

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D' ENGINYERIA AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



**UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA**



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica
i del Medi Natural

TRABAJO FIN DE GRADO

Efecto de la adición de escaramujo en polvo en las características y valor funcional de snacks de maíz. Bioaccesibilidad funcional en harinas y extrusionados

GRADO EN BIOTECNOLOGÍA

Alumna: Sandra Mínguez García

Tutora académica: Purificación García Segovia

Cotutor académico: Javier Martínez Monzó

Directora experimental: Marta Igual Ramo

Curso académico 2021-2022

Valencia, diciembre 2021

Título: Efecto de la adición de escaramujo en polvo en las características y valor funcional de snacks de maíz. Bioaccesibilidad funcional en harinas y extrusionados

Autora: Sandra Mínguez García

Localidad y fecha: Valencia, diciembre 2021

Tutores académicos: Dña. Purificación García Segovia, D. Javier Martínez Monzó

Directora experimental: Dña. Marta Igual Ramo

Resumen

El consumo de snacks está en continuo crecimiento y sobre todo tras la pandemia que ha sufrido el planeta. La búsqueda de snacks saludables y que aporten al organismo compuestos bioactivos es conveniente y necesaria. El escaramujo es una fuente natural de compuestos bioactivos de vitaminas, carotenoides, fenoles y otros compuestos que contribuyen al poder antioxidante del mismo. En el presente estudio se evaluó el efecto de la adición de escaramujo en polvo con y sin proteína de guisante sobre las características de extrusionados de maíz, así como de sus compuestos bioactivos, y el impacto de la extrusión y la adición de escaramujo sobre la bioaccesibilidad de dichos compuestos. Para este trabajo, se agregó un 10 % de escaramujo en polvo con y sin proteína de guisante a las harinas a extruir. Se obtuvieron snacks de maíz por extrusión y se determinó el índice de expansión, la humedad, la actividad del agua, los índices de absorción y solubilidad de agua, la densidad, la porosidad y las propiedades mecánicas y ópticas de los mismos. Además, se determinó el contenido en fenoles y carotenoides totales y la actividad antioxidante mediante espectrofotometría. Posteriormente, se evaluó la digestibilidad *in vitro* tanto de las harinas como del producto extruido mediante el método de digestión *in vitro* estático estandarizado y se determinó cada compuesto para calcular su bioaccesibilidad. Los resultados indicaron que la adición de escaramujo encapsulado con proteína de guisante mejoró significativamente ($p < 0,05$) el contenido de los extrusionados en fenoles y carotenoides totales, así como una mayor actividad antioxidante. Esto resultó en snacks con un valor añadido en compuestos bioactivos.

Palabras clave: escaramujo, proteína de guisante, extrusionados, compuestos bioactivos, bioaccesibilidad.

Títol: Efecte de l'addició de Rosa canina en pols en les característiques i valor funcional de snacks de dacsa. Bioaccessibilitat funcional en farines i extrusionats.

Resum

El consum de snacks està en creixement continu i sobretot després de la pandèmia que ha patit el planeta. La recerca de snacks saludables i que aporten a l'organisme compostos bioactius és convenient i necessària. La Rosa canina és una font natural de compostos bioactius de vitamines, carotenoides, fenols i altres compostos que contribueixen al seu poder antioxidant. En aquest estudi es va avaluar l'efecte de l'addició de gavrera en pols amb i sense proteïna de pèsol sobre les característiques d'extrusionats de dacsa, així com dels seus compostos bioactius, i l'impacte de l'extrusió i l'addició de gavrera sobre la bioaccessibilitat dels esmentats compostos. Per a aquest treball, es va afegir un 10% de Rosa canina en pols amb i sense proteïna de pèsol a les farines a extruir. S'obtingueren snacks de dacsa per extrusió i es determinà l'índex d'expansió, la humitat, l'activitat de l'aigua, els índexs d'absorció i solubilitat d'aigua, la densitat, la porositat i les propietats mecàniques i òptiques dels mateixos. A més, es va determinar el contingut en fenols i carotenoides totals i l'activitat antioxidant mitjançant espectrofotometria. Posteriorment, es va avaluar la digestibilitat *in vitro* tant de les farines com del producte extruït mitjançant el mètode de digestió *in vitro* estàtic estandarditzat i es va determinar cada compost per tal de calcular la seua bioaccessibilitat. Els resultats van indicar que l'addició de *Rosa canina* encapsulada amb proteïna de pèsol va millorar significativament ($p < 0,05$) el contingut dels extrusionats en fenols i carotenoides totals, així com una major activitat antioxidant. Això va resultar en snacks amb un valor afegit en compostos bioactius.

Paraules clau: Rosa canina, proteïna de pèsol, extrusionats, compostos bioactius, bioaccessibilitat.

Title: Effect of rosehip of *Rose canina* powder addition on characteristics and functional value of corn snacks. Functional bioaccessibility in flours and extrudates.

Abstract

The consumption of snacks is constantly growing and especially after the pandemic that the planet has suffered. The search for healthy snacks that provide the body with bioactive compounds is convenient and necessary. Rosehip of *Rose canina* is a natural source of bioactive compounds of vitamins, carotenoids, phenols, and other compounds that contribute to its antioxidant power. The aim of this work was to evaluate the effect of the addition of rose hip powder with and without pea protein on the characteristics of corn extrudates, as well as their bioactive compounds, and the impact of extrusion and the addition of rose hip on the bioaccessibility of such compounds. For this work, 10% rosehip powder with and without pea protein was added to the flours to be extruded. Corn snacks were obtained by extrusion and the expansion index, water content, water activity, water absorption and solubility index, density, porosity and mechanical and optical properties were determined. In addition, total phenols content, total carotenoids content and antioxidant activity were determined by spectrophotometry. After that, both the flours and the extrudate *in vitro* digestibility were assessed by the standardized static *in vitro* digestion method and each compound was determined to calculate its bioaccessibility. Results showed that the addition of encapsulated (with pea protein) rosehip significantly ($p < 0,05$) increased phenols and carotenoids content in extrudates, as well as a higher antioxidant activity. This resulted in snacks with an added value in bioactive compounds.

Key words: rosehip, pea protein, extrudates, bioactive compounds, bioaccessibility.

Agradecimientos

Me gustaría expresar mi agradecimiento a los doctores Purificación García y Javier Martínez por la dirección de este trabajo fin de grado.

Mi especial gratitud a la doctora Marta Igual por su implicación y ayuda a lo largo del desarrollo de este trabajo.

Por último, pero no menos importante, agradecer a mi familia el apoyo recibido durante estos años.

