, I., Román-Viñas, B., & Serra-Majem, L. (2014). The Mediterranean Diet and Nutritional Adequacy: A Review. *Nutrients*, 6: 231-248. doi:10.3390/nu6010231.
- Chander, S., Meng, Y., Zhang, Y., Yan, J., & Li, J. (2008). Comparison of nutritional traits variability in selected eighty-seven inbreds from Chinese maize (*Zea mays* L.) germplasm. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(15): 6506-6511. doi: 10.1021/jf7037967.

- Chandra, M.V., & Shamasundar, B.A. (2015). Texture profile analysis and functional properties of gelatin from the skin of three species of fresh water fish. *International Journal of Food Properties*, 18: 572–584.
- Chappell, A., Scott, K.P., Griffiths, I.A., Cowan, A.A., Hawes, C., Wishart, J., & Martin, P. (2017). The agronomic performance and nutritional content of oat and barley varieties grown in a northern maritime environment depends on variety and growing conditions. *Journal of Cereal Science*, 74: 1-10. 10.1016/j.jcs.2017.01.005.
- Chaquilla-Quilca, G., Balandrán-Quintana, R.R., Huerta-Ocampo, J.A., Ramos-Clamont Montfort, G., & Luna-Valdez, J.G. (2018). Identification of proteins contained in aqueous extracts of wheat bran through a proteomic approach. *Journal of Cereal Science*, 80: 31e36. doi: 10.1016/j.jcs.2018.01.005.
- Chen, M.H., Bergman, C.J., McClung, A.M., Everette, J.D., & Tabien, R.E. (2017). Resistant starch: Variation among high amylose rice varieties and its relationship with apparent amylose content, pasting properties and cooking methods. *Food Chemistry*, 234: 180-189. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.170.
- Chen, Z., Li, S., Fu, Y., Li, C., Chen, D., & Chen, H. (2019). Arabinoxylan structural characteristics, interaction with gut microbiota and potential health functions. *Journal of Functional Foods*, 54: 536-551. doi: 10.1016/j.jff.2019.02.007.
- Ciccoritti, R., Scalfati, G., Cammerata, A., & Sgrulletta, D. (2011). Variations in Content and Extractability of Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. var *durum*) Arabinoxylans Associated with Genetic and Environmental Factors. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(7): 4536-4549. doi: 10.3390/ijms12074536.
- Ciudad-Mulero, M., Barros, L., Fernandes, A., Berrios, J.D.J., Cámara, M., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., & Ferreira, I.C.F.R. (2018). Bioactive compounds and antioxidant capacity of extruded snack-type products developed from novel formulations of lentil and nutritional yeast flours. *Food & Function*, 9: 819-829. doi: 10.1039/c7fo01730h. ([8] Artículo 1).
- Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Matallana-González, M.C., & Morales, P. (2019). “Chapter 2: Dietary fiber sources and human benefits: The case study of cereal and

- pseudocereals". In: Ferreira ICFR, Barros L (eds) *Advances in Food and Nutrition Research. Functional Food Ingredients from Plants*, 90: 83-134.
- Ciudad-Mulero, M., Barros, L., Fernandes, A., Ferreira, I.C.F.R., Callejo, M.J., Matallana-González, M.C., Fernández-Ruiz, V., Morales, P., & Carrillo, J.M. (2020a). Potential Health Claims of Durum and Bread Wheat Flours as Functional Ingredients. *Nutrients*, 12, 504. doi:10.3390/nu12020504.
- Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Cuadrado, C., Arribas, C., Pedrosa, M.M., Berrios, J. D. J., Pan, J. & Morales, P. (2020b). Novel gluten-free formulations from lentil flours and nutritional yeast: Evaluation of extrusion effect on phytochemicals and non-nutritional factors. *Food Chemistry*, 315: 126175. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126175.
- Collar, C., & Angioloni, A. (2014). Nutritional and functional performance of high  $\beta$  glucan barley flours in breadmaking: mixed breads versus wheat breads. *European Food Research and Technology*, 238: 459-469. doi: 10.1007/s00217-013-2128-1.
- Conejos, J.R.V., Acda, S.P., Capitan, S.S., Agbisit, E.M., & Merca, F.E. (2012). Mannan Oligosaccharides from Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) Cell Wall Improves Nutrient Digestibility and Intestinal Morphology of Growing Pigs [*Sus domesticus* (Erleben)]. *The Philippine Agricultural Scientist*, 95: 305-311.
- Coşan, D.T., Saydam, F., Özbayer, C., Doğaner, F., Soyocak, A., Güneş, H.V., Değirmenci, I., Kurt, H., Üstüner, M.C., & Bal, C. (2015). Impact of tannic acid on blood pressure, oxidative stress and urinary parameters in L-NNA-induced hypertensive rats. *Cytotechnology*, 67(1): 97-105. doi: 10.1007/s10616-013-9661-4.
- Cuadrado, C., Hajos, G., Burbano, C., Pedrosa, M. M., Ayet, G., Muzquiz, M., & Gelencser, E. (2002). Effect of natural fermentation on the lectin of lentils measured by immunological methods. *Food and Agricultural Immunology*, 14: 41–49. doi: 10.1080/09540100220137655..
- Cuadrado, C., Takacs, K., Szabó, E. E., & Pedrosa, M. M. (2019). Non-nutritional factors (Lectins, Phytic acid, Proteases Inhibitors, Allergens). In M. A. Martin Cabrejas (Eds.), *Legumes: Nutritional Quality, Processing and Potential Health Benefits* (pp. 152-176).

- Serie: Food Chemistry, Function and Analysis. Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK.
- Cubero, J.I. (2003). Introducción a la mejora genética vegetal (2ª Ed.). Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Cubadda, F., Aureli, F., Raggi, A., & Carcea, M. (2009). Effect of milling, pasta making and cooking on minerals in durum wheat. *Journal of Cereal Science*, 49(1): 92-97. doi:10.1016/j.jcs.2008.07.008.
- Dai, F.J., & Chau, C.F. (2017). Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25: 37-42. doi: 10.1016/j.jfda.2016.09.006.
- Dangi, A.K., Dubey, K.K., & Shukla, P. (2017). Strategies to Improve *Saccharomyces cerevisiae*: Technological Advancements and Evolutionary Engineering. *Indian Journal of Microbiology*, 57, 4, 378–386. <https://doi.org/10.1007/s12088-017-0679-8>.
- Davison, K.M., & Temple, N.J. (2018). Cereal fiber, fruit fiber, and type 2 diabetes: Explaining the paradox. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 32: 240–245. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2017.11.002.
- De Almeida Costa, G.E., da Silva Queiroz-Monici, K., Reis, S.M.P.M., & de Oliveira, A.C. (2006). Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chemistry*, 94(3): 327-330. doi:10.1016/j.foodchem.2004.11.020. ([22] Artículo 2).
- Brier, N.D., Gomand, S.V., Donner, E., Paterson, D., Delcour, J.A., Lombi, E., & Smolders, E. (2015). Distribution of minerals in wheat grains (*Triticum aestivum* L.) and in roller milling fractions affected by pearling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(4): 1276-1285. doi: 10.1021/jf5055485.
- De Lorenzo Carretero, C., & Guasch Pereira, L.M. (2017). Legumbres del campo al plato: un viaje en imágenes. En: Legumbres salud sostenible. IMIDRA (Ed.). Madrid, España.
- De Morais Cardoso, L., Pinheiro, S.S., de Carvalho, C.W.P., Queiroz, V.A.V., de Menezes, C.B., Moreira, A.V.B., Ribeiro de Barros, F.A., Awika, J.M., Duarte Martino, H.S., & Pinheiro-Sant'Ana, H.M. (2015). Phenolic compounds profile in sorghum processed by

- extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. *Journal of Cereal Science*, 65: 220-226. ([52] Artículo 2).
- De Oliveira Maximino, J.V., Barros, L.M., Pereira, R.M., de Santi, I.I., Aranha, B.C., Busanello, C., Viana, V.E., Freitag, R.A., Batista, B.L., de Oliveira, A.C. & Pegoraro, C. (2020). Mineral and Fatty Acid Content Variation in White Oat Genotypes Grown in Brazil. *Biological Trace Element Research*, 1-13. doi: 10.1007/s12011-020-02229-1.
- De Piero, A., Bassett, N., Rossi, A., & Sammán, N. (2015). Tendencia en el consumo de alimentos de estudiantes universitarios. *Nutrición Hospitalaria*, 31(4): 1824-1831. doi:10.3305/nh.2015.31.4.8361.
- De Pilli, T., & Alessandrino O. (2020). Effects of different cooking technologies on biopolymers modifications of cereal-based foods: Impact on nutritional and quality characteristics review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(4): 556-565. doi: 10.1080/10408398.2018.1544884.
- De Santis, M.A., Kosik, O., Passmore, D., Flagella, Z., Shewry, P.R., & Lovegrove, A. (2018). Comparison of the dietary fibre composition of old and modern durum wheat (*Triticum turgidum* spp. *durum*) genotypes. *Food Chemistry*, 244: 304–310. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.09.143. ([23] Artículo 1).
- Decreto 2181/1975, de 12 de septiembre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la Elaboración. BOE núm. 220, de 13 de septiembre de 1975. Referencia: BOE-A-1975-19200.
- Decreto 2484/1967, de 21 de septiembre, por el que se aprueba el texto del Código Alimentario Español. BOE N°. 248, de 17 de octubre de 1967. Referencia: BOE-A-1967-16485.
- Delgado, C., & Guinard, J.X. (2012). Internal and external quality mapping as a new approach to the evaluation of sensory quality—A case study with olive oil. *Journal of Sensory Studies*, 27(5): 332-343. doi:10.1111/joss.12000.
- Delgado-Andrade, C., Olías, R., Jiménez-López, J., & Clemente, A. (2016). Aspectos de las legumbres nutricionales y beneficiosos para la salud humana. *Arbor*, 192 (779): 1-13. doi: 10.3989/arbor.2016.779n3003.

- Delgado-Licon, E., Ayala, A.L.M., Rocha-Guzman, N.E., Gallegos-Infante, J.A., Atienzo-Lazos, M., Drzewiecki, J., Martínez-Sánchez, C.E., & Gorinstein, S. (2009). Influence of extrusion on the bioactive compounds and the antioxidant capacity of the bean/corn mixtures. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(6): 522-532. ([53] Artículo 2).
- Delgado-Nieblas, C.I., Zazueta-Morales, J.J., Gallegos-Infante, J.A., Aguilar-Palazuelos, E., Camacho-Hernández, I.L., Ordorica-Falomir, C.A., Pires de Melo, M., & Carrillo-López, A. (2015). Elaboration of functional snack foods using raw materials rich in carotenoids and dietary fiber: effects of extrusion processing. *CYTA – Journal of Food*, 13: 69-79. doi: 10.1080/19476337.2014.915892. ([30] Artículo 2).
- Demirbas, A. (2005).  $\beta$ -Glucan and mineral nutrient contents of cereals grown in Turkey. *Food Chemistry*, 90: 773-777. doi:10.1016/j.foodchem.2004.06.003.
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., & Patil, R.T. (2012). Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3): 255-266. doi: 10.1007/s13197-011-0365-5.
- Djurle, S., Andersson, A.A.M., & Andersson, R. (2016). Milling and extrusion of six barley varieties, effects on dietary fibre and starch content and composition. *Journal of Cereal Science* 72: 146-152. doi: 10.1016/j.jcs.2016.09.017.
- Do Carmo, C.S., Varela, P., Poudroux, C., Dessev, T., Myhrer, K., Rieder, A., Zobel, H., Sahlstrøm, S., & Knutsen, S.H. (2019). The impact of extrusion parameters on physicochemical, nutritional and sensorial properties of expanded snacks from pea and oat fractions. *LWT*, 112: 108252. doi: 10.1016/j.lwt.2019.108252.
- Dodevska, M.S., Djordjevic, B.I., Sobajic, S.S., Miletic, I.D., Djordjevic, P.B., & Dimitrijevic-Sreckovic, V.S. (2013). Characterisation of dietary fibre components in cereals and legumes used in Serbian diet. *Food Chemistry*, 141: 1624-1629. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.05.078. ([34] Artículo 2).
- Dodevska, M., Šobajić, S., & Djordjević, B. (2015). Fibre and polyphenols of selected fruits, nuts and green leafy vegetables used in Serbian diet. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 80(1): 21-33. doi: 10.2298/JSC140407062D.

- Dogan, H., Gueven, A., Hicsa & smaz, Z. (2013). Extrusion cooking of lentil flour (*Lens culinaris*-red)-corn starch-corn oil mixtures. *International Journal of Food Properties*, 16:341-358. doi: 10.1080/10942912.2011.551866.
- Domínguez Díaz, L., Fernández-Ruíz, V., & Cámara, M. (2019). The frontier between nutrition and pharma: The international regulatory framework of functional foods, food supplements and nutraceuticals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29: 1-9. doi: 10.1080/10408398.2019.1592107. ([14] Artículo 1).
- Douglas, S.G. (1981). A rapid method for the determination of Pentosans in wheat flour. *Food Chemistry*, 7: 139-145. doi: 10.1016/0308-8146(81)90059-5. ([18] Artículo 2).
- Dower, J.I., Geleijnse, J.M., Gijsbers, L., Zock, P.L., Kromhout, D., & Hollman, P.C. (2015). Effects of the pure flavonoids epicatechin and quercetin on vascular function and cardiometabolic health: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 101(5): 914-921. doi: 10.3945/ajcn.114.098590.
- Dueñas, M., Hernandez, T., & Estrella, I. (2006). Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chemistry*, 98(1): 95-103. doi:10.1016/j.foodchem.2005.05.052. ([36] Artículo 2).
- Dueñas, M., Hernández, T., & Estrella, I. (2007). Changes in the content of bioactive polyphenolic compounds of lentils by the action of exogenous enzymes. Effect on their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 101(1): 90-97. ([37] Artículo 2).
- Dueñas, M., Sarmiento, T., Aguilera, Y., Benitez, V., Mollá, E., Esteban, R.M., & Martín-Cabrejas, M. A. (2016). Impact of cooking and germination on phenolic composition and dietary fibre fractions in dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and lentils (*Lens culinaris* L.). *LWT-Food Science and Technology*, 66: 72-78. doi: 10.1016/j.lwt.2015.10.025. ([44] Artículo 2).
- Durá Travé, T., & Castroviejo Gandarias, A. (2011). Adherencia a la dieta mediterránea en la población universitaria. *Nutrición Hospitalaria*, 26(3): 602-608. doi:10.3305/nh.2011.26.3.4891.

- Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E.B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A.A., Novellino, E., & Santini, A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, 33(9): 2221-2243. DOI: 10.1002/ptr.6419.
- Edwards, R.H., Becker, R., Mossman, A.P., Gray, G.M. & Whitehand, L. C. (1994). Twin-screw extrusion cooking of small white beans (*Phaseolus vulgaris*). *LWT-Food Science and Technology*, 27, 472-81. <https://doi.org/10.1006/fstl.1994.1095>.
- EFSA. European Food Safety Authority. (2010). Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA); Scientific Opinion on Dietary Reference Values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, 8(3): 1462. doi:10.2903/j.efsa.2010.1462. ([22] Artículo 1).
- Egal, A., & Oldewage-Theron, W. (2019). Extruded food products and their potential impact on food and nutrition security. *South African Journal of Clinical Nutrition*, 1-2. doi: 10.1080/16070658.2019.1583043.
- El-Salhy, M., Ystad, S.O., Mazzawi, T., & Gundersen, D. (2017). Dietary fiber in irritable bowel syndrome (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 40: 607-613. doi: 10.3892/ijmm.2017.3072.
- Encarnação, J.C., Abrantes, A.M., Pires, A.S., & Botelho, M.F. (2015). Revisit dietary fiber on colorectal cancer: butyrate and its role on prevention and treatment. *Cancer Metastasis Reviews*, 34: 465–478. doi: 10.1007/s10555-015-9578-9.
- Encarnação, J.C., Pires, A.S., Amaral, R.A., Gonçalves, T.J., Laranjo, M., Casalta-Lopes, J.E., Gonçalves, A.C., Sarmiento-Ribeiro, A.B., Abrantes, A.M., Botelho, M.F. (2018). Butyrate, a dietary fiber derivative that improves irinotecan effect in colon cancer cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 56: 183–192. doi: 10.1016/j.jnutbio.2018.02.018.
- Engelsen, M.M., & Hansen, A. (2009). Tocopherol and Tocotrienol Content in Commercial Wheat Mill Streams. *Cereal Chemistry*, 86: 499–502. doi: 10.1094/CCHEM-86-5-0499. ([2] Artículo 1).
- Escarnot, E., Dornez, E., Verspreet, J., Agneessens, R., & Courtin, C.M. (2015). Quantification and visualization of dietary fibre components in spelt and wheat kernels. *Journal of Cereal Science*, 62: 124-133. doi: 10.1016/j.jcs.2015.01.003.

- Espinal-Ruiz, M., Parada-Alfonso, F., Restrepo-Sánchez, L.P., Narváez-Cuenca, C.E., & McClements, J. (2014). Interaction of a Dietary Fiber (Pectin) with Gastrointestinal Components (Bile Salts, Calcium, and Lipase): A Calorimetry, Electrophoresis, and Turbidity Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62: 12620-12630. doi: 10.1021/jf504829h.
- European Commission (2012). Commission Regulation (EU) No 432/2012 of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children's development and health. ([13] Artículo 1).
- European Parliament & Council of the European Union (2006). Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. ([12] Artículo 1).
- European Parliament & Council of the European Union (2011). Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers.
- Faber, T.J., Jaishankar, A., & McKinley, G.H. (2017). Describing the firmness, springiness and rubberiness of food gels using fractional calculus. Part I: Theoretical framework. *Food Hydrocolloids*, 62: 311–324.
- Fahrioglu, U., Dodurga, Y., Elmas, L., & Seçme, M. (2016). Ferulic acid decreases cell viability and colony formation while inhibiting migration of MIA PaCa-2 human pancreatic cancer cells in vitro. *Gene*, 576(1): 476-482. doi: 10.1016/j.gene.2015.10.061.
- Fan, P.H., Zang, M.T., & Xing, J. (2015). Oligosaccharides composition in eight food legumes species as detected by high-resolution mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(11): 2228-2236. doi: 10.1002/jsfa.6940.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2019). *Perspectivas de cosechas y situación alimentaria - Informe trimestral mundial N° 3. Septiembre 2019*. Roma.
- Fares, C., Codianni, P., Nigro, F., Platani, C., Scazzina, F., & Pellegrini, N. (2008). Processing and cooking effects on chemical, nutritional and functional properties of pasta obtained

- from selected emmer genotypes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(14): 2435-2444. doi: 10.1002/jsfa.3350.
- Farhat, W., Venditti, R.A., Hubbe, M., Taha, M., Becquart, F., & Ayoub, A. (2017). A Review of Water-Resistant Hemicellulose-Based Materials: Processing and Applications. *ChemSusChem*, 10: 305-323. doi: 10.1002/cssc.201601047.
- Femia, A.P., Salvadori, M., Broekaert, W.F., François, I.E.J.A., Delcour, J.A., Courtin, C.M., & Caderni, G. (2010). Arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) reduce preneoplastic lesions in the colon of rats treated with 1,2-dimethylhydrazine (DMH). *European Journal of Nutrition*, 49: 127-132. doi: 10.1007/s00394-009-0050-x.
- FEN. Fundación Española de la Nutrición. (2017). Informe sobre Legumbres, Nutrición y Salud. Disponible en: [http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/noticias/2017/Informe\\_Legumbres\\_Nutricion\\_Salud.pdf](http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/noticias/2017/Informe_Legumbres_Nutricion_Salud.pdf). (Acceso: 2/03/2020).
- Fernandes, Â., Barros, L., Barreira, J.C., Antonio, A.L., Oliveira, M.B.P., Martins, A., & Ferreira, I.C.F.R. (2013). Effects of different processing technologies on chemical and antioxidant parameters of *Macrolepiota procera* wild mushroom. *LWT-Food Science and Technology*, 54(2): 493-499. doi: 10.1016/j.lwt.2013.06.027.
- Fernández-Marín, B., Milla, R., Martín-Robles, N., Arc, E., Kranner, I., Becerril, J.M., & García-Plazaola, J.I. (2014). Side-effects of domestication: cultivated legume seeds contain similar tocopherols and fatty acids but less carotenoids than their wild counterparts. *BMC plant biology*, 14(1): 1599. doi: 10.1186/s12870-014-0385-1.
- Fernández-Ruiz, V., Olives, A. I., Cámara, M., de Cortes Sánchez-Mata, M., & Torija, M.E. (2011). Mineral and trace elements content in 30 accessions of tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L.) and wild relatives (*Solanum pimpinellifolium* L., *Solanum cheesmaniae* L. Riley, and *Solanum habrochaites* S. Knapp & DM Spooner). *Biological Trace Element Research*, 141(1-3): 329-339. doi: 10.1007/s12011-010-8738-6.
- Fernández-Ruiz, V., Domínguez, L., Sánchez-Mata, M.C., & Cámara, M. (2019). Consumer's preferences towards six new Spanish commercial tomato juices. *Acta Horticulturae*, 1233: ISHS 2019. doi: 10.17660/ActaHortic.2019.1233.30.

- Ficco, D.B.M., Riefolo, C., Nicastro, G., De Simone, V., Di Gesu, A.M., Beleggia, R., Platani, C., Cattivelli, L., & De Vita, P. (2009). Phytate and mineral elements concentration in a collection of Italian durum wheat cultivars. *Field Crops Research*, 111(3): 235-242. doi:10.1016/j.fcr.2008.12.010.
- Finnie, S.M., Bettge, A.D., & Morris, C.F. (2006). Influence of Cultivar and Environment of Water-Soluble and Water Insoluble Arabinoxylans in Soft Wheat. *Cereal Chemistry*, 83: 617–623. doi: 10.1094/CC-83-0617. ([19] Artículo 2).
- Finnie, S., & Atwell, W.A. (2016). *Wheat Flour*. 2<sup>nd</sup> Edition. AACC International. Minnesota, USA.
- FNB. Food and Nutrition Board. (2001) *Dietary Reference Intakes: Proposed Definition of Dietary Fiber*. The National Academies Press: Washington, DC.
- Fратиanni, A., Giuzio, L., Di Criscio, T., Zina, F., & Panfili, G. (2013). Response of carotenoids and tocopherols of durum wheat in relation to water stress and sulfur fertilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(11): 2583-2590. doi: 10.1021/jf304168r.
- Frias, J., Miranda, M. L., Doblado, R., & Vidal-Valverde, C. (2005). Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. *Food Chemistry*, 92(2): 211-220. doi:10.1016/j.foodchem.2004.06.049.
- Frías, J., Giacomino, S., Peñas, E., Pellegrino, N., Ferreyra, V., Apro, N., Carrión, M.O., & Vidal-Valverde, C. (2011). Assessment of the nutritional quality of raw and extruded *Pisum sativum* L. var. laguna seeds. *LWT-Food Science and Technology*, 44(5): 1303-1308. doi:10.1016/j.lwt.2010.12.025. ([28] Artículo 2).
- Frolich, W., & Asp, N.G. (1981). Dietary fiber content in cereals in Norway. *Cereal Chemistry*, 58(6): 524-527.
- Frølich, W., Aman, P., & Tetens, I. (2013). Whole grain foods and health – a Scandinavian perspective. *Food & Nutrition Research*, 57: 18503. doi: 10.3402/fnr.v57i0.18503.
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M.J., Sánchez-Zapata, E., & Pérez-Álvarez, J.A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43: 931-942. doi:10.1016/j.foodres.2010.02.004.

- Fuller, S., Beck, E., Salman, H., & Tapsell, L. (2016). New Horizons for the Study of Dietary Fiber and Health: A Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71: 1-12. doi: 10.1007/s11130-016-0529-6.
- Fundación Dieta Mediterránea (2010). Pirámide de la Dieta Mediterránea: un estilo de vida actual. Guía para la población adulta. Disponible en: [https://dietamediterranea.com/piramidedm/piramide\\_CASTELLANO.pdf](https://dietamediterranea.com/piramidedm/piramide_CASTELLANO.pdf). (Acceso: 29/02/2020).
- Gani, A., Wani, S.M., Masoodi, F.A., & Hameed, G. (2012). Whole-Grain Cereal Bioactive Compounds and Their Health Benefits: A Review. *Journal of Food Processing & Technology*, 3:146. doi:10.4172/2157-7110.1000146. ([33] Artículo 1).
- García Calabuig, G. (2012). “Texturometría Instrumental: Puesta a punto y aplicación a la Tecnología de Alimentos”. Proyecto de Fin de Master. Universidad de Oviedo. Oviedo. España.
- García Peris, P. (2004). La fibra en la alimentación. Ámbito hospitalario. Edikamed S.L. Barcelona. España.
- García Peris, P., & Velasco Gimeno, C. (2007). Evolución en el conocimiento de la fibra. *Nutrición Hospitalaria*, 22(2): 20-25.
- García-Amezquita, L.E., Tejada-Ortigoza, V., Serna-Saldivar, S.O., & Welti-Chanes, J. (2018). Dietary Fiber Concentrates from Fruit and Vegetable By-products: Processing, Modification, and Application as Functional Ingredients. *Food and Bioprocess Technology*, 11: 1439–1463. doi: 10.1007/s11947-018-2117-2.
- Gates, M.A., Tworoger, S.S., Hecht, J.L., De Vivo, I., Rosner, B., & Hankinson, S.E. (2007). A prospective study of dietary flavonoid intake and incidence of epithelial ovarian cancer. *International Journal of Cancer*, 121(10): 2225-2232. doi: 10.1002/ijc.22790.
- Gautam, A.K., Sharma, D., Sharma, J., & Saini, K.C. (2020). Legume lectins: Potential use as a diagnostics and therapeutics against the cancer. *International Journal of Biological Macromolecules*, 142: 474-483. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.119.
- Gayen, D., Paul, S., Sarkar, S. N., Datta, S. K., & Datta, K. (2016). Comparative nutritional compositions and proteomics analysis of transgenic Xa21 rice seeds compared to

- conventional rice. *Food Chemistry*, 203: 301-307. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.02.058.
- Gebruers, K., Dornez, E., Boros, D., Fras, A., Dynkowska, W., Bedo, Z., Rakszegi, M., Delcour, J.A., & Courtin, C.M. (2008). Variation in the Content of Dietary Fiber and Components There of in Wheats in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 9740–9749. doi: 10.1021/jf800975w. ([26] Artículo 1).
- Gebruers, K., Dornez, E., Bedo, Z., Rakszegi, M., Fras, A., Boros, D., Courtin, C.M., & Delcour, J. A. (2010). Environment and genotype effects on the content of dietary fiber and its components in wheat in the HEALTHGRAIN diversity screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(17): 9353-9361. doi:10.1021/jf100447g.
- Gélinas, P.; McKinnon, C. Dietary fibre and  $\beta$ -glucan in strong bread wheat cultivars: Does it matter?. (2013). *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 670–672. doi:10.1111/j.1365-2621.2012.03216.x. ([21] Artículo 1).
- Giacco, R., Costabile, G., & Riccardi, G. (2016). Metabolic effects of dietary carbohydrates: The importance of food digestion. *Food Research International*, 88, 336–341. doi: 10.1016/j.foodres.2015.10.026.
- Giannakoula, A.E., Ilias, I.F., Maksimović, J.J.D., Maksimović, V.M., & Živanović, B.D. (2012). The effects of plant growth regulators on growth, yield, and phenolic profile of lentil plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 28(1): 46-53. ([48] Artículo 2).
- Giordano, D., Reyneri, A., Locatelli, M., Coisson, J. D., & Blandino, M. (2019). Distribution of bioactive compounds in pearled fractions of tritordeum. *Food Chemistry*, 301: 125228. doi:10.1016/j.foodchem.2019.125228.
- Gómez Pallarés, M., Edel León, A., & Rosell, C.M. (2007). “Capítulo 1: Trigo” En: Edel León, A. & Rosell, C.M. (eds.) *De tales harinas, tales panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica*. 1ª Ed. Córdoba, Argentina.
- Gong, L., Cao, W., Chi, H., Wang, J., Zhang, H., Liu, J., & Sun, B. (2018). Whole cereal grains and potential health effects: Involvement of the gut microbiota. *Food Research International*, 103: 84-102. doi: 10.1016/j.foodres.2017.10.025.

- Górnaś, P., Radenkova, V., Pugajeva, I., Soliven, A., Needs, P.W., & Kroon, P.A. (2016). Varied composition of tocochromanols in different types of bran: Rye, wheat, oat, spelt, buckwheat, corn, and rice. *International Journal of Food Properties*, 19(8): 1757-1764. doi: 10.1080/10942912.2015.1107843.
- Goufo, P., & Trindade, H. (2014). Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols,  $\gamma$ -oryzanol, and phytic acid. *Food science & nutrition*, 2(2): 75-104. doi: 10.1002/fsn3.86.
- Goyoaga, C., Burbano, C., Cuadrado, C., Romero, C., Guillamón, E., Varela, A., Pedrosa, M.M., & Muzquiz, M. (2011). Content and distribution of protein, sugars and inositol phosphates during the germination and seedling growth of two cultivars of *Vicia faba*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(3): 391-397. doi:10.1016/j.jfca.2010.11.002.
- Gray, J. (2006). Dietary Fibre. Definition, analysis, physiology & Health. ILSI Europe concise monograph series.
- Grela, E.R., Jensen, S.K., & Jakobsen, K. (1999). Fatty acid composition and content of tocopherols and carotenoids in raw and extruded grass pea (*Lathyrus sativus* L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(15): 2075-2078. ([56] Artículo 2).
- Grela, E.R., Samolińska, W., Kiczorowska, B., Klebaniuk, R., & Kiczorowski, P. (2017a). Content of minerals and fatty acids and their correlation with phytochemical compounds and antioxidant activity of leguminous seeds. *Biological Trace Element Research*, 180(2): 338-348. doi: 10.1007/s12011-017-1005-3.
- Grela, E.R., Kiczorowska, B., Samolińska, W., Matras, J., Kiczorowski, P., Rybiński, W., & Hanczakowska, E. (2017b). Chemical composition of leguminous seeds: part I—content of basic nutrients, amino acids, phytochemical compounds, and antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 243(8): 1385-1395. doi: 10.1007/s00217-017-2849-7.
- Grooms, K.N., Ommerborn, M.J., Pham, D.Q., Djoussé, L., & Clark, C.R. (2013). Dietary Fiber Intake and Cardiometabolic Risks among US Adults, NHANES 1999-2010. *The American Journal of Medicine*, 126: 1059-1067. doi: 10.1016/j.amjmed.2013.07.023.