ÍNDICE DE APARTADOS

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 <i>Justificación e interés del estudio</i>	1
1.2 <i>Snacks</i>	2
1.3 <i>Extrusionados</i>	3
1.3.1 <i>Proceso de extrusión</i>	3
1.4 <i>Escaramujo</i>	4
1.4.1 <i>Propiedades y uso</i>	6
1.5 <i>Proteína de guisante</i>	6
2. OBJETIVOS	8
2.1 <i>Objetivo general</i>	8
2.2 <i>Objetivos específicos</i>	8
3. PLAN DE TRABAJO	9
4. MATERIALES Y MÉTODOS	10
4.1 <i>Materia prima</i>	10
4.2 <i>Obtención del liofilizado de escaramujo</i>	10
4.3 <i>Obtención de los extrusionados</i>	11
4.4 <i>Determinación de parámetros</i>	12
4.4.1 <i>Humedad</i>	12
4.4.2 <i>Actividad del agua</i>	12
4.4.3 <i>Índice de absorción de agua, índice de solubilidad e índice de swelling</i>	12
4.4.4 <i>Higroscopicidad</i>	13
4.4.5 <i>Índice de expansión</i>	13
4.4.6 <i>Porosidad y densidad</i>	13
4.4.7 <i>Textura</i>	14
4.4.8 <i>Propiedades ópticas</i>	15
4.4.9 <i>Determinación de fenoles totales</i>	15
4.4.10 <i>Determinación de carotenoides totales</i>	16
4.4.11 <i>Determinación de la actividad antioxidante</i>	16
4.5 <i>Digestión in vitro</i>	16
4.6 <i>Análisis estadístico</i>	18
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
5.1 <i>Características fisicoquímicas de los extrusionados</i>	19
5.2 <i>Características ópticas</i>	21
5.3 <i>Textura</i>	23
5.4 <i>Compuestos bioactivos y actividad antioxidante</i>	24
5.5 <i>Digestibilidad in vitro y bioaccesibilidad</i>	25
6. CONCLUSIONES	29
7. BIBLIOGRAFÍA	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rosa canina (Syrio).....	5
Figura 2. Escaramujo	5
Figura 3. Cara interna del escaramujo.....	5
Figura 4. a) Liofilizado de escaramujo, E y b) escaramujo con proteína de guisante, EPP.....	10
Figura 5. Equipo de extrusión.....	11
Figura 6. Diagrama con los parámetros de extrusión.....	12
Figura 7. Equipo TA-XT2.....	14
Figura 8. Diagrama de flujo de la digestión in vitro. HC, HE y HEPP son harina control, harina con escaramujo, harina con escaramujo y proteína de guisante; EC, EE Y EPP son extrusionado control, extrusionado con escaramujo y extrusionado con escaramujo y proteína de guisante respectivamente. SSF, SGF y SIF son Fluido Salivar Simulado, Fluido Gástrico Simulado, Fluido Intestinal Simulado respectivamente.....	17
Figura 9. Muestras de harina control (HC), extrusionado control (EC), harina con escaramujo (HE), extrusionado con escaramujo (EE), harina con escaramujo y proteína de guisante (HEPP) y extrusionado con escaramujo y proteína de guisante (EPP).	22
Figura 10. Valores medios y desviaciones estándar del % de IVD (digestibilidad in vitro) de las muestras de harinas y extrusionados: control (C), escaramujo (E) y escaramujo con proteína de guisante (EPP). Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$).....	26
Figura 11. a) Valores medios y desviaciones estándar del % de bioaccesibilidad de fenoles totales (FT) de las muestras de harinas y extrusionados: control (C), escaramujo (E) y escaramujo con proteína de guisante (EPP). b) Valores medios y desviaciones estándar del % de bioaccesibilidad de carotenoides totales (CT) de las muestras de harinas y extrusionados: control (C), escaramujo (E) y escaramujo con proteína de guisante (EPP). Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$)	27
Figura 12. Valores medios y desviaciones estándar de la actividad antioxidante (AOA) de las muestras de harinas y extrusionados: control (C), escaramujo (E) y escaramujo con proteína de guisante (EPP). Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$).....	27

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Muestras de los extrusionados control (EC), escaramujo (EE) y escaramujo con proteína de guisante (EPP) y sus valores medios (y desviaciones estándar) de humedad (x_w), actividad del agua (a_w), índice de absorción de agua (WAI), índice de solubilidad (WSI), índice de swelling (SWE), higroscopicidad (Hg), índice de expansión (SEI), densidad aparente (ρ_b) y porosidad (ϵ).....	20
Tabla 2. Coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros de extrusión: humedad (x_w), actividad de agua (a_w), índice de absorción de agua (WAI), índice de solubilidad (WSI), índice de swelling (SWE), higroscopicidad (Hg), índice de expansión (SEI), porosidad (ϵ) y densidad (ρ).....	21
Tabla 3. Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros colorimétricos (L^* , a^* , b^* , C^* y h) y las diferencias de color (ΔE) de las harinas y extrusionados (HC: harina control; HE: harina con escaramujo; HEPP: harina con escaramujo y proteína de guisante; EC: extrusionado control; EE: extrusionado con escaramujo; EPP: extrusionado con escaramujo y proteína de guisante).....	22
Tabla 4. Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros de textura de las muestras control (EC), escaramujo (EE) y escaramujo con proteína de guisante (EPP).....	23
Tabla 5. Coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros fisicoquímicos y los de textura de las muestras.	24
Tabla 6. Valores medios y desviaciones estándar de los carotenoides totales (CT), fenoles totales (FT) y actividad antioxidante (AOA) de las muestras de harinas y extrusionados: control (C), con escaramujo (E), con escaramujo y proteína de guisante (EPP).	25

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Justificación e interés del estudio

Un tema que ha desatado interés en la industria alimentaria es el consumo de snacks. Este ha primado normalmente en niños y adolescentes, tomándose normalmente en las horas de descanso y entre comidas. Sin embargo, más recientemente se está experimentando un incremento en el consumo en adultos. Esto puede deberse a diversos factores, debido a la mayor variedad de ingredientes que se están empleando, las rutinas que dejan poco tiempo para consumir comidas completas, etc. Es un hecho que la pandemia mundial debida a COVID-19 mundial ha forzado un cambio en la vida de las personas, que se han visto confinadas en el interior de sus viviendas y que por una variedad de motivos han aumentado su ingesta principalmente a base de alimentos como los snacks (Zachary *et al.*, 2020).

A raíz de esto, la ingesta calórica ha aumentado en la mayoría de casos, lo cual a largo plazo tiene repercusiones sobre la salud. Por ello, en la sociedad se está experimentando una gran corriente de personas con una creciente preocupación sobre cómo llevar una vida saludable, lo cual implica el consumo de alimentos nutricionalmente ricos. Reside en el consumidor la responsabilidad de realizar decisiones sabias a la hora de elegir qué alimentos consumir. Para ello es necesario cambiar el prejuicio que existe sobre los snacks, que de manera tradicional se han relacionado con alimentos en los que prima el sabor, precio y aspecto y descuidan el aspecto nutricional. Es importante hacer llegar al consumidor el hecho de que estos alimentos pueden ser una fuente importante de nutrientes y a la vez resultar atractivos y agradables al paladar.

Con este fin se han realizado múltiples estudios entorno a distintos métodos de preparación y diversos alimentos con los cuales poder elaborar snacks nutricionalmente ricos y apetecibles. Uno de los métodos más establecidos es la extrusión, que permite la producción de alimentos bajos en calorías e induce la formación de harinas resistentes que se comportan como fibra (Uribe-Wandurraga *et al.*, 2020). Comparado con la fritura, es una alternativa muy establecida que permite obtener alimentos mediante un proceso que conserva en mayor medida los compuestos bioactivos de los ingredientes a la vez que reduce la cantidad en grasas a ingerir. Además, la sensación a la hora de la ingesta es similar entre los dos procesos, pero sin esa cantidad extra de grasas (Zheng y Augustine, 2002).

Es de gran interés experimentar con diferentes ingredientes y compuestos y estudiar cada una de las características del producto final para así obtener una idea de qué ocurre a estos alimentos durante el proceso, y cuáles son sus características y propiedades cuando llegan a los consumidores. Algunos de los ingredientes nutricionalmente ricos que se están incorporando a las harinas en el proceso de extrusión antes mencionado, pueden ser escaramujo y proteína de guisante (Iguar *et al.*, 2021), en los cuales se va a centrar este trabajo.

1.2 Snacks

En la sociedad actual, gran parte de la población procura mantener una dieta sana y equilibrada (Schlinkert *et al.*, 2020). El concepto “snacking” normalmente hace referencia al consumo de alimentos o bebidas entre horas. Este término puede estar acompañado de una connotación positiva o negativa en función de cómo se define el snack. Sin una clara definición no es posible determinar si el consumo de snacks es beneficioso o perjudicial para la salud (Hess y Slavin, 2018).

El motivo por el cual se decide comer de manera frecuente durante el día depende de varios factores. Una razón podría ser la sensación de hambre. Sin embargo, esto puede resultar engañoso y ser consecuencia simplemente del fácil acceso y disponibilidad de alimentos que se encuentran en el entorno. De esta manera, en muchos casos la ingesta no ocurre por una necesidad biológica de nuestro organismo que carece de energía o reservas, sino que más bien es un hábito creado, que en ciertos casos promueve la subida de peso.

Otro aspecto que afecta al snacking es la localización. No se consume la misma cantidad de comida o bebida en el ámbito del hogar como fuera del mismo. El lugar parece condicionar la elección del alimento, así como la cantidad a ingerir. De manera similar, el consumo difiere en situaciones sociales. El entorno parece tener cierta influencia en la elección de qué se consume y en qué cantidad (Hess *et al.*, 2016).

La práctica de consumir snacks está normalmente asociada a la ingesta de alimentos con elevado contenido calórico y no saludables. Se ha demostrado que los snacks han contribuido en gran medida a la mayor ingesta calórica que se ha dado en las últimas décadas (Schlinkert *et al.*, 2020). No obstante, este hecho hace referencia a un tiempo en que la industria no estaba tan desarrollada como en la actualidad, la tecnología era más limitada y sobre todo la sociedad no estaba tan concienciada por su salud. En esencia, no había tanta presión en el sector agronómico de desarrollar snacks que fuesen saludables.

Un factor que dificulta que la gente opte por snacks saludables o no, es la percepción que la industria ha creado que no saludable equivale a sabroso. El sabor es un determinante importante que crea expectativas a la hora del consumo, lo que en muchos casos hace más difícil mantener una dieta nutricionalmente rica (Schlinkert *et al.*, 2020). En consecuencia, los snacks son a menudo percibidos como perjudiciales para la salud.

En las últimas décadas se han llevado a cabo múltiples estudios que se centran en la alimentación y en un estilo de vida que se considere saludable. Existe una gran variedad de dietas que defienden argumentos completamente opuestos. Por ejemplo, hay defensores de una ingesta menos frecuente y espaciada, mientras que otros son partidarios de un consumo más continuo.

Existe una gran controversia en el tema y cabe destacar que no se ha estudiado en profundidad los posibles efectos positivos que conlleva la ingesta frecuente de alimentos, en otras palabras, snacking. Los estudios realizados representan pinceladas que exponen de manera superficial

beneficios que podrían estar relacionados con un consumo más asiduo de alimentos. Adicionalmente, los resultados obtenidos son orientativos, pues se debe tener en cuenta que los efectos pueden variar en cada individuo de acuerdo a factores como: índice de masa corporal, el alimento ingerido y el motivo de dicha ingesta.

Es de gran importancia comprender el concepto de “snack ideal” que la sociedad tiene implantado para así poder elaborar snacks con características que resulten más atractivas y apetecibles al consumidor (Schlinkert *et al.*, 2020).

1.3 Extrusionados

Los extrusionados son alimentos producidos mediante una técnica que consiste en la cocción en condiciones de alta temperatura, humedad y presión durante un periodo corto de tiempo (Anderson, 1969). Mediante este proceso se puede obtener una amplia gama de alimentos con tamaño, forma, textura y sabor muy variados. Estos incluyen pastas, snacks, cereales para el desayuno, dulces, comidas para bebés... (Alam *et al.*, 2016)

La extrusión se trata de un proceso que con el tiempo ha adquirido más importancia a la hora de producir snacks frente a otras alternativas como pueden ser la fritura. Una de las ventajas que proporciona esta técnica es que permite elaborar alimentos con un bajo contenido en grasas a la vez que se forma una harina resistente que no contribuye al aporte calórico y se comporta fisiológicamente como fibra (Larrea *et al.*, 2005).

Como ya se ha mencionado, el consumo de snacks ha ido en aumento. La base de estos snacks obtenidos por extrusión suele estar compuesta por cereales como cebada, trigo, maíz... En este trabajo, el cereal elegido es el maíz, grano de cereal más empleado en procesos de extrusión por su bajo coste y gran capacidad de expansión.

Sin embargo, una cuestión que se plantea es el bajo aporte nutricional de los mismos debido a su bajo contenido proteico, lo cual puede suplirse con la adición de otros compuestos (frutos, verduras, legumbres...). Así es posible elaborar snacks extrusionados saludables y con nutricionalmente ricos.

1.3.1 Proceso de extrusión

La extrusión es un proceso continuo eficaz el cual consiste en forzar el material a fluir en condiciones de mezclado, calentamiento y fricción a través de un orificio para la obtención de producto (Agarwal y Chauhan, 2019). Combina calentamiento con cocción.

El extrusor puede considerarse como un reactor continuo donde tiene lugar un proceso HTST (High Temperature Short Time), con lo que se reduce la contaminación microbiana y se inactivan enzimas. Adicionalmente, se da a niveles bajos de humedad, lo que contribuye a la preservación de los extrusionados por su baja actividad de agua (Borodoli y Ganguly, 2014).

A lo largo de este proceso el alimento introducido sufre cambios y transformaciones. La transformación del flujo sólido a flujo viscoso es necesaria para que se den estos cambios junto con la cocción del almidón, componente importante de la harina de maíz que determina la expansión y textura del producto final (Della Valle *et al.*, 1997).

El alimento sufre cambios en sus propiedades organolépticas, que miden las sensaciones en el paladar del consumidor y son: sabor, olor, textura y aroma. La humedad influye principalmente en la textura, concretamente en la crujencia, mientras que el calor es el responsable de los cambios en el color, y da una idea de las reacciones químicas que han tenido lugar durante el proceso (Lisiecka *et al.*, 2021).

Cabe destacar que no solo los parámetros de la extrusión afectan a las propiedades mencionadas anteriormente, sino que cualquier componente adicional también influirá en mayor o menor medida en el producto final.

Algunas de las ventajas a destacar son (Choton *et al.*, 2020):

- Gran versatilidad: con esta técnica se puede obtener una gran cantidad de productos muy variados con la combinación de diferentes ingredientes y parámetros.
- Coste: comparado con otros métodos, la extrusión ofrece una productividad muy alta a un bajo coste.
- Productividad: se trata de un proceso continuo con un alto rendimiento que es fácil de automatizar, requiere poca mano de obra.
- Calidad de producto: al tratarse de un HTST (High Temperature Short Time), los compuestos del alimento sensibles a altas temperaturas no se degradan en exceso, y se minimiza la pérdida de nutrientes y sabor.
- Bueno para el ambiente: debido a las bajas condiciones de humedad requeridas, no se generan efluentes.
- Eficiente en términos energéticos: no requiere tanto gasto de energía gracias a la baja humedad, que reduce la cantidad de calor necesario para la cocción y posterior secado.

Por el contrario, surgen algunos inconvenientes relativos a la temperatura (Choton *et al.*, 2020) como:

- Posible decoloración del producto
- Coloración marrón o caramelización
- Deterioro de ciertas proteínas como la lisina

1.4 Escaramujo

El escaramujo es el fruto del rosal silvestre (*Rosa canina*), perteneciente a la familia de las rosáceas. Es nativo de Europa, el norte de África y Asia occidental, aunque con el tiempo se ha distribuido mundialmente. Su nombre hace referencia a la forma de las espinas, que se asemejan a un diente canino. Se trata de un arbusto sarmentoso de 1 a 3 metros de altura, con tallos cubiertos de aguijones curvados en forma de diente canino (Garcés y Torres, 2010).

Las hojas son de un color verde intenso, gruesas y presentan cierto brillo. Son caducas, y poco antes de caer cambian un color más rojizo. Las flores forman una especie de urna de la cual nacen los sépalos. La corola está compuesta por cinco pétalos con una coloración que puede variar de rosa intenso a blanco (Figura 1).



Figura 1. Rosa canina (Syria)

El fruto es el escaramujo, de forma ovalada, carnoso y color rojo brillante en su cara el exterior. La cara interna está cubierta de pelillos rubios y rígidos, como se puede observar en las Figuras 2 y 3 (Garcés y Torres, 2010).



Figura 2. Escaramujo



Figura 3. Cara interna del escaramujo

1.4.1 Propiedades y uso

El escaramujo se caracteriza por su alto contenido en ácido ascórbico (vitamina C), y otros compuestos bioactivos como fibra, carotenoides que proporcionan la coloración naranja, ácidos orgánicos como el ácido málico, pectina, proteínas y varios minerales (Ayerbe y García, 2010).

Tradicionalmente este fruto se ha empleado como tratamiento para multitud de enfermedades por sus propiedades medicinales, que se deben principalmente al alto contenido en vitamina C, el cual es superior a otros productos. La vitamina C confiere propiedades antiescorbúticas, por lo que es altamente eficiente contra resfriados. Adicionalmente, el contenido en ácido tánico junto con la pectina confiere propiedades astringentes, de ahí que se empleara el escaramujo para tratar diarrea. Por otro lado, también se ha apreciado su actividad como diurético (Georgieva *et al.*, 2014).