- Grootaert, C., Delcour, J.A., Courtin, C.M., Broekaert, W.F., Verstraete, W., & Van de Wiele, T. (2007). Microbial Metabolism and prebiotic potency of arabinoxylan oligosaccharides in the human intestine. *Trends in Food Science & Technology*, 18: 64-71. doi:10.1016/j.tifs.2006.08.004. ([7] Artículo 2).
- Guillamon, E., Pedrosa, M.M., Burbano, C., Cuadrado, C., Sánchez-Mata, M.C., & Muzquiz, M. (2008). The trypsin inhibitors present in seed of different grain legume species and cultivar. *Food Chemistry*, 107(1): 68-74. doi:10.1016/j.foodchem.2007.07.029.
- Guinard, J.X. (1998). Data collection and analysis methods for consumer testing. Pages 504–516 in *Third International Food Science and Technology Conference*. Davis, CA.
- Gujral, H.S., Sharma, P., Kumar, A., & Singh, B. (2012). Total phenolic content and antioxidant activity of extruded brown rice. *International Journal of Food Properties*, 15(2): 301-311. doi: 10.1080/10942912.2010.483617.
- Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86(3): 345-391. doi: 10.1007/s00204-011-0774-2.
- Ha, K.S., Jo, S.H., Mannam, V., Kwon, Y.I., & Apostolidis, E. (2016). Stimulation of phenolics, antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities during barley (*Hordeum vulgare* L.) seed germination. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(2): 211-217. doi: 10.1007/s11130-016-0549-2.
- Hallström, E., Sestili, F., Lafiandra, D., Björck, I., & Östman, E. (2011) A novel wheat variety with elevated content of amylose increases resistant starch formation and may beneficially influence glycaemia in healthy subjects. *Food & Nutrition Research*, 55(1): 7074.
- Han, H., & Baik, B.K. (2008). 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. *International journal of food science & technology*, 43(11): 1971-1978. doi:10.1111/j.1365-2621.2008.01800.x.
- Handa, C., & Goomer, S. (2015). Compositional profiling and sensorial analysis of multi-wholegrain extruded puffs as affected by fructan inclusion. *Journal of food science and technology*, 52(9): 5975-5981. doi: 10.1007/s13197-014-1636-8.

- Hansen, H.B., Rasmussen, C.V., Knudsen, K.E.B., & Hansen, A. (2003). Effects of genotype and harvest year on content and composition of dietary fibre in rye (*Secale cereale* L) grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 76–85. doi: 10.1002/jsfa.1284.
- Harris, K.A., & Kris-Etherton, P.M. (2010). Effects of Whole Grains on Coronary Heart Disease Risk. *Current Atherosclerosis Reports*, 12: 368–376. doi: 10.1007/s11883-010-0136-1. ([6] Artículo 1).
- Hatano, T., Kira, R., Yoshizaki, M., & Okuda, T. (1986). Seasonal changes un the tannins of Liquidambar formosana reflecting their biogenesis. *Phytochemistry*, 25: 2787-2789.
- He, S., Simpson, B.K., Sun, H., Ngadi, M.O., Ma, Y., & Huang, T. (2018). Phaseolus vulgaris lectins: A systematic review of characteristics and health implications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(1): 70-83. doi: 10.1080/10408398.2015.1096234.
- Hefnawy, T.H. (2011). Effect of processing methods on nutritional composition and anti-nutritional factors in lentils (*Lens culinaris*). *Annals of Agricultural Science*, 56, 2: 57-61. doi: 10.1016/j.aoas.2011.07.001.
- Hejtmánková, K., Lachman, J., Hejtmánková, A., Pivec, V., & Janovská, D. (2010). Tocols of selected spring wheat (*Triticum aestivum* L.), einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.) and wild emmer (*Triticum dicoccum* Schuebl [Schrack]) varieties. *Food Chemistry*, 123(4): 1267-1274. doi:10.1016/j.foodchem.2010.05.064.
- Heleno, S.A., Barros, L., Sousa, M.J., Martins, A., & Ferreira, I.C.F.R. (2010). Tocopherols composition of Portuguese wild mushrooms with antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 119(4): 1443-1450. doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.025.
- Hernández Rodríguez, L., Morales, D.A., Rodríguez, E.R., & Romero, C.D. (2011). Minerals and trace elements in a collection of wheat landraces from the Canary Islands. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(8): 1081-1090. doi:10.1016/j.jfca.2011.04.016.
- Herrera Chalé, F., Betancur Ancona, D., & Segura Campos, M.R. (2014). Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad; péptidos biológicamente activos. *Nutrición Hospitalaria*, 29(1): 10-20. doi:10.3305/nh.2014.29.1.6990.

- Hoensch, H., Groh, B., Edler, L., & Kirch, W. (2008). Prospective cohort comparison of flavonoid treatment in patients with resected colorectal cancer to prevent recurrence. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 14(14): 2187-2193. doi: 10.3748/wjg.14.2187.
- Holmer, A., Hausner, H., Reinbach, H., Bredie, W.P., & Wendin, K. (2012). Acceptance of Nordic snack bars in children aged 8–11 years. *Food & nutrition research*, 56(1): 10484. doi: 10.3402/fnr.v56i0.10484.
- Honcú, I., Sluková, M., Vaculová, K., Sedláčková, I., Wiege, B., & Fehling, E. (2016). The effects of extrusion on the content and properties of dietary fiber components in various barley cultivars. *Journal of Cereal Science*, 68: 132-139. doi: 10.1016/j.jcs.2016.01.012. ([35] Artículo 2).
- Hough, G., Wakeling I., Mucci, A., Chambers E., Gallardo, I.M., & Alves, L.R. (2006). Number of consumers necessary for sensory acceptability tests. *Food Quality and Preference* 17: 522–526.
- Hsieh, P.H., Weng, Y.M., Yu, Z.R., & Wang, B.J. (2017). Substitution of wheat flour with wholegrain flours affects physical properties, sensory acceptance, and starch digestion of Chinese steam bread (Mantou). *LWT*, 86: 571-576. doi:10.1016/j.lwt.2017.08.051.
- Hussain, A., Larsson, H., Olsson, M.E., Kuktaite, R., Grausgruber, H., & Johansson, E. (2012). Is organically produced wheat a source of tocopherols and tocotrienols for health food?. *Food Chemistry*, 132(4): 1789-1795. doi:10.1016/j.foodchem.2011.11.141. ([32] Artículo 1).
- Ikeda, T.M., Ohnishi, N., Nagamine, T., Oda, S., Hisatomi, T., & Yano, H. (2005). Identification of new puroindoline genotypes and their relationship to flour texture among wheat cultivars. *Journal of Cereal Science*, 41(1): 1-6. doi: 10.1016/j.jcs.2004.10.002.
- ILSI. (1999). Scientific concepts of functional foods in Europe consensus document. *British Journal of Nutrition*, 81: S1–S27. ([15] Artículo 1).
- Isanga, J., & Zhang, G.N. (2008). Soybean Bioactive Components and their Implications to Health - A Review. *Food Reviews International*, 24, 252–276. <https://doi.org/10.1080/87559120801926351>.

- Ivey, K.L., Lewis, J.R., Lim, W.H., Lim, E.M., Hodgson, J.M., & Prince, R.L. (2013). Associations of proanthocyanidin intake with renal function and clinical outcomes in elderly women. *PLoS One*, 8(8): e71166. doi:10.1371/journal.pone.0071166.
- Jach, M.E., & Serefko, A. (2018). *Nutritional Yeast Biomass: Characterization and Application. In Diet, Microbiome and Health.* Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811440-7.00009-0>
- Jahreis, G., Brese, M., Leiterer, M., Schafer, U., & Bohm, V. (2016). Legume flours: nutritionally important sources of protein and dietary fiber. *Ernahrungs umschau*, 63(02): 36-42. doi: 10.4455/eu.2016.007.
- Jakobsdottir, G., Nyman, M., & Fåk, F. (2014). Designing future prebiotic fiber to target metabolic syndrome. *Nutrition*, 30: 497-502. doi: 10.1016/j.nut.2013.08.013.
- Janakiram, N.B. Mohammed, A., Madka, V., Kumar, G., & Rao, C.V. (2016). Prevention and treatment of cancers by immune modulating nutrients. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60: 1275-1294. doi: 10.1002/mnfr.201500884.
- Jaskulska, I., Jaskulski, D., Gałężewski, L., Knapowski, T., Kozera, W., & Waclawowicz, R. (2018). Mineral composition and baking value of the winter wheat grain under varied environmental and agronomic conditions. *Journal of Chemistry*, 2018. doi:10.1155/2018/5013825.
- Jeurnink, S.M., Ros, M.M., Leenders, M., van Duijnhoven, F.J.B., Siersema, P.D., Jansen, E.H.J.M., van Gils, C.H., Bakker, M.F., Overvad, K., Roswall, N., Tjønneland, A., Boutron-Ruault, M.C., Racine, A., Cadeau, C., Grote, V., Kaaks, R., Aleksandrova, K., Boeing, H., Trichopoulou, A., Benetou, V., Valanou, E., Palli, D., Krogh, V., Vineis, P., Tumino, R., Mattiello, A., Weiderpass, E., Skeie, G., Huerta-Castaño, J.M., Duell, E.J., Barricarte, A., Molina-Montes, E., Argüelles, M., Dorronsoro, M., Johansen, D., Lindkvist, B., Sund, M., Crowe, F.L., Khaw, K.T., Jenab, M., Fedirko, V., Riboli, E., & Bueno-de-Mesquita, H.B. (2015). Plasma carotenoids, vitamin C, retinol and tocopherols levels and pancreatic cancer risk within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition: A nested case-control study. *International Journal of Cancer*, 136: 665-676. doi: 10.1002/ijc.29175.

- Johns, D.J., Lindroos, A.K., Jebb, S.A., Sjöström, L., Carlsson, L.M.S., & Ambrosini, G.L. (2015). Dietary Patterns, Cardiometabolic Risk Factors, and the Incidence of Cardiovascular Disease in Severe Obesity. *Obesity*, 23: 1063-1070. doi:10.1002/oby.20920.
- Johnson, C. R., Thavarajah, D., & Thavarajah, P. (2013). The influence of phenolic and phytic acid food matrix factors on iron bioavailability potential in 10 commercial lentil genotypes (*Lens culinaris* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1): 82-86. ([46] Artículo 2).
- Joy, E.J., Ander, E.L., Broadley, M.R., Young, S.D., Chilimba, A.D., Hamilton, E.M., & Watts, M.J. (2017). Elemental composition of Malawian rice. *Environmental Geochemistry and Health*, 39(4): 835-845. doi: 10.1007/s10653-016-9854-9.
- Julibert, A., del Mar Bibiloni, M., & Tur, J.A. (2019). Dietary fat intake and metabolic syndrome in adults: a systematic review. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 29(9): 887-905. doi: 10.1016/j.numecd.2019.05.055.
- Jung, J.S., Yan, J.J., Li, H.M., Sultan, M.T., Yu, J., Lee, H.S., Shin, K.J., & Song, D.K. (2016). Protective effects of a dimeric derivative of ferulic acid in animal models of Alzheimer's disease. *European Journal of Pharmacology*, 782: 30-34. doi: 10.1016/j.ejphar.2016.04.047.
- Kan, L., Nie, S., Hu, J., Wang, S., Cui, S.W., Li, Y., Xu, S., Wu, Y., Wang, J., Bai, Z., & Xie, M. (2017). Nutrients, phytochemicals and antioxidant activities of 26 kidney bean cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 108: 467-477. 10.1016/j.fct.2016.09.007.
- Kan, L., Nie, S., Hu, J., Wang, S., Bai, Z., Wang, J., Zhou, Y., Jiang, J., Zeng, Q., & Song, K. (2018). Comparative study on the chemical composition, anthocyanins, tocopherols and carotenoids of selected legumes. *Food chemistry*, 260: 317-326. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.03.148
- Kelkar, S., Siddiq, M., Harte, J.B., Dolan, K.D., Nyombaire, G., & Suniaga, H. (2012). Use of low-temperature extrusion for reducing phytohemagglutinin activity (PHA) and oligosaccharides in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Navy and Pinto. *Food Chemistry*, 133, 1636-1639. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.044>.

- Khan, M.A., Nadeem, M., Rakha, A., Shakoor, S., Shehzad, A., & Khan, M.R. (2016). Structural Characterization of Oat Bran (1→3), (1→4) -β-D-Glucans by Lichenase Hydrolysis Through High-Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection. *International Journal of Food Properties*, 19: 929–935. doi: 10.1080/10942912.2015.1045519.
- Kim, M.J., Hyun, J.N., Kim, J.A., Park, J.C., Kim, M.Y., Kim, J.G., Lee, S.J., Chun, S.C., & Chung, I. M. (2007). Relationship between phenolic compounds, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(12): 4802-4809. doi: 10.1021/jf0701943.
- Kim, M.J., & Kim, S.S. (2016). Antioxidant and antiproliferative activities in immature and mature wheat kernels. *Food Chemistry*, 196: 638-645. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.095.
- Kiszonas, A.M., Courtin, C.M., & Morris, C.F. (2012). A Critical Assessment of the Quantification on Wheat Grain Arabinoxylans Using a Phloroglucinol Colorimetric Assay. *Cereal Chemistry*, 89(3): 143-150. doi: 10.1094/CCHEM-02-12-0016-R.
- Klein, E.A., Thompson, I.M., Tangen, C.M., Crowley, J.J., Lucia, M.S., Goodman, P.J., Minasian, L., Ford, L.G., Parnes, H.L., Gaziano, J.M., Karp, D.D., Lieber, M.M., Walther, P.J., Klotz, L., Parsons, J.K., Chin, J.L., Darke, A.K., Lippman, S.M., Goodman, G.E., Meyskens, F.L., & Barker, L.H. (2011). Vitamin E and the Risk of Prostate Cancer: Updated Results of The Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA*, 306(14): 1549-1556. doi:10.1001/jama.2011.1437.
- Knudsen, K.E.B., Nørskov, N.P., Bolvig, A.K., Hedemann, M.S., & Lærke, H.N. (2017). Dietary fibers and associated phytochemicals in cereals. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(7): 1-15. doi: 10.1002/mnfr.201600518.
- Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., & Bäckhed, F. (2016). From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*, 165: 1332-1345. doi: 10.1016/j.cell.2016.05.041.
- Kong, L., Si, J., Zhang, B., Feng, B., Li, S., & Wang, F. (2013). Environmental modification of wheat grain protein accumulation and associated processing quality: a case study of China. *Australian Journal of Crop Science*, 7(2): 173-181.