Es un alimento que puede ser ingerido en fresco o como alternativa se emplea en la elaboración de infusiones. La cantidad de vitaminas que se aprovecha difiere con cada preparación, manteniendo la totalidad cuando se consume directamente o con una manipulación en frío, o perdiendo parcial o totalmente las vitaminas en preparaciones que requieren calor, como es el caso de infusiones. Sin embargo, a pesar de que el aporte vitamínico se ve perjudicado, las propiedades astringentes y diuréticas se mantienen (Ayerbe y García, 2010).

Como aspecto de interés del escaramujo, destaca su actividad antioxidante, que se debe al alto contenido en polifenoles, vitaminas y carotenoides (Özkan *et al.*, 2004), y las propiedades antiinflamatorias y cicatrizantes.

1.5 Proteína de guisante

Recientemente, las proteínas de origen vegetal han adquirido popularidad entre consumidores que por motivos diversos están buscando alternativas a proteínas animales. En concreto, la proteína de guisante es uno de los sustitutos más similares nutricionalmente (Igual *et al.*, 2021).

El guisante es una legumbre que se caracteriza por su alto valor nutricional, es alto en proteínas, fibra, vitaminas y minerales. Adicionalmente, se le ha asociado efectos beneficiosos sobre la salud relacionados con enfermedades cardíacas y diabetes (Zha *et al.*, 2021). La proteína de guisante se considera una proteína completa, ya que es fuente de lisina, leucina y arginina entre otros (Babault *et al.*, 2015).

Por otro lado, los extractos de proteína de guisante han sido empleados para la mejora de otros productos alimenticios por sus propiedades de solubilidad, emulsificación, espumante y gelificante. Es por lo que la proteína de guisante funciona adecuadamente como agente encapsulante.

El papel de un agente encapsulante en el ámbito alimenticio conlleva entre otras cosas evitar la degradación química que sufren los alimentos al ser procesados. Durante la preparación, se dan condiciones que afectan en mayor o menor medida las propiedades de los alimentos: exposición

a la luz, oxigenación, cambios de pH, altas temperaturas... Todo esto puede llevar a la pérdida de la actividad biológica de los alimentos.

La importancia de la encapsulación reside en preservar en la mayor capacidad posible los compuestos activos. Los encapsulantes forman un recubrimiento o envoltura que hace el papel de una barrera que protege los ingredientes activos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

En este trabajo se pretende evaluar tanto el efecto de la extrusión en la bioaccesibilidad de diferentes compuestos bioactivos como el efecto de la adición de escaramujo en polvo con y sin proteína de guisante para la obtención de extrusionados de maíz, sobre las propiedades fisicoquímicas y compuestos bioactivos de los snacks.

2.2 Objetivos específicos

- Recopilar información acerca de la extrusión, los parámetros característicos de los snacks extruidos, las propiedades del escaramujo y la proteína de guisante, metodologías de determinación de compuestos bioactivos y su bioaccesibilidad.
- Caracterizar los productos extruidos en cuanto a su textura, propiedades ópticas, porosidad, densidad aparente, humedad, actividad del agua, higroscopicidad, índice de expansión, índices de absorción y solubilidad del agua y capacidad de hinchamiento.
- Determinar los carotenoides totales, fenoles totales y actividad antioxidante en las harinas y productos extruidos.
- Determinar el porcentaje de digestibilidad y la bioaccesibilidad de carotenoides totales, fenoles totales y actividad antioxidante de las harinas y los snacks mediante digestión *in vitro*.
- Evaluar el efecto de la adición de escaramujo y proteína de guisante sobre las características de los productos extrusionados y los compuestos bioactivos estudiados.
- Evaluar el efecto de la extrusión, así como de la adición de escaramujo y proteína de guisante sobre los compuestos bioactivos y la bioaccesibilidad.

3. PLAN DE TRABAJO

El plan de trabajo y tareas específicas para conseguir los objetivos planteados son:

- Revisión bibliográfica.
- Preparación de las mezclas y obtención de los extrusionados.
- Análisis de textura, propiedades ópticas, porosidad, densidad aparente, humedad, actividad del agua, higroscopicidad, índice de expansión, índices de absorción y solubilidad del agua y capacidad de hinchamiento de los productos extrusionados obtenidos.
- Determinación los carotenoides totales, fenoles totales y actividad antioxidante en las mezclas y productos extruidos.
- Diseño y realización de la digestión *in vitro* de las mezclas y los extrusionados.
- Determinación los carotenoides totales, fenoles totales y actividad antioxidante de los digestos obtenidos.
- Desarrollo de resultados y discusión.
- Propuesta de conclusiones y recomendaciones.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materia prima

Para la obtención de las mezclas de extrusión se empleó un preparado de harina de maíz suministrada por Maicerías Españolas S.L (Valencia, España), escaramujo recogido en septiembre-octubre de 2020 en la localidad Aldehuela (Teruel, España) y proteína de guisante (PP) (Nutralys® S85F) suministrada por Roquette S.L. (Valencia, Spain).

4.2 Obtención del liofilizado de escaramujo

Los frutos fueron lavados y homogeneizados con una Thermomix (TM 21, Vorwerk, Valencia, España) durante 1 minuto a 5200 rpm. Después se añadieron 1000 g de agua destilada y se volvió a homogeneizar durante 5 minutos a 5200 rpm. La mezcla se filtró con un tamiz (malla de 1 mm de diámetro, Cisa 029077, 1 series). A continuación, se preparó una formulación añadiendo 10 g de proteína de guisante (PP) a 90 g de mezcla, además de un control (E) sin PP. Estas muestras fueron congeladas, colocando una capa de 0.5 cm de grosor en una placa de aluminio estandarizada (15 cm de diámetro y 5 cm de altura). Las muestras se almacenaron a -42°C en un congelador vertical (Vertical Freezer, CVF450/45, Ing. Climas, Barcelona, España) durante 24 horas antes de liofilizarlas en un equipo Lioalfa-6 Lyophiliser (Telstar, España) a 2600 Pa y -56.6 °C durante 48 horas. El producto obtenido tras la liofilización fue triturado en el molinillo (Minimoka, Taurus, Lleida, España) para obtener el polvo. De esta manera se obtuvieron los productos en polvo a partir de escaramujo: escaramujo (E) y escaramujo con proteína de guisante (EPP) (Figura 4).

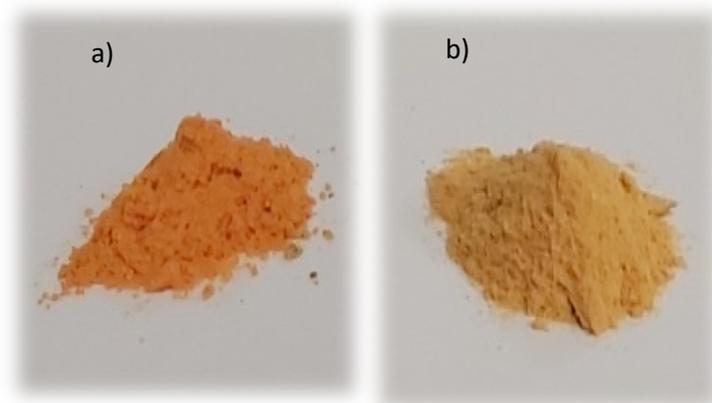


Figura 4. a) Liofilizado de escaramujo, E y b) escaramujo con proteína de guisante, EPP

4.3 Obtención de los extrusionados

Para la utilización del extrusor, es necesario un acondicionamiento previo, que ayuda a estabilizar el extrusor. Primero se introducen las mezclas con mayor porcentaje de humedad y así progresivamente hasta introducir la muestra deseada. Para la elaboración de las mezclas de extrusión, se mezcló harina de maíz con Los polvos obtenidos como se indica anteriormente (E y EPP) en un 10 %. De esta manera se obtuvieron 3 mezclas a extrusionar: harina control (HC), harina con escaramujo (HE) y harina con escaramujo y proteína de guisante (HEPP).