- Korus, J., Gumul, D., & Czechowska, K. (2007). Effect of extrusion on the phenolic composition and antioxidant activity of dry beans of *Phaseolus vulgaris* L. *Food Technology and Biotechnology*, 45(2): 139-146. ([27] Artículo 2).
- Kosík, T., Lacko-Bartošová, M., & Kobida, L. (2014). Free Phenol Content and Antioxidant Activity Of Winter Wheat In Sustainable Farming Systems. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3: 247–249. ([29] Artículo 1).
- Kothari, D., Patel, S., & Goyal, A. (2014). Therapeutic Spectrum of Nondigestible Oligosaccharides: Overview of Current State and Prospect. *Journal of Food Science*, 79(8): 1491-1498. doi: 10.1111/1750-3841.12536.
- Kowieska, A., Lubowicki, R., & Jaskowska, I. (2011). Chemical composition and nutritional characteristics of several cereal grain. *Acta Scientiarum Polonorum. Zootechnica*, 10(2): 37-50.
- Kreger, J.W., Lee, Y., & Lee, S.Y. (2012). Perceptual changes and drivers of liking in high protein extruded snacks. *Journal of Food Science*, 77(4): S161-S169.
- Kumar, A., Sahoo, U., Baisakha, B., Okpani, O.A., Ngangkham, U., Parameswaran, C., Basak, N., Kumar, G., & Sharma, S.G. (2018). Resistant starch could be decisive in determining the glycemic index of rice cultivars. *Journal of Cereal Science*, 79: 348-353. doi: 10.1016/j.jcs.2017.11.013.
- Kurek, M.A., Wyrwisz, J., Karp, S., & Wierzbicka, A. (2018). Effect of fiber sources on fatty acids profile, glycemic index, and phenolic compound content of in vitro digested fortified wheat bread. *Journal of Food Science and Technology*, 55(5): 1632-1640. doi: 10.1007/s13197-018-3061-x.
- Labuschagne, M., Mkhatywa, N., Johansson, E., Wentzel, B., & Van Biljon, A. (2017). The content of tocopherols in South African wheat; impact on nutritional benefits. *Foods*, 6(11): 95. doi:10.3390/foods6110095.
- Lachman, J., Hejtmánková, A., Orsák, M., Popov, M., & Martinek, P. (2018). Tocotrienols and tocopherols in colored-grain wheat, tritordeum and barley. *Food chemistry*, 240: 725-735. 10.1016/j.foodchem.2017.07.123. ([37] Artículo 1).

- Laddomada, B., Durante, M., Minervini, F., Garbetta, A., Cardinali, A., D'Antuono, I., Caretto, S., Blanco, A., & Mita, G. (2015). Phytochemical composition and anti-inflammatory activity of extracts from the whole-meal flour of Italian durum wheat cultivars. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(2): 3512-3527. doi:10.3390/ijms16023512.
- Lafarga, T., Villaró, S., Bobo, G., Simó, J., & Aguiló-Aguayo, I. (2019). Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in cooked pulses. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(5): 1816-1823. doi:10.1111/ijfs.14082.
- Lafiandra, D., Sestili, F., D' Ovidio, R., Janni, M., Botticella, E., Ferrazzano, G., Silvestri, M., Ranieri, R., & De Ambrogio, E. (2010). Approaches for modification of starch composition in durum wheat. *Cereal Chemistry*, 87(1): 28-34. doi: 10.1094/CCHEM-87-1-0028.
- Lafiandra, D., Riccardi, G., & Shewry, P.R. (2014). Improving cereal grain carbohydrates for diet and health. *Journal of Cereal Science*, 59: 312-326. doi: 10.1016/j.jcs.2014.01.001.
- Laguette, M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*, 46(5): 244-282.
- Lam, S.K., & Ng, T.B. (2011). Lectins: production and practical applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89, 45-55. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2892-9>.
- Lampi, A. M., Nurmi, T., & Piironen, V. (2010). Effects of the environment and genotype on tocopherols and tocotrienols in wheat in the HEALTHGRAIN diversity screen. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(17): 9306-9313. DOI:10.1021/jf100253u. ([38] Artículo 1).
- Lance, P., Alberts, D.S., Thompson, P.A., Fales, L., Wang, F., San Jose, J., Jacobs, E.T., Goodman, P.J., Darke, A.K., Yee, M., Minasian, L., Thompson, I.M., & Roe, D.J. (2017). Colorectal Adenomas in Participants of the SELECT Randomized Trial of Selenium and Vitamin E for Prostate Cancer Prevention. *Cancer Prevention Research (Philadelphia)*, 10(1): 45-54. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-16-0104.

- Landry, M., Lemieux, S., Lapointe, A., Bédard, A., Bélanger-Gravel, A., Bégin, C., Provencher, V., & Desroches, S. (2018). Is eating pleasure compatible with healthy eating? A qualitative study on Quebecers' perceptions. *Appetite*, 125: 537-547. doi: 10.1016/j.appet.2018.02.033.
- Latimer, G.W. (2012). Official methods of analysis of AOAC international. Gaithersburg. ([7] Artículo 1; [17] Artículo 2).
- Lattimer, J.M., & Haub, M.D. (2010). Effects of Dietary Fiber and Its Components on Metabolic Health. *Nutrients*, 2: 1266-1289. doi:10.3390/nu2121266.
- Leonard, W., Zhang, P., Ying, D., & Fang, Z. (2020). Application of extrusion technology in plant food processing byproducts: An overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(1): 218-246. doi: 10.1111/1541-4337.12514.
- Li, W., Pickard, M.D., & Beta, T. (2007). Effect of thermal processing on antioxidant properties of purple wheat bran. *Food Chemistry*, 104, 1080–1086. doi:10.1016/j.foodchem.2007.01.024. ([27] Artículo 1).
- Li, Y., Hruby, A., Bernstein, A. M., Ley, S. H., Wang, D. D., Chiuve, S. E., & Hu, F. B. (2015). Saturated fats compared with unsaturated fats and sources of carbohydrates in relation to risk of coronary heart disease: A prospective cohort study. *Journal of the American College of Cardiology*, 66: 1538–1548.
- Li, Q., Liu, R., Wu, T., & Zhang, M. (2017). Aggregation and rheological behavior of soluble dietary fibers from wheat bran. *Food Research International*, 102: 291-302. doi: 10.1016/j.foodres.2017.09.064.
- Li, Y.O., & Komarek, A.R. (2017). Dietary fibre basics: Health, nutrition, analysis, and applications. *Food Quality and Safety*, 1: 47-59. doi:10.1093/fqs/fyx007.
- Li, X., Jiao, W., Zhang, W., Xu, Y., Cao, J., & Jiang, W. (2019). Characterizing the interactions of dietary condensed tannins with bile salts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(34): 9543-9550. doi: 10.1021/acs.jafc.9b03985.
- Lim, J. (2011). Hedonic scaling: A review of methods and theory. *Food Quality and Preference*, 22: 733–747. doi:10.1016/j.foodqual.2011.05.008.

- Lockyer, S., & Nugent, A.P. (2017). Health effects of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, 42: 10-41. doi: 10.1111/nbu.12244.
- Lopes, L.C.M., de Aleluia Batista, K., Fernandes, K.F., & de Andrade Cardoso Santiago, R. (2012). Functional, biochemical and pasting properties of extruded bean (*Phaseolus vulgaris*) cotyledons. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 1859-65. doi: 10.1111/j.1365-2621.2012.03042.x.
- López, A., El-Naggar, T., Dueñas, M., Ortega, T., Estrella, I., Hernández, T., Gómez-Serranillos, M.P., Palomino, O., & Carretero, M.E. (2013). Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 138(1): 547-555. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.10.107.
- Lu, Z.X., Walker, K.Z., Muir, J.G., & O' Dea, K. (2004). Arabinoxylan fibre improves metabolic control in people with Type II diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58: 621–628. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601857. ([9] Artículo 2).
- Lv, J., Yub, L., Lu, Y., Niu, Y., Liu, L., Costa, J., & Yu, L. (2012). Phytochemical compositions, and antioxidant properties, and antiproliferative activities of wheat flour. *Food Chemistry*, 135: 325–331. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.04.141. ([1] Artículo 1).
- Ma, Z., Boye, J.I., Swallow, K., Malcolmson, L., & Simpson, B.K. (2016). Techno-functional characterization of salad dressing emulsions supplemented with pea, lentil and chickpea flours. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96: 837-847. doi: 10.1002/jsfa.7156.
- MacFarlane, S., MacFarlane, G.T., & Cummings, J.H. (2006). Review article: Prebiotics in the gastrointestinal tract. *Alimentary Pharmacology Therapeutics*, 24: 701-714. doi: 10.1111/j.1365-2036.2006.03042.x.
- Magalhães, S.C., Taveira, M., Cabrita, A.R., Fonseca, A.J., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2017). European marketable grain legume seeds: Further insight into phenolic compounds profiles. *Food chemistry*, 215: 177-184. doi:10.1016/j.foodchem.2016.07.152.
- Mah, E., Noh, S. K., Ballard, K.D., Park, H.J., Volek, J.S., & Bruno, R.S. (2013). Supplementation of a  $\gamma$ -tocopherol-rich mixture of tocopherols in healthy men protects

- against vascular endothelial dysfunction induced by postprandial hyperglycemia. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(1): 196-203. doi: 10.1016/j.jnutbio.2012.04.015
- Mahadevamma, S., & Tharanathan, R.N. (2004). Processing of legumes: resistant starch and dietary fiber contents. *Journal of Food Quality*, 27(4): 289-303.
- Maheshwari, G., Sowrirajan, S., & Joseph, B. (2017). Extraction and Isolation of  $\beta$ -Glucan from Grain Sources – A Review. *Journal of Food Science*, 82(7): 1535-1545. doi: 10.1111/1750-3841.13765.
- Maleki, S.J., Crespo, J.F., & Cabanillas, B. (2019). Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food chemistry*, 125124. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125124.
- Mamatha, B.S., Sangeetha, R.K., & Baskaran, V. (2011). Provitamin-A and xanthophyll carotenoids in vegetables and food grains of nutritional and medicinal importance. *International Journal of Food Science and Technology*, 46: 315–323. doi:10.1111/j.1365-2621.2010.02481.x. ([40] Artículo 1).
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5): 727-747. ([51] Artículo 2).
- Manthey, F.A., Hareland, G.A., & Huseby, D.J. (1999). Soluble and Insoluble Dietary Fiber Content and Composition in Oat. *Cereal Chemistry*, 76(3): 417-420. doi: 10.1094/CCHEM.1999.76.3.417.
- MAPA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Gobierno de España. (2020). Disponible en: [http://www.alimentacion.es/es/conoce\\_lo\\_que\\_comes/bloc/legumbres/historia/](http://www.alimentacion.es/es/conoce_lo_que_comes/bloc/legumbres/historia/). (Acceso: 2/03/2020).
- Marcotuli, I., Hsieh, Y.S.Y., Lahnstein, J., Yap, K., Burton, R.A., Blanco, A., Fincher, G.B. & Gadaleta, A. (2016). Structural variation and content of arabinoxylans in endosperm and bran of durum wheat (*Triticum turgidum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(14): 2883-2892. doi: 10.1021/acs.jafc.6b00103.
- Margier, M., Georgé, S., Hafnaoui, N., Remond, D., Nowicki, M., Du Chaffaut, L., Amiot, M.J., & Reboul, E. (2018). Nutritional composition and bioactive content of legumes:

- Characterization of pulses frequently consumed in France and effect of the cooking method. *Nutrients*, 10(11): 1668. doi:10.3390/nu10111668.
- Marotti, I., Bregola, V., Aloisio, I., Di Gioia, D., Bosi, S., Di Silvestro, R., Quinn, R., & Dinelli, G. (2012). Prebiotic effect of soluble fibres from modern and old durum-type wheat varieties on *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(10): 2133-2140. doi: 10.1002/jsfa.5597. ([17] Artículo 1).
- Martín-Cabrejas, M.A., Aguilera, Y., Benítez, V., Mollá, E., López-Andréu, F.J., & Esteban, R.M. (2006). Effect of industrial dehydration on the soluble carbohydrates and dietary fiber fractions in legumes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(20): 7652-7657. doi: 10.1021/jf061513d.
- Mataix Verdú, J. (2009). *Nutrición y Alimentación Humana. Volumen I. Nutrientes y Alimentos. 2ª Edición.* Ergon. Madrid, España.
- Matsumoto, K., Yokoyama, S. I., & Gato, N. (2010). Bile acid-binding activity of young persimmon (*Diospyros kaki*) fruit and its hypolipidemic effect in mice. *Phytotherapy Research*, 24(2): 205-210. doi: 10.1002/ptr.2911.
- Mattila, P., Mäkinen, S., Euroala, M., Jalava, T., Pihlava, J. M., Hellström, J., & Pihlanto, A. (2018). Nutritional value of commercial protein-rich plant products. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(2): 108-115. doi: 10.1007/s11130-018-0660-7.
- McRae, M.P. (2017). Dietary Fiber Is Beneficial for the Prevention of Cardiovascular Disease: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Journal of Chiropractic Medicine*, 16(4): 289-299. doi: 10.1016/j.jcm.2017.05.005.
- McRae, M.P. (2018). Dietary Fiber Intake and Type 2 Diabetes Mellitus: An Umbrella Review of Meta-analyses. *Journal of Chiropractic Medicine*, 17(1): 44-53. doi: 10.1016/j.jcm.2017.11.002.
- Mendis, M., & Simsek, S. (2014). Arabinoxylans and human health. *Food Hydrocolloids*, 42: 239-243. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.07.022.
- Merriam, P.A., Pursuitte, G., Olendzki, B.C., Schneider, K., Pagoto, S.L., Palken, J.L., Ockene, I.S., & Ma, Y. (2012). Dietary Intervention Targeting Increased Fiber Consumption for