Para llevar a cabo la extrusión se utilizó un extrusor monohusillo (Kompaktextruder KE 19/25; Brabender, Duisburg, Alemania), con un cilindro de 19 mm de diámetro y una ratio longitud/diámetro de 25:1 (Figura 5). Las condiciones del proceso de extrusión son como se indican en la Figura 6. Como se puede observar, las mezclas de maíz preparadas se introdujeron de manera continua a una velocidad de 3.51 kg/h. La rotación del tornillo se mantuvo a 150 rpm, las temperaturas del cilindro se programaron en cuatro secciones (25, 70, 170 y 175 °C) y la boquilla usada era de 3 mm. Estos parámetros se monitorizaron con el software Extruder Winext (Brabender). A la salida de la boquilla, los extrusionados se enfriaron a temperatura ambiente y se almacenaron en bolsas de plástico para su posterior análisis. De esta manera, a partir de las harinas control (HC), con escaramujo (HE) y con escaramujo y proteína de guisante (HEPP), se obtuvieron los extrusionados: control (EC), con escaramujo (EE) y con escaramujo y proteína de guisante (EEPP)



Figura 5. Equipo de extrusión

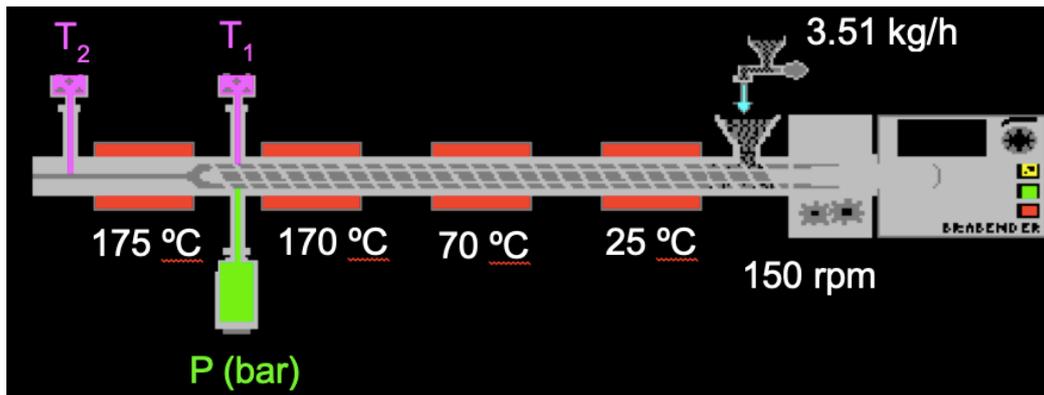


Figura 6. Diagrama con los parámetros de extrusión

4.4 Determinación de parámetros

4.4.1 Humedad

Se calculó la humedad (x_w) de las muestras de harinas y extrusionados y se determinó por triplicado mediante el uso de una estufa a vacío (VACIOTEM, JP Selecta, España) a $70 \pm 1^\circ\text{C}$ y por debajo de 100 mmHg de presión hasta obtener peso constante, como se indica en el método 964.22 de la AOAC (AOAC, 2000) x_w ($\text{g}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{producto}}$) se calculó según la ecuación 1.

$$x_w = \frac{P_m - P_{ms}}{P_m} \quad (1)$$

Donde P_m es la masa en g de la muestra y P_{ms} es la masa en g de la muestra seca.

La variación de agua (W_L) se calculó a partir de los datos de humedad como la diferencia entre la humedad de las mezclas y los extrusionados.

4.4.2 Actividad del agua

La determinación de la a_w se realizó con el equipo AquaLab PRE LabFerrer (Pullman, Washington, DC, USA).

4.4.3 Índice de absorción de agua, índice de solubilidad e índice de swelling

El índice de absorción de agua (WAI) y el índice de solubilidad (WSI) se determinaron con el método Singh y Smith (Singh y Smith, 1997). Los extrusionados se trituraron hasta obtener partículas de unos $180\text{-}250\text{ }\mu\text{m}$. La muestra triturada se mezcló con agua destilada, removiendo manualmente para evitar grumos. Tras 30 minutos de agitación magnética, se introdujo la mezcla en tubos y se centrifugó durante 10 minutos a 3000 rpm . El sobrenadante se decantó para la determinación de sólidos disueltos y el sedimento se pesó. WAI y WSI se determinaron de acuerdo con las ecuaciones 2 y 3:

$$\text{WAI, \%} = \frac{\text{peso del sedimento (g)}}{\text{peso de sólidos secos (g)}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{WSI, \%} = \frac{\text{peso de sólidos disueltos en sobrenadante (g)}}{\text{peso de sólidos secos (g)}} \times 100 \quad (3)$$

El índice de swelling (SWE) se determinó con la técnica “bed volume”. Para ello, se introdujo muestra triturada en un cilindro calibrado y se añadió agua destilada. Los tubos se dejaron reposar durante 18 horas a temperatura ambiente. Se midió el volumen que ocupaba la muestra antes y después del tiempo de estudio. Los resultados se expresaron en mm de muestra hinchada por g de muestra inicial seca (Robertson *et al.*, 2000).

4.4.4 Higroscopicidad

Para determinar la higroscopicidad de las muestras se introdujeron en una cámara a 25 °C con una sal saturada de Na₂SO₄ (81% de humedad relativa) y se registró la variación del peso durante 1, 5 y 7 días. La higroscopicidad se expresó como g de agua ganada/100 g de materia seca (ecuación 4) (Cai y Corke, 2000; Igual *et al.*, 2014).

$$Hg = \frac{m_{mt} - m_m}{m_m \cdot (1 - x_w)} \times 100 \quad (4)$$

Donde m_{mt} es la masa a muestra después de 1, 5 ó 7 días (g), m_m es la masa muestra inicial (g) y x_w es la humedad de inicio de la muestra.

4.4.5 Índice de expansión

El índice de expansión (SEI) representa en qué medida se ha expandido el alimento a la salida del extrusor. Para el cálculo se seleccionaron 20 muestras de los extruidos de un tamaño visiblemente uniforme, y se tomaron medidas del diámetro con un pie de rey electrónico (Comecta S.A., Barcelona, España). El índice se determinó según la ecuación 5:

$$SEI = \frac{(\text{diámetro del extrusionado})^2}{(\text{diámetro de la boquilla})^2} \quad (5)$$

4.4.6 Porosidad y densidad

La porosidad (ε), definida como el volumen de aire respecto al volumen total, se obtuvo según la ecuación 6:

$$\varepsilon = \frac{\rho - \rho_{ap}}{\rho} \quad (6)$$

Donde ε es la porosidad, ρ es la densidad real y ρ_b es la densidad aparente.

La densidad real (ρ) fue determinada mediante un picnómetro de gases (AccPyc 1330, Micromeritics, Norcross, USA). Para determinar la densidad aparente (Igual *et al.*, 2020) se midió

las dimensiones (altura y diámetro) del cilindro con un pie de rey electrónico (Comecta S.A., Barcelona, España) y las muestras fueron pesadas en una balanza de precisión (Mettler Toledo, Switzerland).

4.4.7 Textura

Para medir la textura de los extrusionados, se empleó un ensayo de punción con el equipo TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK) (Figura 7) y el software Texture Exponent (Version 6.1.12.0, Godalming, Surrey, UK) (Desrumaux *et al.*, 1998). Se tomaron 10 medidas de cada muestra, empleando una sonda de 2 mm de diámetro que realiza la punción a una velocidad de 0.6 mm/s.



Figura 7. Equipo TA-XT2

El programa permite controlar las operaciones del analizador de textura y almacena los puntos medidos (fuerza, distancia y tiempo) y representa las curvas de textura de manera automática.

El software almacenó, analizó la curva fuerza-tiempo y proporcionó el área bajo la curva, que representaba el trabajo hecho (S) a un tiempo de desplazamiento dado (t) de la sonda. La fuerza de bajada (F) de cada pico representaba la resistencia local de las paredes celulares, el número de picos (N_o) también se almacenó. Estos parámetros se usaron para calcular la fuerza de punción media (F_p), la fuerza de ruptura estructural media específica (F_s), la frecuencia espacial de las rupturas estructurales (N_{sr}) y la crujencia (W_c), según las ecuaciones 7, 8 y 9, donde d es la distancia recorrida por la sonda:

$$F_p = \frac{S}{t} \quad (7)$$

$$F_s = \sum \frac{F}{N_o} \quad (8)$$

$$N_{sr} = \frac{N_o}{d} \quad (9)$$

4.4.8 Propiedades ópticas

Las coordenadas de color CIE * L * a * b * se determinaron considerando la fuente de luz estándar D65 y un observador estándar de 10º (espectrofotómetro Minolta CM-3600d, Japón) sobre fondo blanco y empleando un vidrio óptico (CR-A51, Minolta, Japón) entre la muestra y la lente del espectrocromatómetro con una ventana de medición de 6 mm de diámetro. Previamente se realizaron medidas sobre fondo blanco y negro para descartar la posible translucidez de las muestras. Se tomaron 10 medidas en las muestras extruidas.