- Metabolic Syndrome. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 112(5): 621-623. doi: 10.1016/j.jand.2012.01.024.
- Messia, M.C., Candigliota, T., De Arcangelis, E., & Marconi, E. (2017). Arabinoxylans and  $\beta$ -glucans assessment in cereals. *Italian Journal of Food Science*, 29: 112-122.
- Metakovsky, E., Melnik, V. A., Pascual, L., & Wrigley, C. W. (2019). Gliadin genotypes worldwide for spring wheats (*Triticum aestivum* L.) 1. Genetic diversity and grain-quality gliadin alleles during the 20th century. *Journal of cereal science*, 87: 172-177. doi: 10.1016/j.jcs.2019.03.008.
- Millar, K.A., Gallagher, E., Burke, R., McCarthy, S., & Barry-Ryan, C. (2019). Proximate composition and anti-nutritional factors of fava-bean (*Vicia faba*), green-pea and yellow-pea (*Pisum sativum*) flour. *Journal of Food Composition and Analysis*, 82: 103233. doi: 10.1016/j.jfca.2019.103233.
- Mirali, M., Ambrose, S.J., Wood, S.A., Vandenberg, A., & Purves, R.W. (2014). Development of a fast extraction method and optimization of liquid chromatography–mass spectrometry for the analysis of phenolic compounds in lentil seed coats. *Journal of Chromatography B*, 969: 149-161. ([41] Artículo 2).
- Mishra, L.K., Sarkar, D., Zwinger, S., & Shetty, K. (2017). Phenolic antioxidant-linked anti-hyperglycemic properties of rye cultivars grown under conventional and organic production systems. *Journal of cereal science*, 76: 108-115. doi: 10.1016/j.jcs.2017.06.002.
- Mohebbi, Z., Homayouni, A., Azizi, M.H., & Hosseini, S.J. (2018). Effects of beta-glucan and resistant starch on wheat dough and prebiotic bread properties. *Journal of Food Science and Technology*, 55(1): 101-110. doi: 10.1007/s13197-017-2836-9.
- Monaco, R.D., Cavella, S., & Masi, P. (2008). Predicting the sensory cohesiveness, hardness and springiness of solid foods from instrumental measurements. *Journal of Texture Studies*, 39: 129–149.
- Morales, P., Ferreira, I.C.F.R., Carvalho, A.M., Sánchez-Mata, M.C., Cámara, M., Fernández-Ruiz, V., Pardo-de-Santayana, M. & Tardío, J. (2014). Mediterranean non-cultivated vegetables as dietary sources of compounds with antioxidant and biological activity.

- LWT-Food Science and Technology, 55(1): 389-396. doi: 10.1016/j.lwt.2013.08.017. ([29] Artículo 2).
- Morales, P., Berrios, J.D.J., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Muzquiz, M., & Pedrosa, M.M. (2015a). Novel fiber-rich lentil flours as snack-type functional foods: An extrusion cooking effect on bioactive compounds. *Food & Function*, 6: 3135–3143. doi: 10.1039/c5fo00729a. ([3] Artículo 2).
- Morales, P., Cebadera-Miranda, L., Cámara, R.M., Reis, F.S., Barros, L., Berrios, J.J., Ferreira, I.C.F.R., & Cámara, M. (2015b). Lentil flour formulations to develop new snack-type products by extrusion processing: Phytochemicals and antioxidant capacity. *Journal of Functional Foods*, 19: 537–544. doi: 10.1016/j.jff.2015.09.044. ([9] Artículo 1; [4] Artículo 2).
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., & Cuadrado, C. (2018). *Tablas de Composición de Alimentos. Guía de Prácticas*. 19<sup>o</sup> Edición. Pirámide. Madrid, España.
- Morell, M.K., & Myers, A.M. (2005) Towards the rational design of cereal starches. *Current Opinion in Plant Biology*, 8: 204-210.
- Moreno-Gómez, C., Romaguera-Bosch, D., Tauler-Riera, P., Bennasar-Veny, M., Pericas-Beltran, J., Martinez-Andreu, S., & Aguilo-Pons, A. (2012). Clustering of lifestyle factors in Spanish university students: the relationship between smoking, alcohol consumption, physical activity and diet quality. *Public Health Nutrition*, 15(11): 2131-2139. doi:10.1017/S1368980012000080.
- Moussou, N., Corzo-Martínez, M., Sanz, M.L., Zaidi, F., Montilla, A., & Villamiel, M. (2017). Assessment of Maillard reaction evolution, prebiotic carbohydrates, antioxidant activity and  $\alpha$ -amylase inhibition in pulse flours. *Journal of food science and technology*, 54(4): 890-900. doi: 10.1007/s13197-016-2298-5.
- Mpofu, A., Sapirstein, H.D., & Beta, T. (2006). Genotype and environmental variation in phenolic content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4): 1265-1270. doi: 10.1021/jf052683d.

- Mudgil, D., & Barak, S. (2013). Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 61: 1-6. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.06.044.
- Multari, S., Pihlava, J.M., Ollenu-Chuasam, P., Hietaniemi, V., Yang, B., & Suomela, J.P. (2018). Identification and quantification of avenanthramides and free and bound phenolic acids in eight cultivars of husked oat (*Avena sativa* L) from Finland. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(11): 2900-2908. doi: 10.1021/acs.jafc.7b05726.
- Muzquiz, M., Rey, C., Cuadrado C., & Fenwick, R. (1992). Effect of germination on oligosaccharide content of lupin species. *Journal of Chromatography*, 607, 349-352. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)87094-O](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)87094-O).
- Muzquiz, M., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M.M. (2012). Bioactive compounds in legumes: pronutritive and antinutritive actions. Implications for nutrition and health. *Phytochemistry Reviews*, 11, 227–244. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9233-9>.
- Nagao, M., Moriyama, Y., Yamagishi, K., Iso, H., & Tamakoshi, A. (2012). Relation of serum  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol levels to cardiovascular disease-related mortality among Japanese men and women. *Journal of epidemiology*, 22(5): 402-410. doi:10.2188/jea.JE20120002.
- Nair, K.K., Kharb, S., & Thompson, D.K. (2010). Inulin Dietary Fiber with Functional and Health Attributes – A Review. *Food Reviews International*, 26: 189-203. doi: 10.1080/87559121003590664.
- Nandi, I., & Ghosh, M. (2015). Studies on functional and antioxidant property of dietary fibre extracted from defatted sesame husk, rice bran and flaxseed. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5: 129-136. doi: 10.1016/j.bcdf.2015.03.001.
- Nascimento, A.C., Mota, C., Coelho, I., Gueifão, S., Santos, M., Matos, A.S., Gimenez, A., Lobo, M., Samman, N., & Castanheira, I. (2014). Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. *Food Chemistry*, 148: 420-426. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.09.155.

- Nauta, A.J., & Garssen, J. (2013). Evidence-based benefits of specific mixtures of non-digestible oligosaccharides on the immune system. *Carbohydrate Polymers*, 93: 263-265. doi:10.1016/j.carbpol.2012.02.021.
- Neyrinck, A.M., Possemiers, S., Druart, C, Van de Wiele, T., De Backer, F., Cani, P.D., Larondelle, Y., & Delzenne, N.M. (2011). Prebiotic Effects of Wheat Arabinoxylan Related to the Increase in Bifidobacteria, Roseburia and Bacteroides/Prevotella in Diet-Induced Obese Mice. *PLoS ONE*, 6: 1-12. doi: 10.1371/journal.pone.0020944.
- Nielsen, M.M., & Hansen, A. (2008). Stability of Vitamin E in Wheat Flour and Whole Wheat Flour during Storage. *Cereal Chemistry*, 85: 716–720. doi: 10.1094/CCHEM-85-6-0716. ([34] Artículo 1).
- Nikmaram, N., Kamani, M.H., & Ghalavand, R. (2015). The effects of extrusion cooking on antinutritional factors, chemical properties and contaminating microorganisms of food. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 4: 352-4. ([12] Artículo 2).
- Nikmaram, N., Leong, S.Y., Koubaa, M., Zhu, Z., Barba, F.J., Greiner, R., Oey, I., & Roohinejad, S. (2017). Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. *Food Control*, 79: 62-73. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.03.027.
- Niño-Medina, G., Carvajal-Millán, E., Rascon-Chu, A., Marquez-Escalante, J.A., Guerrero, V., & Salas-Muñoz, E. (2010). Feruloylated arabinoxylans and arabinoxylans gels: structure, sources and applications. *Phytochemistry Review*, 9: 111–120. doi: 10.1007/s11101-009-9147-3. ([10] Artículo 2).
- Njoumi, S., Josephe Amiot, M., Rochette, I., Bellagha, S., & Mouquet-Rivier, C. (2019). Soaking and cooking modify the alpha-galacto-oligosaccharide and dietary fibre content in five Mediterranean legumes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 70(5): 551-561. doi: 10.1080/09637486.2018.1544229.
- Nouri, F., Sarrafzadegan, N., Mohammadifard, N., Sadeghi, M., & Mansourian, M. (2016). Intake of legumes and the risk of cardiovascular disease: frailty modeling of a prospective cohort study in the Iranian middle-aged and older population. *European Journal of Clinical Nutrition*, 70: 217-221. doi:10.1038/ejcn.2015.153.
- Nriagu, J. (2018). Zinc deficiency in human health. Reference Module in Earth. Systems and Environmental Sciences.

- Nurit, E., Lyan, B., Pujos-Guillot, E., Branlard, G., & Piquet, A. (2016). Change in B and E vitamin and lutein,  $\beta$ -sitosterol contents in industrial milling fractions and during toasted bread production. *Journal of Cereal Science*, 69: 290–296. doi: 10.1016/j.jcs.2016.04.005. ([5] Artículo 1).
- Nyström, L., Lampi, A.M., Andersson, A.A.M., Kamal-Eldin, A., Gebruers, K., Courtin, C.M., Delcour, J.A., Li, L., Ward, J.L., Fras, A., Boros, D., Rakszegi, M., Bedo, Z., Shewry, P.R., & Piironen, V. (2008). Phytochemicals and Dietary Fiber Components in Rye Varieties in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21): 9758–9766. doi: 10.1021/jf801065r.
- Okarter, N., Liu, C.S., Sorrells, M E., & Liu, R.H. (2010). Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. *Food chemistry*, 119(1): 249-257. doi:10.1016/j.foodchem.2009.06.021. ([44] Artículo 1).
- Oldways Preservation and Exchange Trust. (2009). Mediterranean Diet Pyramid. Disponible en: <https://oldwayspt.org/traditional-diets/mediterranean-diet>. (Acceso: 29/02/2020).
- Oliveira, L.C., Rosell, C.M., & Steel, C.J. (2015). Effect of the addition of wholegrain wheat flour and of extrusion process parameters on dietary fibre content, starch transformation and mechanical properties of a ready-to-eat breakfast cereal. *International Journal of Food Science and Technology*, 50: 1504-14. doi: 10.1111/ijfs.12778.
- Ortega, R.M., Aparicio Vizueté, A., Jiménez Ortega, A.I., & Rodríguez Rodríguez, E. (2015). Cereales de grano completo y sus beneficios sanitarios. *Nutrición Hospitalaria*, 32(1): 25-31. doi:10.3305/nh.2015.32.sup1.9475.
- Osborne, D.R., & Voogt, P. (1986). *Análisis de los nutrientes de los alimentos*. (1st Ed.), Acribia, Zaragoza.
- Osorio, C.E., Amiard, V.S., Aravena-Calvo, J., Udall, J.A., Doyle, J.J., & Maureira-Butler, I.J. (2018). Chromatographic fingerprinting of *Lupinus luteus* L. (Leguminosae) main secondary metabolites: a case of domestication affecting crop variability. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65(4): 1281-1291. doi: 10.1007/s10722-018-0613-x.
- Ötles, S., & Ozgoz, S. (2014). Health Effects of Dietary Fiber. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 13(2): 191-202.

- Ou, J.Y., Huang, J.Q., Song, Y., Yao, S.W., Peng, X.C., Wang, M.F., & Ou, S.Y. (2016). Feruloylated Oligosaccharides from Maize Bran Modulated the Gut Microbiota in Rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71: 123-128. doi: 10.1007/s11130-016-0547-4.
- Özcan, M.M., Özkan, G., & Topal, A. (2006). Characteristics of grains and oils of four different oats (*Avena sativa* L.) cultivars growing in Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57(5-6): 345-352. doi: 10.1080/09637480600802363.
- Özer, E. A., Herken, E. N., Güzel, S., Ainsworth, P., & İbanoğlu, Ş. (2006). Effect of extrusion process on the antioxidant activity and total phenolics in a nutritious snack food. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(3): 289-293. doi:10.1111/j.1365-2621.2005.01062.x. ([11] Artículo 2).
- Ozyurt, V.H., & Ötles, S. (2016). Effect of food processing on the physicochemical properties of dietary fibre. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15(3): 233-245. doi: 10.17306/J.AFS.2016.3.23.
- Padayachee, A., Day, L., Howell, K., & Gidley, M.J. (2017). Complexity and health functionality of plant cell wall fibers from fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(1): 59-81. doi: 10.1080/10408398.2013.850652.
- Padhi, E. M., Liu, R., Hernandez, M., Tsao, R., & Ramdath, D.D. (2017). Total polyphenol content, carotenoid, tocopherol and fatty acid composition of commonly consumed Canadian pulses and their contribution to antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 38: 602-611. doi: 10.1016/j.jff.2016.11.006.
- Panizo-Casado, M., Déniz-Expósito, P., Rodríguez-Galdón, B., Afonso-Morales, D., Ríos-Mesa, D., Díaz-Romero, C., & Rodríguez-Rodríguez, E.M. (2020). The chemical composition of barley grain (*Hordeum vulgare* L.) landraces from the Canary Islands. *Journal of Food Science*. doi: 10.1111/1750-3841.15144.
- Park, E.Y., Baik, B.K., Miller, P.R., Burke, I.C., Wegner, E.A., Tautges, N.E., Morris, C.F. & Fuerst, E.P. (2015). Functional and nutritional characteristics of wheat grown in organic and conventional cropping systems. *Cereal Chemistry*, 92(5): 504-512. doi: 10.1094/CCHEM-01-15-0007-R.
- Patterson, C.A., Curran, J., & Der, T. (2017). Effect of Processing on Antinutrient Compounds in Pulses. *Cereal Chemistry*, 94, 1: 2–10. doi: 10.1094/CCHEM-05-16-0144-FI.