A partir de las coordenadas se calculó el tono (h^{*ab} , ecuación 10) y el croma (C^{*ab} , ecuación 11). Por otro lado, se calculó la diferencia de color (ΔE , ecuación 12) entre las harinas y los extruidos para evaluar el efecto de la extrusión (ΔE_1) y entre los controles y los enriquecidos con escaramujo (ΔE_2).

$$h_{ab}^{*} = \arctg \frac{b^{*}}{a^{*}} \quad (10)$$

$$C_{ab}^{*} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (11)$$

$$\Delta E^{*} = \sqrt{(\Delta L^{*})^2 + (\Delta a^{*})^2 + (\Delta b^{*})^2} \quad (12)$$

4.4.9 Determinación de fenoles totales

La determinación de los fenoles totales se llevó a cabo utilizando el ensayo Folin-Ciocalteu según Benzie y Strain (1999) y adaptado por Selvendran y Ryden (1990). Para la extracción de los fenoles totales se siguió la metodología descrita por Tomás-Barberán et al. (2001), para ello se pesaron 35 g de muestra y se le añadió 40 mL de metanol puro, 10 mL de HCl 6N y NaF 2mM. La mezcla se homogeneizó con un Ultraturrax (T25, Janke & kunkel) durante 5 minutos y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos a 4ºC (Selecta Medifriger-BL). A continuación, se tomaron 250 µL del sobrenadante, se añadieron 15 mL de agua bidestilada y 1,25 mL de reactivo FolinCiocalteu (Sigma-Aldrich) y se dejó reposar 8 minutos. Transcurrido este tiempo, se adicionaron 3,75 mL de una disolución de carbonato de sodio 7,5% (p/v) y se llevó a un volumen de 25 mL con agua bidestilada. Se mantuvo de nuevo en oscuridad a temperatura ambiente durante 2 horas y se midió la absorbancia a 765 nm con un espectrofotómetro UV visible (Thermo Electron Corporation, Estados Unidos). Los análisis se realizaron por triplicado.

Para cuantificar los fenoles totales se prepararon disoluciones de diferentes concentraciones de ácido gálico (Sigma-Aldrich) que se utilizó como patrón. A partir de la recta de calibrado, elaborada con dichas concentraciones y las absorbancias obtenidas de las disoluciones del

patrón, se obtuvo la concentración de ácido gálico que tenían las muestras analizadas. Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico / 100 g.

4.4.10 Determinación de carotenoides totales

La determinación de carotenoides totales presentes en las muestras se llevó a cabo mediante espectrofotometría, según el método AOAC (Association of Official Agricultural Chemists, 1996). Para la extracción de los carotenoides totales se siguió la metodología descrita por Olives et al., (2006). Se tomaron 5 g de muestra y se agitaron junto a una mezcla de hexano-acetona-etanol (50:25:25, v/v/v) en oscuridad durante 30 minutos. Trascurrido el tiempo, se añadieron 15 mL de agua destilada. Se tomaron 4 mL de la parte superior correspondiente a la fase hexano y se trasladó a la cubeta para ser medida. Los análisis se realizaron por triplicado. Para la medida de la absorbancia a 446 nm se utilizó un espectrofotómetro UV-visible (Thermo Electron Corporation, Estados Unidos). Los resultados se expresaron como mg/100 g.

4.4.11 Determinación de la actividad antioxidante

El potencial antioxidante total de las muestras se midió usando el método del DPPH (Puunpponen-Pimiä et al., 2003), que se basa en la capacidad de los antioxidantes para captar radicales libres. El DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) es un radical libre que puede reaccionar directamente con los antioxidantes (Smith et al., 1987; Jiménez et al., 1998; Koleva et al., 2002).

La muestra fue diluida en la proporción muestra:metanol adecuada en cada caso y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Para el análisis de las muestras se tomó 0,1 mL del sobrenadante y se introdujo en una cubeta a la que se añadieron 3,9 mL de DPPH (0,0030 g/L). Se midió la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro UV-visible (Thermo Electron Corporation, Estados Unidos) a intervalos de 0,15 minutos hasta que la reacción se estabilizó. Los análisis se realizaron por triplicado.

Los resultados se expresaron en % DPPH según la ecuación 13:

$$\%DHPP = \frac{(A_{control} - A_{muestra})}{A_{control}} \times 100 \quad (13)$$

Donde $A_{control}$ es la absorbancia de control (absorbancia de la muestra a tiempo 0) y $A_{muestra}$ es la absorbancia de la muestra cuando el tiempo se ha estabilizado. La actividad antioxidante (AOA) fue expresada en mg de Trolox/100g.

4.5 Digestión *in vitro*

Debido a la complejidad de estudiar los procesos de digestión *in vivo*, se han adoptado métodos *in vitro* que replican de manera fiel la fisiología humana. De esta manera es posible replicar los procesos que ocurren en el organismo de manera relativamente fácil y eficiente. Esta técnica

permite evaluar la estabilidad de los componentes a lo largo del proceso de digestión, así como la digestibilidad y bioaccesibilidad del alimento ingerido.

La digestibilidad *in vitro* de la muestra se evaluó mediante el método de digestión *in vitro* estandarizado apto para alimentos (COST INFOGEST) propuesto por Minekus et al.,2018.

El protocolo de digestión se resume en la Figura 8, donde se han seguido las 4 fases: fase oral, formada por la mezcla de la muestra y simulación de líquido salival (SSF) (1:1) con amilasa a pH 7 durante 2 min; fase gástrica, se mezcló el bolo oral y el fluido gástrico simulado (SGF) (1:1) con pepsina a pH 3 durante 2 h; fase intestinal, mezclar el quimo gástrico y el líquido intestinal simulado (SIF) (1:1) con enzimas a pH 7 durante 2 h; y filtración, centrifugar a 4500 rpm durante 30 min y luego filtrar a través de un 1 µm membrana de fibra de vidrio.

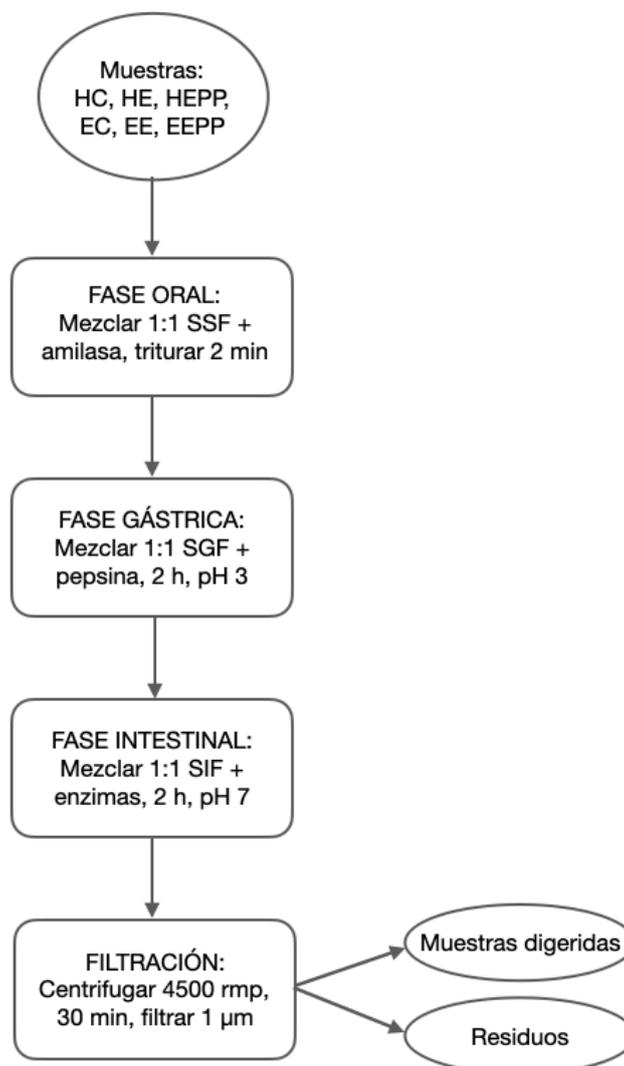


Figura 8. Diagrama de flujo de la digestión *in vitro*. HC, HE y HEPP son harina control, harina con escaramujo, harina con escaramujo y proteína de guisante; EC, EE y EPP son extrusionado control, extrusionado con escaramujo y extrusionado con escaramujo y proteína de guisante respectivamente. SSF, SGF y SIF son Fluido Salivar Simulado, Fluido Gástrico Simulado, Fluido Intestinal Simulado respectivamente.

4.6 Análisis estadístico

Para el estudio estadístico de los resultados obtenidos se realizó un análisis estadístico mediante ANOVA simple o multifactorial para evaluar la significación de los factores en estudio. Para ello, se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Centurión XVII (StatisticalGraphics Corp., Orkville, USA). Se utilizó el nivel de confianza del 95% y cuando se observaron diferencias significativas, se analizaron las diferencias entre los niveles mediante el análisis de contraste múltiple de rango LSD. Además, se realizaron correlaciones de Pearson con un nivel de confianza del 95% con el mismo paquete estadístico.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Características fisicoquímicas de los extrusionados

El análisis de las características fisicoquímicas permite evaluar en qué medida afecta la incorporación de ciertos componentes al producto de estudio. En la Tabla 1 se muestran los valores medios y desviaciones estándar de x_w , a_w , pérdida de agua, WAI, WSI, SWE, Hg, SEI, ρ_b , y ϵ de los extrusionados. Como se puede observar, la adición de polvo de escaramujo con o sin proteína de guisante redujo significativamente ($p < 0,05$) la x_w de los extrusionados. Estos resultados concuerdan con otros estudios (Iguar *et al.*, 2020), que muestran cómo la humedad disminuye con la adición de otros compuestos. A pesar de que la a_w presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras estudiadas, siendo el EE el de mayor valor, los valores se encuentran dentro del rango típico de los productos extrusionados (Uribe-Wandurraga *et al.*, 2020; Iguar *et al.*, 2021). La pérdida de agua mostró un comportamiento opuesto a x_w , EC conservó más cantidad de agua mientras que el valor del resto de muestras disminuyó sin presentar diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ellas. Esto parece indicar que la adición de escaramujo con o sin proteína de guisante promueve la pérdida de agua. La pérdida de agua depende de la presión de vapor del aire, extensibilidad y retención de agua, y es un reflejo del grado de transformación del almidón. Las muestras con escaramujo son más ricas en fibra y contienen más agua que es absorbida, por lo que la pérdida de agua es mayor (Karkle *et al.*, 2012). Esto explica que la x_w sea mayor en la muestra control, así como la pérdida de agua menor.

El WAI y el WSI reflejan la interacción de los extrusionados con el agua (Alam *et al.*, 2019). Como se puede observar en la Tabla 1, EE y EEPP mostraron valores más altos de WAI, sin presentar diferencias significativas entre ellas ($p > 0,05$), mientras que en el WSI mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) al comparar las tres muestras estudiadas. La adición de escaramujo y proteína de guisante disminuye los valores de WAI mientras que aumenta WSI, resultados que concuerdan con Iguar *et al.* (2020). Estos índices proporcionan información sobre los cambios fisicoquímicos de los biopolímeros durante el proceso de extrusión. Según los resultados, la adición de escaramujo parece reducir el daño molecular causado por moléculas solubles en agua (menor WSI). Esto indica que el escaramujo disminuye la solubilización de componentes durante la extrusión. Por otro lado, EEPP mostró los valores más elevados de SWE ($p < 0,05$), mientras que el EC presentó los valores más bajos, como en otros estudios (Uribe-Wandurraga *et al.*, 2020). Sin embargo, EE no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) cuando se comparó con EC o con EEPP de manera separada. Cabe tener en cuenta que los valores obtenidos para SWE se encuentran en un rango muy reducido y que presentan variaciones muy pequeñas.

Respecto a la higroscopicidad, EC y EEPP mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a EE, cuyo valor fue más elevado, lo que indica que EE es capaz de retener y liberar agua en función de la humedad del ambiente incrementando así Hg, hecho también visto por Iguar *et al.* (2021). En el SEI se pudo observar cómo afectaba la adición de escaramujo y de proteína de guisante, generándose tres grupos significativos ($p < 0,05$) con EC presentando mayor expansión, seguido de EE y EEPP. Esto puede relacionarse con los datos obtenidos en x_w ,

se puede deducir que a mayor pérdida de agua menos expansión tendrá lugar, ya que los biopolímeros son más resistentes a la expansión que el almidón (Karkle *et al.*, 2012).

La densidad es una propiedad general de los extrusionados que indica cambios en la estructura celular, poros y huecos formados durante el proceso de extrusión. Una estructura porosa se caracteriza por materiales altamente extrusionables (Patil *et al.*, 2005). Como se puede observar, la densidad aparente resultó mayor en EC, mientras que EE presentó el valor más pequeño, resultados que concuerdan con otros estudios (Igual *et al.*, 2021). Todas las muestras presentaron diferencias significativas entre sí ($p < 0,05$). Los valores obtenidos de la porosidad presentan valores significativamente ($p < 0,05$) inferiores en EEPP en comparación con EC y EE aunque las diferencias son muy leves.

Tabla 1. Muestras de los extrusionados control (EC), escaramujo (EE) y escaramujo con proteína de guisante (EEPP) y sus valores medios (y desviaciones estándar) de humedad (x_w), actividad del agua (a_w), índice de absorción de agua (WAI), índice de solubilidad (WSI), índice de swelling (SWE), higroscopicidad (Hg), índice de expansión (SEI), densidad aparente (ρ_b) y porosidad (ϵ).

Parámetros	EC	EE	EEPP
x_w (g _w /100 g)	3,45(0,07) ^a	1,7(0,2) ^b	1,866(0,098) ^b
a_w	0,358(0,003) ^b	0,369(0,003) ^a	0,352(0,003) ^b
water loss (g _w /g _{ms})	0,2739(0,0114) ^b	1,3(0,5) ^a	1,01(0,14) ^a
WAI	3,14(0,14) ^b	4,96(0,16) ^a	5,19(0,14) ^a
WSI (%)	22,9(0,5) ^a	19,0(0,8) ^b	9,4(0,8) ^c
SWE (mL _{swollen} /g _{dry solid})	2,08(0,07) ^b	2,6(0,3) ^{ab}	2,9(0,2) ^a
Hg (g _w /100 g _{dry solid})	22,96(0,29) ^b	26,3(0,9) ^a	24,3(0,9) ^b
SEI	13,7(0,8) ^a	12,9(0,8) ^b	10,6(0,8) ^c
ρ_b (g/cm ³)	0,087(0,001) ^a	0,0784(0,0004) ^c	0,0838(0,0008) ^b
ϵ (%)	93,2(0,2) ^a	92,94(0,06) ^a	91,63(0,04) ^b

La misma letra en los superíndices dentro de la misma línea indica los grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$).

En la Tabla 2 se incluyen las correlaciones de Pearson establecidas entre los parámetros determinados para los extrusionados. Se puede observar una correlación negativa significativa (0,9875; $p < 0,05$) entre WAI y WSI. El SWE también mostró una negativa con WSI (0,8617; $p < 0,05$) pero positiva significativa con WAI (0,9250; $p < 0,05$). Además, ρ se relacionó con x_w de manera positiva y significativa (0,8383; $p < 0,05$), como ha sido descrito por García-Segovia *et al* (2020). SEI se correlaciona de manera positiva con ϵ (0,9951; $p < 0,05$) y WSI (0,8101; $p < 0,05$), pero negativa con WAI (0,8230; $p < 0,05$), SWE (0,7980; $p < 0,05$) y Hg (0,7883; $p < 0,05$).