- Paula, A.M. (2014). Texture profile and correlation between sensory and instrumental analyses on extruded snacks. *Journal of Food Engineering*, 121: 9–14.
- Paznocht, L., Kotíková, Z., Šulc, M., Lachman, J., Orsák, M., Eliášová, M., & Martinek, P. (2018). Free and esterified carotenoids in pigmented wheat, tritordeum and barley grains. *Food Chemistry*, 240: 670–678. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.07.151. ([41] Artículo 1).
- Pedrosa, M.M., Cuadrado, C., Burbano, C., Allaf, K., Haddad, J., Gelencsér, E., Takács, K., Guillamón, E., & Muzquiz, M. (2012). Effect of instant controlled pressure drop on the oligosaccharides, inositol phosphates, trypsin inhibitors and lectins contents of different legumes. *Food Chemistry*, 131, 862-868. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.061>.
- Pedrosa, M.M., Cuadrado, C., Burbano, C., Muzquiz, M., Cabellos, B., Olmedilla-Alonso, B., & Asensio-Vegas, C. (2015). Effects of industrial canning on the proximate composition, bioactive compounds contents and nutritional profile of two Spanish common dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 166: 68-75. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.05.158.
- Pedrosa, M.M., Varela, A., Fernández, E.G., Cabellos, B., Juana, C B., Fernández, J.G., de Mercado, E., Gómez-Izquierdo, E., Cuadrado, C., & Muzquiz, M. (2016). Biochemical characterization of legume seeds as ingredients in animal feed. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 14(1): 16. doi: 10.5424/sjar/2016141-7450.
- Peh, H. Y., Tan, W. D., Liao, W., & Wong, W. F. (2016). Vitamin E therapy beyond cancer: Tocopherol versus tocotrienol. *Pharmacology & Therapeutics*, 162, 152-169. doi: 10.1016/j.pharmthera.2015.12.003.
- Pérez-Hidalgo, M.A., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (1997). Dietary Fiber in Three Raw Legumes and Processing Effect on Chick Peas by an Enzymatic-Gravimetric Method. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10: 66-72.
- Pérez-Torrado, R., Gamero, E., Gómez-Pastor, R., Garre, E., Aranda, A., & Matallana E. (2015). Yeast biomass, an optimised product with myriad applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 46, 167-175. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.008>.

- Peryam, D.R., & Pilgrim, F. J. (1957). Hedonic scale method of measuring food preferences. *Food technology*.
- Peterson, C.J., Johnson, V.A., & Mattern, P.J. (1986). Influence of Cultivar and Environment on Mineral and Protein Concentrations of Wheat Flour, Bran, and Grain. *Cereal Chemistry*, 63(3): 183-186.
- Petrilli, A.A., Souza, S.J., Teixeira, A.M., Pontilho, P.M., Souza, J.M., Luzia, L.A., & Rondó, P.H. (2016). Effect of chocolate and yerba mate phenolic compounds on inflammatory and oxidative biomarkers in HIV/AIDS individuals. *Nutrients*, 8(5): 132. doi: doi:10.3390/nu8050132.
- Prajapati, M. R., Patel, V., Parekh, T., & Subhash, R. (2013). Effect of in bio-processing on antioxidant activity of selected cereals. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 3(2): 66-72.
- Prasad, V.S.S., Hymavathi, A., Ravindra Babu, V., & Longvah, T. (2018). Nutritional composition in relation to glycemic potential of popular Indian rice varieties. *Food Chemistry*, 238: 29-34. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.03.138.
- Prasanthi, P.S., Naveena, N., Vishnuvardhana Rao, M., & Bhaskarachary, K. (2017). Compositional variability of nutrients and phytochemicals in corn after processing. *Journal of Food Science and Technology*, 54(5): 1080-1090. doi: 10.1007/s13197-017-2547-2.
- Proyecto AGL2012-38345. (2013-2015). Mejora genética en trigo blando y trigo duro: calidad funcional, calidad nutricional y compuestos bioactivos. Investigador principal: José María Carrillo Becerril.
- Qasem, A.A.A., Alamri, M.S., Mohamed, A.A., Hussain, S., Mahmood, K., & Ibraheem, M.A. (2017). Soluble fiber-fortified sponge cakes: formulation, quality and sensory evaluation. *Food Measure*, 11: 1516-1522. doi: 10.1007/s11694-017-9530-5.
- Qiu, S., Yadav, M.P., & Yin, L. (2017). Characterization and functionalities study of hemicellulose and cellulose components isolated from sorghum bran, bagasse and biomass. *Food Chemistry*, 230: 225-233. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.03.028.

- Raigond, P., Ezekiel, R., & Raigond, B. (2015). Resistant starch in food: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95: 1968-1978. doi: 10.1002/jsfa.6966.
- Rainakari, A.I., Rita, H., Putkonen, T., & Pastell, H. (2016). New dietary fibre content results for cereals in the Nordic countries using AOAC 2011.25 method. *Journal of Food Composition and Analysis*, 51: 1-8. doi: 10.1016/j.jfca.2016.06.001. ([16] Artículo 1).
- Ramulu, P., & Rao, P.U. (1997). Effect of processing on dietary fiber content of cereals and pulses. *Plant Foods for Human Nutrition*, 50(3): 249-257.
- Rasane, P., Jha, A., Sabikhi, L., Kumar, A., & Unnikrishnan, V.S. (2015). Nutritional advantages of oats and opportunities for its processing as value added foods - a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2): 662-675. doi: 10.1007/s13197-013-1072-1
- Rathod, R.P., & Annapure, U.S. (2016). Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 114-123. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.028>.
- Rathod, R.P., & Annapure, U.S. (2017). Physicochemical properties, protein and starch digestibility of lentil based noodle prepared by using extrusion processing. *LWT-Food Science and Technology*, 80, 121-130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.001>.
- Rauwendaal, C. (2014). *Polymer Extrusion*. 5ª Ed. Hanser Publishers. Munich. Alemania.
- Real Decreto 1124/1982, de 30 de abril, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la Elaboración Fabricación, Circulación y Comercio de Galletas. BOE núm. 133, de 4 de junio de 1982. Referencia: BOE-A-1982-13243.
- Real Decreto 126/1989, de 3 de febrero, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración y comercialización de patatas fritas y productos de aperitivo. BOE núm. 33, de 8 de febrero de 1989. Referencia: BOE-A-1989-3081.
- Real Decreto 1286/1984, de 23 de mayo, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de las harinas y sémolas de trigo y otros productos de su molienda, para consumo humano. BOE Nº. 161, de 6 de julio de 1984. Referencia: BOE-A-1984-15336.

- Real Decreto 2507/1983, de 4 de agosto, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración y comercialización de masas fritas. BOE núm. 225, de 20 de septiembre de 1983. Referencia: BOE-A-1983-25248.
- Real Decreto 308/2019, de 26 de abril, por el que se aprueba la norma de calidad para el pan. BOE núm. 113, de 11 de mayo de 2019, pág. 50168.
- Real Decreto 496/2010, de 30 de abril, por el que se aprueba la norma de calidad para los productos de confitería, pastelería, bollería y repostería. BOE núm. 118, de 14 de mayo de 2010. Referencia: BOE-A-2010-7714.
- Real Decreto 677/2016, de 16 de diciembre, por el que se aprueba la norma de calidad para las harinas, las sémolas y otros productos de la molienda de los cereales. BOE N°. 304, de 17 de diciembre de 2016. Referencia: BOE-A-2016-11951.
- Reyes-Pérez, F., Salazar-García, M.G., Romero-Baranzini, A.L., Islas-Rubio, A.R., & Ramírez-Wong, B. (2013). Estimated glycemic index and dietary fiber content of cookies elaborated with extruded wheat bran. *Plant foods for human nutrition*, 68(1): 52-56. doi: 10.1007/s11130-013-0338-0.
- Riaz, M.N., Asif, M., & Ali, R. (2009). Stability of vitamins during extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(4): 361-8. doi: 10.1080/10408390802067290 PMID: 19234945. ([54] Artículo 2).
- Rodehutschord, M., Rückert, C., Maurer, H.P., Schenkel, H., Schipprack, W., Bach Knudsen, K.E., Schollenberger, M., Laux, M., Eklund, M., Siegert, W., & Mosenthin, R. (2016). Variation in chemical composition and physical characteristics of cereal grains from different genotypes. *Archives of Animal Nutrition*, 70(2): 87-107. doi: 10.1080/1745039X.2015.1133111.
- Rossi, M., Strikoudi, P., Spei, M. E., Parpinel, M., Serraino, D., Montella, M., Libra, M., La Vecchia, C., & Rosato, V. (2019). Flavonoids and bladder cancer risk. *Cancer Causes & Control*, 30(5): 527-535. doi: 10.1007/s10552-019-01158-2.
- Roy, M.K., Koide, M., Rao, T.P., Okubo, T., Ogasawara, Y., & Juneja, L.R. (2010). ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: Relationship between total polyphenol and individual catechin content. *International*

- Journal of Food Sciences and Nutrition, 61(2): 109–124. doi: 10.3109/09637480903292601.
- Roye, C., Bulckaen, K., De Bondt, Y., Liberloo, I., Van De Walle, D., Dewettinck, K., & Courtin, C.M. (2020). Side-by-side comparison of composition and structural properties of wheat, rye, oat, and maize bran and their impact on in vitro fermentability. *Cereal Chemistry*, 97(1), 20-33. doi: 10.1002/cche.10213.
- Rubianes Manzano, J. (2007). Prolaminas y marcadores moleculares relacionados con la calidad en Trigo Duro (*Triticum turgidum* L.). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España.
- Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T.P., Maguire, A.R., & O'Brien, N.M. (2007). Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(3): 85-91. doi: 10.1007/s11130-007-0046-8.
- Saeed, F., Pasha, I., Anjum, F.M., & Sultan, M.T. (2011). Arabinoxylans and Arabinogalactans: A Comprehensive Treatise. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51: 467–476. doi: 10.1080/10408391003681418. ([8] Artículo 2).
- Salas-Salvadó, J., Bulló, M., Babio, N., Martínez-González, M. Á., Ibarrola-Jurado, N., Basora, J., Estruch, R., Covas, M.I., Corella, D., Arós, F., Ruiz-Gutiérrez, V., & Ros, E. (2011). Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean Diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial. *Diabetes care*, 34(1): 14-19. doi: 10.2337/dc10-1288.
- Salehifar, M., & Shahedi, M. (2007). Effects of oat flour on dough rheology, texture and organoleptic properties of taftoon bread. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 9: 227–234.
- Sánchez-Mata, M.C., Peñuela-Teruel, M.J., Cámara-Hurtado, M., Díez-Marqués, C., & Torija-Isasa, M.E. (1998). Determination of mono-, di-, and oligosaccharides in legumes by high-performance liquid chromatography using an amino-bonded silica column. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9): 3648-3652.

- Sánchez-Mata, M.C., Cámara-Hurtado, M., & Díez-Marqués, C. (1999). Effect of domestic processes and water hardness on soluble sugars content of chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Food chemistry*, 65(3): 331-338.
- Sangronis, E., Machado, C., & Cava, R. (2004). Propiedades funcionales de las harinas de leguminosas (*Phaseolus vulgaris* y *Caján cajan*) germinadas. *Interciencia*, 29 (2): 80-85.
- Sarmiento, A., Barros, L., Fernandes, A., Carvalho, A.M., & Ferreira, I.C.F.R. (2015). Valorization of traditional foods: nutritional and bioactive properties of *Cicer arietinum* L. and *Lathyrus sativus* L. pulses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1): 179-185. doi: 10.1002/jsfa.6702.
- Sasipriya, G., & Siddhuraju P. (2012). Effect of different processing methods on antioxidant activity of underutilized legumes, *Entada scandens* seed kernel and *Canavalia gladiata* seeds. *Food and Chemical Toxicology*, 50: 2864–2872. doi: 10.1016/j.fct.2012.05.048.
- Saura-Calixto, F. (2011). Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1): 43-49. doi: 10.1021/jf1036596.
- Schmiele, M., Zafalon Jaekel, L., Cardoso Patricio, S.M., Joy Steel, C., & Chang, Y.K. (2012). Rheological properties of wheat flour and quality characteristics of pan bread as modified by partial additions of wheat bran or whole grain wheat flour. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 2141–2150. doi:10.1111/j.1365-2621.2012.03081.x. ([19] Artículo 1).
- Sedj, I., Mandic, A., Sakac, M., Misan, A., & Tumbas, V. (2010). Comparison of Antioxidant Components and Activity of Buckwheat and Wheat Flours. *Cereal Chemistry*, 87: 387–392. ([35] Artículo 1).
- SENC. Sociedad Española de Nutrición Comunitaria. (2016). Guías alimentarias para la población española. La nueva pirámide de la alimentación saludable. *Nutrición Hospitalaria*, 33(8): 1-48. doi: 10.20960/nh.827.
- SENC. Sociedad Española de Nutrición Comunitaria. (2018). Guía de Alimentación Saludable para Atención Primaria y colectivos ciudadanos. Disponible en:

- <http://www.nutricioncomunitaria.org/es/noticia/guia-alimentacion-saludable-ap>.  
(Acceso: 29/02/2020).
- Serra-Majem, L., & Ortiz-Andrellucchi, A. (2018). The Mediterranean Diet as an example of food and nutrition sustainability: A multidisciplinary approach. *Nutrición Hospitalaria*, 35(4), 96-101. doi: 10.20960/nh.2133.
- Serra-Majem, L., Roman-Vinas, B., Sanchez-Villegas, A., Guasch-Ferre, M., Corella, D., & La Vecchia, C. (2019). Benefits of the Mediterranean diet: Epidemiological and molecular aspects. *Molecular aspects of medicine*, 67: 1-55. doi: 10.1016/j.mam.2019.06.001.
- Sesso, H.D., Buring, J.E., Christen, W.G., Kurth, T., Belanger, C., MacFadyen, J., Bubes, V., Manson, J.E., Glynn, R.J., & Gaziano, J.M. (2008). Vitamins E and C in the Prevention of Cardiovascular Disease in Men: The Physicians' Health Study II Randomized Trial. *JAMA*, 300(18): 2123-2133. doi:10.1001/jama.2008.600.
- Shammugasamy, B., Ramakrishnan, Y., Ghazali, H.M., & Muhammad, K. (2015). Tocopherol and tocotrienol contents of different varieties of rice in Malaysia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(4): 672-678. doi: 10.1002/jsfa.6742.
- Sharanappa, T., Chetana, R., & Kumar, G.S. (2016). Evaluation of genotypic wheat bran varieties for nutraceutical compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 53(12): 4316-4324. doi: 10.1007/s13197-016-2430-6.
- Shariati-Ievari, S., Ryland, D., Edel, A., Nicholson, T., Suh, M., & Aliani, M. (2016). Sensory and Physicochemical Studies of Thermally Micronized Chickpea (*Cicer arietinum*) and Green Lentil (*Lens culinaris*) Flours as Binders in Low-Fat Beef Burgers. *Journal of Food Science*, 81(5): 1230-1242. doi: 10.1111/1750-3841.13273.
- Sharma, O.P., & Bhat, T.JK. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113: 1202-1205. doi:10.1016/j.foodchem.2008.08.008.
- Sharma, P., Gujral, H. S., & Singh, B. (2012). Antioxidant activity of barley as affected by extrusion cooking. *Food Chemistry*, 131(4): 1406-1413. doi:10.1016/j.foodchem.2011.10.009. ([57] Artículo 2).
- Sherif, A.A., Abdelhalim, S.Z., & Salim, E.I. (2017). Immunohistochemical and biochemical alterations following administration of proanthocyanidin extract in rats hepatocellular

- carcinoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 93: 1310-1319. doi: 10.1016/j.biopha.2017.07.039.
- Shewry, P.R., Hawkesford, M.J., Piironen, V., Lampi, A.M., Gebruers, K., Boros, D., Andersson, A.A.M., Åman, P., Rakszegi, M., Bedo, Z., & Ward, J.L. (2013). Natural Variation in Grain Composition of Wheat and Related Cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 8295–8303. doi: 10.1021/jf3054092. ([20] Artículo 1).
- Shi, R., Zhang, Y., Chen, X., Sun, Q., Zhang, F., Römheld, V., & Zou, C. (2010). Influence of long-term nitrogen fertilization on micronutrient density in grain of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science*, 51(1): 165-170. doi:10.1016/j.jcs.2009.11.008.
- Shi, L., Arntfield, S.D., & Nickerson, M. (2018). Changes in levels of phytic acid, lectins and oxalates during soaking and cooking of Canadian pulses. *Food Research International*, 107: 660-668. doi: 10.1016/j.foodres.2018.02.056.
- Shih, M. C., Kuo, C.C., & Chiang, W. (2009). Effects of drying and extrusion on colour, chemical composition, antioxidant activities and mitogenic response of spleen lymphocytes of sweet potatoes. *Food Chemistry*, 117(1): 114-121. doi:10.1016/j.foodchem.2009.03.084. ([25] Artículo 2).
- Shinozaki, K., Okuda, M., Sasaki, S., Kunitsugu, I., & Shigeta, M. (2015). Dietary Fiber Consumption Decreases the Risks of Overweight and Hypercholesterolemia in Japanese Children. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 67: 58-64. doi: 10.1159/000434634.
- Shortt, C., Hasselwander, O., Meynier, A., Nauta, A., Noriega Fernández, E., Putz, P., Rowland, I., Swann, J., Türk, J., Vermeiren, J., & Antoine, J.M. (2018). Systematic review of the effects of the intestinal microbiota on selected nutrients and non-nutrients. *European Journal of Nutrition*, 57: 25-49. doi: 10.1007/s00394-017-1546-4
- Sidhu, J.S., Kabir, Y., & Huffman, F.G. (2007). Functional foods from cereal grains. *International Journal of Food Properties*, 10(2): 231-244. doi: 10.1080/10942910601045289.
- Siljeström, M., Westerlund, E., Björck, I., Holm, J., Asp, N.G., & Theander, O. (1986). The effects of various thermal processes on dietary fibre and starch content of whole grain

- wheat and white flour. *Journal of Cereal Science*, 4(4): 315-323. doi: 10.1016/S0733-5210(86)80035-2.
- Sima, P., Vannucci, L., & Vetvicka, V. (2018).  $\beta$ -glucans and cholesterol (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 41(4): 1799-1808. doi: 10.3892/ijmm.2018.3411.
- Simsek, S., Budak, B., Schwebach, C.S., & Ovando-Martínez, M. (2019). Historical vs. modern hard red spring wheat: Analysis of the chemical composition. *Cereal Chemistry*, 96(5): 937-949. doi: 10.1002/cche.10198.
- Singh, S., Gamlath, S., & Wakeling, L. (2007). Nutritional aspects of food extrusion: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 42: 916–929. doi: 10.1111/j.1365-2621.2006.01309.x. ([24] Artículo 2).
- Singh, S., & Singh, R.P. (2008). *In Vitro* Methods of Assay of Antioxidants: An Overview. *Food Reviews International*, 24:392–415. doi: 10.1080/87559120802304269.
- Singh, R.S., Bhari, R., & Kaur, H.P. (2011). Characteristics of yeast lectins and their role in cell-cell interactions. *Biotechnology Advances*, 29, 726-731. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.06.002>.
- Singh, J., & Basu, P.S. (2012). Non-Nutritive bioactive compounds in pulses and their impact on human health: an overview. *Food and Nutrition Sciences*, 3: 1664-72. doi: 10.4236/fns.2012.312218.
- Singh, R.P., & Heldman, D.R. (2014). Extrusion Processes for Foods. In: *Introduction to Food Engineering* (5<sup>th</sup> Ed.). Elsevier.
- Singh, S.P., Singh Jadaun, J.S., Narnoliya, L.K., & Pandey, A. (2017). Prebiotic Oligosaccharides: Special Focus on Fructooligosaccharides, Its Biosynthesis and Bioactivity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183: 613-635. doi: 10.1007/s12010-017-2605-2.
- Singhal, P., Kaushik, G., & Mathur, P. (2014). Antidiabetic Potential of Commonly Consumed Legumes: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(5): 655-672. doi: 10.1080/10408398.2011.604141.

- Siva, N., Thavarajah, P., Kumar, S., & Thavarajah, D. (2019). Variability in prebiotic carbohydrates in different market classes of chickpea, common bean, and lentil collected from the American local market. *Frontiers in nutrition*, 6: 38. doi: 10.3389/fnut.2019.00038.
- Slavin, J. (2013). Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients*, 5: 1417-1435. doi:10.3390/nu5041417.
- Sobota, A., Rzedzicki, Z., Zarzycki, P., & Kuzawinska, E. (2015). Application of common wheat bran for the industrial production of high-fibre pasta. *International Journal of Food Science and Technology*, 50: 111–119. doi:10.1111/ijfs.12641. ([18] Artículo 1).
- Socias, R., Rubio-Cabetas, M.J., Garcés-Claver, A., Mallor, C., & Álvarez, J.M. (2014). La obtención de variedades: desde la mejora clásica hasta la mejora genética molecular. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA) (Ed.). España.
- Sozer, N., Holopainen-Mantila, U., & Poutanen, K. (2017). Traditional and New Food Uses of Pulses. *Cereal Chemistry*, 94(1): 66-73. doi: 10.1094/CCHEM-04-16-0082-FI.
- Sreerama, Y.N., Sashikala, V.B., & Pratape, V.M. (2010). Variability in the distribution of phenolic compounds in milled fractions of chickpea and horse gram: evaluation of their antioxidant properties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(14): 8322-8330. doi:10.1021/jf101335r.
- Srichuwong, S., Curti, D., Austin, S., King, R., Lamothe, L., & Gloria-Hernandez, H. (2017). Physicochemical properties and starch digestibility of whole grain sorghums, millet, quinoa and amaranth flours, as affected by starch and non-starch constituents. *Food Chemistry*, 233: 1–10. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.019.
- Sterna, V., Zute, S., & Brunava, L. (2016). Oat grain composition and its nutrition benefice. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 8: 252-256. doi: 10.1016/j.aaspro.2016.02.100.
- Šterna, V., Zute, S., Jansone, I., & Kantane, I. (2017). Chemical Composition of Covered and Naked Spring Barley Varieties and Their Potential for Food Production. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(2): 151-158. doi: 10.1515/pjfns-2016-0019.

- Stojanović, J., Lazić, M., Stojanović, G., & Nikolić, N. (2014). Composition and Radical Scavenging Capacity of Phenolic Compounds in Wheat-Chickpea Dough. *International journal of food properties*, 17(8): 1861-1871. doi: 10.1080/10942912.2013.767832.
- Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., & İbanoğlu, Ş. (2010). The advantage of using extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten-free products. *Food chemistry*, 121(1): 156-164. doi:10.1016/j.foodchem.2009.12.024.
- Suknark, K., McWatters, K.H., & Phillips, R.D. (1998). Acceptance by American and Asian consumers of extruded fish and peanut snack products. *Journal of Food Science*, 63(4): 721-725.
- Sundarrajan, L. (2014). Effect of extrusion cooking on the nutritional properties of amaranth, quinoa, kañiwa and lupine. Doctoral Thesis. University of Helsinki. Finland.
- Swamy, B.M., Samia, M., Boncodin, R., Marundan, S., Rebong, D.B., Ordonio, R.L., Miranda, R.T. Rebong, A.T.O., Alibuyog, A.Y., Adeva, C.C., Reinke, R. & MacKenzie, D.J. (2019). Compositional analysis of genetically engineered GR2E “Golden Rice” in comparison to that of conventional rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(28): 7986-7994. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b01524.
- Świeca, M., Gawlik-Dziki, U., Kowalczyk, D., & Złotek, U. (2012). Impact of germination time and type of illumination on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of *Lens culinaris* sprouts. *Scientia Horticulturae*, 140: 87-95. ([40] Artículo 2).
- Taccari, M., Aquilanti, L., Polverigiani, S., Osimani, A., Garofalo, C., Milanovic, V., & Clementi, F. (2016). Microbial Diversity of Type I Sourdoughs Prepared and Back-Slopped with Wholemeal and Refined Soft (*Triticum aestivum*) Wheat Flours. *Journal of Food Science*, 81: 1996–2005. doi: 10.1111/1750-3841.13372. ([4] Artículo 1).
- Tamanna, N., & Mahmood, N. (2015). Food processing and maillard reaction products: effect on human health and nutrition. *International Journal of Food Science*, 1-6. doi: 10.1155/2015/526762.
- Tanabe, K., Nakamura, S., & Oku, T. (2014). Inaccuracy of AOAC method 2009.01 with amyloglucosidase for measuring non-digestible oligosaccharides and proposal for an improvement of the method. *Food Chemistry*, 151: 539-546. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.11.121.

- Tang, Y., & Tsao, R. (2017). Phytochemicals in quinoa and amaranth grains and their antioxidant, anti-inflammatory, and potential health beneficial effects: a review. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(7): 1-16. doi: 10.1002/mnfr.201600767.
- Tanimoto, T., Ikuta, A., Sugiyama, M., & Koizumi K. (2002). HPLC Analysis of Manno-Oligosaccharides Derived from *Saccharomyces cerevisiae* Mannan Using an Amino Column or a Graphitized Carbon Column. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50: 280-283. doi: 10.1248/cpb.50.280.
- Tao, J., Li, Y., Li, S., & Li, H.B. (2018). Plant foods for the prevention and management of colon cancer. *Journal of Functional Foods*, 42: 95-110. doi: 10.1016/j.jff.2017.12.064.
- Teitelbaum J.E., & Walker, W.A. (2002). Nutritional Impact of Pre- and Probiotics as Protective Gastrointestinal Organisms. *Annual Review of Nutrition*, 22: 107–38. doi: 10.1146/annurev.nutr.22.110901.145412.
- Teixeira, C., Nyman, M., Andersson, R., & Alminger, M. (2016). Effects of variety and steeping conditions on some barley components associated with colonic health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(14): 4821-4827. doi: 10.1002/jsfa.7923.
- Theander, O., & Westerlund, E. (1987). Studies on chemical modifications in heat-processed starch and wheat flour. *Starch-Stärke*, 39(3): 88-93. ([32] Artículo 2).
- Thompkinson, D.K., Bhavana, V., & Kanika, P. (2014). Dietary approaches for management of cardio-vascular health- a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10): 2318-2330. doi: 10.1007/s13197-012-0661-8.
- Threapleton, D.E., Greenwood, D.C., Evans, C.E.L., Cleghorn, C.L., Nykjaer, C., Woodhead, C., Cade, J.E., Gale, C.P., & Burley, V.J. (2013). Dietary fibre intake and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal*, 347: 1-12. doi: 10.1136/bmj.f6879.
- Toledo, E., Salas-Salvadó, J., Donat-Vargas, C., Buil-Cosiales, P., Estruch, R., Ros, E., Corella, D., Fitó, M., Hu, F.B., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Romaguera, D., Ortega-Calvo, M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Schröder, H., Basora, J., Sorlí, J.V., Bulló, M., Serra-Mir, M., & Martínez-González, M.A. (2015). Mediterranean Diet and invasive breast cancer risk among women at high cardiovascular risk in the PREDIMED trial: a randomized

- clinical trial. *JAMA Internal Medicine*, 175(11): 1752-1760. doi:10.1001/jamainternmed.2015.4838.
- Tomic, N., Dojnov, B., Miocinovic, J., Tomasevic, I., Smigic, N., Djekic, I., & Vujcic, Z. (2017). Enrichment of yoghurt with insoluble dietary fiber from triticale - A sensory perspective. *LWT - Food Science and Technology*, 80: 59-66. doi: 10.1016/j.lwt.2017.02.008.
- Tong, L.T., Zhong, K., Liu, L., Qiu, J., Guo, L., Zhou, X., Cao, L., & Zhou, S. (2014a). Effects of dietary wheat bran arabinoxylans on cholesterol metabolism of hypercholesterolemic hamsters. *Carbohydrate Polymers*, 112: 1-5. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.05.061.
- Tong, L.T., Liu, L.Y., Zhong, K., Wang, Y., Guo, L.N., & Zhou, S.M. (2014b). Effects of cultivar on phenolic content and antioxidant activity of naked oat in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 13(8): 1809-1816. doi: 10.1016/S2095-3119(13)60626-7.
- Torbica, A., Škrobot, D., Hajnal, E. J., Belović, M., & Zhang, N. (2019). Sensory and physico-chemical properties of wholegrain wheat bread prepared with selected food by-products. *LWT*, 114: 108414. doi: 10.1016/j.lwt.2019.108414.
- Torres, A., & Guerra, M. (2003). Sustitución parcial de harina de maíz precocida con harina de quinchoncho (*Cajanus cajan*) para la elaboración de arepas. *Interciencia*, 28(11): 660-664.
- Tosh, S.M., & Yada, S. (2010). Dietary fibres in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications. *Food Research International*, 43(2): 450-460. doi:10.1016/j.foodres.2009.09.005.
- Trinidad, T. P., Mallillin, A. C., Loyola, A. S., Sagum, R. S., & Encabo, R. R. (2010). The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fibre. *British Journal of Nutrition*, 103(4): 569-574. doi:10.1017/S0007114509992157. ([6] Artículo 2).
- Troncoso, O.P., Zamora, B., & Torres, F.G. (2017). Thermal and Rheological Properties of the Mucilage From the Fruit of *Cordia lutea*. *Polymers from Renewable Resources*, 8(3): 79-90. doi: 10.1177/204124791700800301.

- Trono, D. (2019). Carotenoids in Cereal Food Crops: Composition and Retention throughout Grain Storage and Food Processing. *Plants*, 8: 551. doi:10.3390/plants8120551. ([43] Artículo 1).
- Troszyńska, A., Estrella, I., Lamparski, G., Hernández, T., Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2011). Relationship between the sensory quality of lentil (*Lens culinaris*) sprouts and their phenolic constituents. *Food Research International*, 44(10): 3195-3201. ([38] Artículo 2).
- Tscheuschner, H.D. (2001). *Fundamentos de Tecnología de los Alimentos*. 2<sup>o</sup> Edición. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza, España.
- Tungland, B.C., & Meyer, D. (2002). Nondigestible Oligo- and Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3: 90-109. doi: 10.1111/j.1541-4337.2002.tb00009.x.
- Turner, M.A., Soh, C.H.N., Ganguli, N.K., & Sissons, M.J. (2008). A survey of water-extractable arabinopolymers in bread and durum wheat and the effect of water-extractable arabinoxylan on durum dough rheology and spaghetti cooking quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 2551–2555. doi: 10.1002/jsfa.3385. ([25] Artículo 1).
- UNE-EN-ISO 11136:2014. Análisis sensorial. Metodología. Guía general para la realización de pruebas hedónicas con consumidores en una zona controlada.
- United States Department of Agriculture (USDA) (2014). *Technical Evaluation Report* Compiled by OMRI for the USDA National Organic Program.
- UPM. Universidad Politécnica de Madrid. (2020). Disponible en: [https://www.upm.es/Investigacion?fmt=detail&prefmt=articulo&id=40e2f3d0e47ce210VgnVCM10000009c7648a\\_\\_\\_\\_\\_](https://www.upm.es/Investigacion?fmt=detail&prefmt=articulo&id=40e2f3d0e47ce210VgnVCM10000009c7648a_____) (Acceso: 31 de Agosto de 2020).
- Vaher, M., Matso, K., Levandi, T., Helmja, K., & Kaljurand, M. (2010). Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties. *Procedia Chemistry*, 2: 76–82. doi:10.1016/j.proche.2009.12.013. ([28] Artículo 1).

- Valls-Pedret, C., Sala-Vila, A., Serra-Mir, M., Corella, D., De la Torre, R., Martínez-González, M.A., Martínez-Lapiscina, E.H., Fitó, M., Pérez-Heras, A., Salas-Salvadó, J., Estruch, R., Ros, E. (2015). Mediterranean Diet and age-related cognitive decline: a randomized clinical trial. *JAMA Internal Medicine*, 175(7): 1094-1103. doi:10.1001/jamainternmed.2015.1668.
- Van Craeyveld, V. (2009). Production and functional characterisation of arabinoxylan-oligosaccharides from wheat (*Triticum aestivum* L.) bran and psyllium (*Plantago ovata* Forsk) seed husk. Thesis. Universidad K.U. Leuven, Belgium.
- Van den Broeck, H.C., Londono, D.M., Timmer, R., Smulders, M.J., Gilissen, L.J., & Van der Meer, I.M. (2016). Profiling of nutritional and health-related compounds in oat varieties. *Foods*, 5(1): 2. doi:10.3390/foods5010002.
- Van der Poel, A. F. B., Stolp, W., Van Zuilichem, D.J. (1992). Twin-screw extrusion of two pea varieties: Effects of temperature and moisture level on antinutritional factors and protein dispersibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58, 83-87 <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740580114>.
- Varo, P., Liane, R. & Koivistoinen, P. (1983). Effect of head treatment on dietary fibre: interlaboratory study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 66: 933-938.
- Vasanthan, T., Gaosong, J., Yeung, J., & Li, J. (2002). Dietary fiber profile of barley flour as affected by extrusion cooking. *Food Chemistry*, 77(1): 35-40. ([26] Artículo 2).
- Vásquez Lara, F., Amat, S.V., Rubio, A.R.I., Baviera, J.M.B., Meló, R.G., & Peñuelas, R.C. (2017). Efecto de la sustitución de harina de trigo con harina de avena, maíz y sorgo sobre las propiedades reológicas de la masa, texturales y sensoriales del pan. *Investigación y Ciencia*, 25(71): 19-26.
- Vignola, M.B., Moiraghi, M., Salvucci, E., Baroni, V., & Pérez, G.T. (2016). Whole meal and white flour from Argentine wheat genotypes: Mineral and arabinoxylans differences. *Journal of Cereal Science*, 2016, 71: 217-223. doi: 10.1016/j.jcs.2016.09.002. ([11] Artículo 1).
- Visioli, G., Comastri, A., Imperiale, D., Paredi, G., Faccini, A., & Marmiroli, N. (2016). Gel-Based and Gel-Free Analytical Methods for the Detection of HMW-GS and LMW-GS

- in Wheat Flour. *Food Analytical Methods*, 9: 469–476. doi: 10.1007/s12161-015-0218-3. ([3] Artículo 1).
- Vitaglione, P., Napolitano, A., & Fogliano, V. (2008). Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends in Food Science & Technology*, 19: 451-463. doi: 10.1016/j.tifs.2008.02.005.
- Wang, W.M. & Klopfenstein, C.F. (1993). Effects of twin-screw extrusion on the nutritional quality of wheat, barley, oats. *Cereal Chemistry*, 70: 712–725.
- Wang, N., Hatcher, D. W., Toews, R., & Gawalko, E.J. (2009). Influence of cooking and dehulling on nutritional composition of several varieties of lentils (*Lens culinaris*). *LWT-Food Science and Technology*, 42(4): 842-848. doi:10.1016/j.lwt.2008.10.007.
- Wang, T., He, F., & Chen, G. (2014). Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. *Journal of Functional Foods*, 7: 101-111. doi: 10.1016/j.jff.2014.01.033. ([50] Artículo 2).
- Wang, F., Zhao, H., Yu, C., Tang, J., Wu, W., & Yang, Q. (2020). Determination of the geographical origin of maize (*Zea mays* L.) using mineral element fingerprints. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(3): 1294-1300.
- Warechowska, M., Warechowski, J., Tyburski, J., Siemianowska, E., Nawrocka, A., Miś, A., & Skrajda-Brdak, M. (2019). Evaluation of physicochemical properties, antioxidant potential and baking quality of grain and flour of primitive rye (*Secale cereale* var. *Multicaule*). *Journal of food science and technology*, 56(7): 3422-3430. doi: 10.1007/s13197-019-03827-1.
- Welham, T., & Domoney, C. (2000). Temporal and spatial activity of a promoter from a pea enzyme inhibitor gene and its exploitation for seed quality improvement. *Plant Science*, 159, 289–299. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(00\)00358-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00358-7).
- Westfall, R. J., & Hauge, S. M. (1948). The nutritive quality and the trypsin inhibitor content of soybean flour heated at various temperatures. *The Journal of Nutrition*, 35, 3, 379–389. doi.org/10.1093/jn/35.3.379.
- Whent, M., Huang, H., Xie, Z., Lutterodt, H., Yu, L., Fuerst, E.P., Morris, C.F., Yu, L., & Luthria, D. (2012). Phytochemical Composition, Anti-inflammatory, and

- Antiproliferative Activity of Whole Wheat Flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 2129–2135. doi: 10.1021/jf203807w. ([45] Artículo 1).
- Wolfe, K., Wu, X., & Liu, R.H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 609–614. doi: 10.1021/jf020782a. ([10] Artículo 1).
- Wolters, M., Ahrens, J., Romaní-Pérez, M., Watkins, C., Sanz, Y., Benítez-Páez, A., & Günther, K. (2018). Dietary fat, the gut microbiota, and metabolic health – A systematic review conducted within the MyNewGut project. *Clinical Nutrition* in press.
- Wood, A.D., Strachan, A.A., Thies, F., Aucott, L.S., Reid, D.M., Hardcastle, A.C., Mavroei, A., Simpson, W.G., Duthie, G.G., & Macdonald, H.M. (2014). Patterns of dietary intake and serum carotenoid and tocopherol status are associated with biomarkers of chronic low-grade systemic inflammation and cardiovascular risk. *British journal of nutrition*, 112(8): 1341-1352. doi:10.1017/S0007114514001962.
- Wyatt, C. J., Carballido, S. P., & Mendez, R. O. (1998).  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol content of selected foods in the Mexican diet: effect of cooking losses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(11): 4657-4661. doi: 10.1021/jf9800716.
- Xu, B., & Chang, S.K. (2010). Phenolic substance characterization and chemical and cell-based antioxidant activities of 11 lentils grown in the Northern United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(3): 1509-1517. ([49] Artículo 2).
- Yan, X., Ye, R., & Chen, Y. (2015). Blasting extrusion processing: The increase of soluble dietary fiber content and extraction of soluble-fiber polysaccharides from wheat bran. *Food Chemistry*, 180: 106-115. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.01.127.
- Yang, C. S., Lu, G., Ju, J., & Li, G. X. (2010). Inhibition of inflammation and carcinogenesis in the lung and colon by tocopherols. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1203: 29-34. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05561.x.
- Yangilar, F. (2013). The Application of Dietary Fibre in Food Industry: Structural Features, Effects on Health and Definition, Obtaining and Analysis of Dietary Fibre: A Review. *Journal of Food and Nutrition Research*, 1(3): 13-23. doi: 10.12691/jfnr-1-3-1.

- Yao, B., Fang, H., Xu, W., Yan, Y., Xu, H., Liu, Y., Mo, M., Zhang, H., & Zhao, Y. (2014). Dietary fiber intake and risk of type 2 diabetes: a dose–response analysis of prospective studies. *European Journal of Epidemiology*, 29: 79–88. doi: 10.1007/s10654-013-9876-x.
- Yilmaz, V.A., & Koca, A.F. (2017). Effect of different production techniques on bioactive compounds and antioxidant capacity of einkorn (*Triticum monococcum* L.) and durum (*Triticum turgidum* subsp. durum) bulgur. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(1): 269-277. doi: 10.1002/jsfa.7724.
- Young, N.D., Drake, M., Lopetcharat, K., & McDaniel, M.R. (2004). Preference mapping of Cheddar cheese with varying maturity levels. *Journal of Dairy Science*, 87(1): 11-19.
- Young, L.S. (2012). Applications of texture analysis to dough and bread. In S. P. Cauvain (Ed.). *Breadmaking: improving quality* (second ed.). Woodhead Publishing.
- Yu, L., Nanguet, A.L., & Beta, T. (2013). Comparison of Antioxidant Properties of Refined and Whole Wheat Flour and Bread. *Antioxidants*, 2: 370–383. doi:10.3390/antiox2040370. ([46] Artículo 1).
- Zhai, S., Xia, X., & He, Z. (2016). Carotenoids in Staple Cereals: Metabolism, Regulation, and Genetic Manipulation. *Frontier in Plant Science*, 7: 1197. doi: 10.3389/fpls.2016.01197. ([42] Artículo 1).
- Zhang, B., Deng, Z., Tang, Y., Chen, P.X., Liu, R., Ramdath, D.D., Liu, Q., Hernandez, M., & Tsao, R. (2014). Effect of domestic cooking on carotenoids, tocopherols, fatty acids, phenolics, and antioxidant activities of lentils (*Lens culinaris*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(52): 12585-12594. ([45] Artículo 2).
- Zhang, B., Deng, Z., Ramdath, D.D., Tang, Y., Chen, P.X., Liu, R., Liu, Q., & Tsao, R. (2015). Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase. *Food Chemistry*, 172: 862-872. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.09.144. ([43] Artículo 2).
- Zhang, X., Lin, D., Jiang, R., Li, H., Wan, J., & Li, H. (2016). Ferulic acid exerts antitumor activity and inhibits metastasis in breast cancer cells by regulating epithelial to mesenchymal transition. *Oncology Reports*, 36(1): 271-278. doi: 10.3892/or.2016.4804.

- Zhang, H., Cao, X.R., Yin, M., & Wang, J. (2018). Soluble dietary fiber from Qing Ke (highland barley) brewers spent grain could alter the intestinal cholesterol efflux in Caco-2 cells. *Journal of Functional Foods*, 47: 100-106. 10.1016/j.jff.2018.05.046.
- Zhang, J., Liu, L., Jiang, Y., Faisal, S., & Wang, Q. (2020). A new insight into the high-moisture extrusion process of peanut protein: From the aspect of the orders and amount of energy input. *Journal of Food Engineering*, 264: 109668. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2019.07.015.
- Zhao, X., Wei, Y., Wang, Z., Chen, F., & Ojokoh, A.O. (2011). Reaction kinetics in food extrusion: methods and results. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(9): 835-54. doi: 10.1080/10408398.2010.483023 PMID: 21888534.
- Zhao, X., Andersson, M., & Andersson, R. (2018). Resistant starch and other dietary fiber components in tubers from a high-amylose potato. *Food chemistry*, 251: 58-63. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.01.028.
- Zhou, Q., Wu, J., Tang, J., Wang, J.J., Lu, C.H., & Wang, P.X. (2015). Beneficial Effect of Higher Dietary Fiber Intake on Plasma HDL-C and TC/HDL-C Ratio among Chinese Rural-to-Urban Migrant Workers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12: 4726-4738. doi:10.3390/ijerph120504726.
- Zhu, K.X., Zhou, H.M., & Qian, H.F. (2006). Proteins Extracted from Defatted Wheat Germ: Nutritional and Structural Properties. *Cereal Chemistry*, 83(1): 69–75. doi: 10.1094/CC-83-0069.
- Zhu, F., Du, B., & Xu, B. (2016). A critical review on production and industrial applications of beta-glucans. *Food Hydrocolloids*, 52: 275-288. 10.1016/j.foodhyd.2015.07.003.
- Zhu, Y., & Sang, S. (2017). Phytochemicals in whole grain wheat and their health-promoting effects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(7), 1600852. doi: 10.1002/mnfr.201600852.
- Zhu, J., Yang, H., Chen, Y., Lin, H., Li, Q., Mo, J. Bian, Y., Pei, Y., & Sun, H. (2018). Synthesis, pharmacology and molecular docking on multifunctional tacrine-ferulic acid hybrids as cholinesterase inhibitors against Alzheimer's disease. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 33(1): 496-506. doi: 10.1080/14756366.2018.1430691.

- Zielinski, H., Kozłowska, H., & Lewczuk, B. (2001a). Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(3): 159-169. ([55] Artículo 2).
- Zielinski, H., Ciska, E., & Kozłowska, H. (2001b). The cereal grains: Focus on vitamin E. *Czech Journal of Food Sciences*, 19: 182–188. ([36] Artículo 1).
- Žilić, S.A., Dodig, D., Šukalović, V.H.T., Maksimović, M., Saratlić, G., & Škrbić, B. (2010). Bread and durum wheat compared for antioxidants contents, and lipoxygenase and peroxidase activities. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(7): 1360-1367. doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02251.x.
- Žilić, S., Dodig, D., Milašinović Šeremešić, M., Kandic, V., Kostadinovic, M., Prodanovic, S., & Savic, D. (2011). Small grain cereals compared for dietary fibre and protein contents. *Genetika*, 43(2): 381-395. doi: 10.2298/GENSR1102381Z.
- Žilić, S., Dodig, D., Basić, Z., Vančetovi, J., Titan, P., Đuric, N., & Tolimir, N. (2017). Free asparagine and sugars profile of cereal species: The potential of cereals for acrylamide formation in foods. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 34: 705–713.
- Zou, Y., Chang, S.K., Gu, Y., & Qian, S.Y. (2011). Antioxidant activity and phenolic compositions of lentil (*Lens culinaris* var. Morton) extract and its fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6): 2268-2276. ([47] Artículo 2).