Tabla 2. Coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros de extrusión: humedad (x_w), actividad de agua (a_w), índice de absorción de agua (WAI), índice de solubilidad (WSI), índice de swelling (SWE), higroscopicidad (Hg), índice de expansión (SEI), porosidad (ϵ) y densidad (ρ).

	a_w	WAI	WSI	SWE	Hg	SEI	ϵ	ρ
x_w (g _w /100 g)	-0,2839	-0,6391	0,5851	-0,7630	-0,6424	0,5855	0,5513	0,8383*
a_w		-0,3588	0,3875	-0,2206	-0,3025	0,6092	0,6318	-0,6909
WAI			-0,9875*	0,9250*	0,9741*	-0,8230*	-0,7742	-0,3353
WSI (%)				-0,8617*	-0,9901*	0,8101*	0,7702	0,2538
SWE (mL _{swollen} /g _{dry solid})					0,8381*	-0,7980*	-0,7433	-0,5392
Hg (g _w /100 g _{dry solid})						-0,7883*	-0,7481	-0,3133
SEI							0,9951*	0,0955
ϵ (%)								0,0406
ρ (g/cm ³)								

*Las correlaciones de Pearson son significativas ($p < 0,05$)

5.2 Características ópticas

Las propiedades ópticas de harinas y extrusionados se muestran en la Tabla 3 (L^* , a^* , b^* , C^* , h , ΔE_1 y ΔE_2). La luminosidad (L^*) presenta valores significativamente ($p < 0,05$) más altos en harinas que extrusionados, sin diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las muestras de extrusionados, pero sí entre las harinas presentando HC el valor más elevado. Las muestras que incorporan escaramujo son significativamente ($p < 0,05$) más rojizas que los respectivos controles, ya que se puede ver un incremento notable en el valor de a^* , que es la coordenada que representa el contenido en rojo de un color. Estos resultados concuerdan con los descritos por Igual *et al* (2021). Al comparar a^* de harinas y extrusionados se observa la misma tendencia que para L^* , siendo las harinas significativamente ($p < 0,05$) más rojas que los extrusionados. La coordenada b^* representa el contenido en amarillo de un color. Tanto en harinas como en extrusionados, HC y EC presentaron los valores más bajos de dicha coordenada, aunque las variaciones dentro de cada grupo fueron pequeñas. El parámetro C^* hace referencia a la pureza o saturación de un color. En los resultados se observa que ambas tanto HC como EC presentan valores significativamente ($p < 0,05$) menores comparando con las muestras que contienen escaramujo. La tonalidad (h^*) se ve afectada por la adición de escaramujo en todas las muestras, siendo en ambos casos C el que presenta valores más elevados. Se puede observar cómo la adición de escaramujo provoca una reducción de L^* y h^* ($p < 0,05$) pero un incremento del parámetro a^* . De acuerdo con los resultados descritos por Igual *et al* (2021), también se aprecia cómo disminuyen significativamente ($p < 0,05$) L^* , a^* , b^* y C^* tras la extrusión.

Las diferencias de color entre las muestras con escaramujo y el control (ΔE_1) tanto en harinas (12,3 a 13,5) como en extrusionados (8,5 a 8,7) oscilan en rangos muy pequeños, siendo mayores las diferencias en las harinas ($p < 0,05$). El color es una característica de calidad importante puesto que refleja el alcance de las reacciones químicas y el grado de cocinado o degradación que ocurre durante el proceso de extrusión. ΔE_2 representa la diferencia total de color entre extrusionados y harinas. La extrusión genera productos más oscuros con colores más amarillos y rojos (Dogan *et al.*, 2003). La diferencia más significativa ($p < 0,05$) fue entre las muestras C,

mientras que las que incorporan escaramujo y además proteína de guisante presentaron las mismas diferencias.

Tabla 3. Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros colorimétricos (L^* , a^* , b^* , C^* y h) y las diferencias de color (ΔE) de las harinas y extrusionados (HC: harina control; HE: harina con escaramujo; HEPP: harina con escaramujo y proteína de guisante; EC: extrusionado control; EE: extrusionado con escaramujo; EEPP: extrusionado con escaramujo y proteína de guisante).

	Harinas			Extrusionados		
	HC	HE	HEPP	EC	EE	EEPP
L^*	81,9(0,2) ^{aA}	72,9(0,3) ^{bA}	72,6(0,3) ^{bA}	49,5(3,7) ^{aB}	50,41(2,16) ^{aB}	52,25(4,12) ^{aB}
a^*	5,1(0,1) ^{cA}	14,7(0,4) ^{aA}	11,9(0,5) ^{bA}	0,7(0,4) ^{bB}	6,9(0,3) ^{aB}	6,6(0,9) ^{aB}
b^*	36,6(1,4) ^{cA}	39,3(0,4) ^{bA}	40,8(0,6) ^{aA}	16,05(1,13) ^{cB}	21,7(0,9) ^{aB}	20,2(0,8) ^{bB}
C^*	37,0(1,4) ^{bA}	42,0(0,5) ^{aA}	42,5(0,7) ^{aA}	16,07(1,14) ^{bB}	22,8(1,0) ^{aB}	21,3(0,9) ^{aB}
h	82,1(0,2) ^{aB}	69,5(0,3) ^{cB}	73,8(0,4) ^{bA}	87,7(1,4) ^{aA}	72,4(0,3) ^{bA}	71,9(2,4) ^{bA}
ΔE_1	-	13,5(0,6) ^{aA}	12,3(0,7) ^{aA}	-	8,717(1,008) ^{bB}	8,5(1,7) ^{bB}
ΔE_2	-	-	-	39(3) ^a	30(2) ^b	30(3) ^c

Para cada parámetro, la misma letra minúscula del superíndice dentro de la misma línea indica grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$) comparando muestras en harinas o extrusionados. Para cada muestra y parámetro, la misma letra mayúscula del superíndice en la misma línea indica grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$) comparando harinas y extrusionados.

La Figura 9 muestra el aspecto de las harinas y los extrusionados. En concordancia con los resultados obtenidos, se puede apreciar de manera clara que la adición de escaramujo resulta en un aspecto más rojizo (a^* más alto).

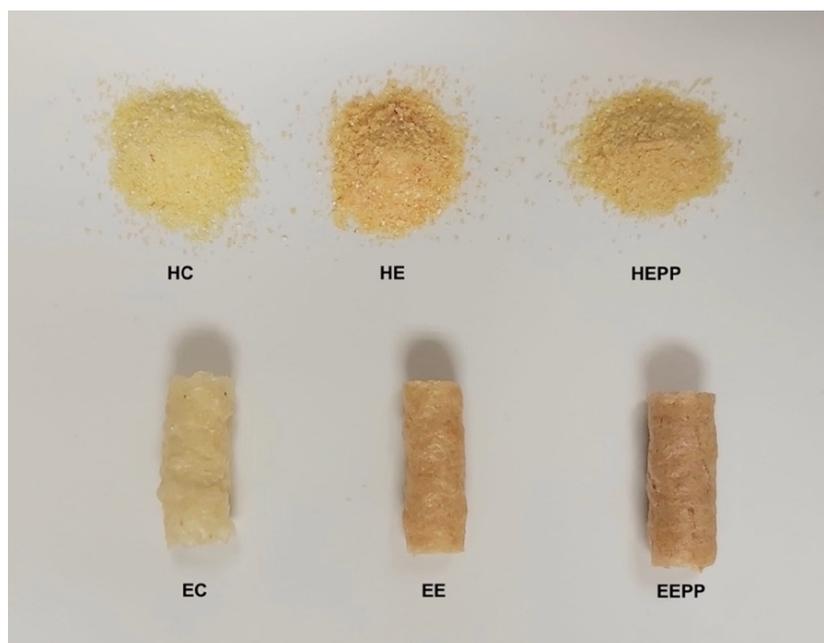


Figura 9. Muestras de harina control (HC), extrusionado control (EC), harina con escaramujo (HE), extrusionado con escaramujo (EE), harina con escaramujo y proteína de guisante (HEPP) y extrusionado con escaramujo y proteína de guisante (EEPP).

5.3 Textura

La textura es una de las características más importantes de los snacks obtenidos por extrusión (Do Carmo *et al.*, 2019). El trabajo de crujiencia puede considerarse como un criterio sensorial de fracturabilidad (Azzollini *et al.*, 2018), descrito como la fuerza necesaria para fracturar la muestra (W_c) (Cheng *et al.*, 2007). La fuerza media de punción (F_p) y la fuerza media específica (F_s) que causa rupturas estructurales se atribuye a la sensación de dureza al masticar, es decir, la fuerza dental necesaria para aplastar una sustancia (Patil *et al.*, 2005). N_{sr} indica el número de fracturas que tienen lugar durante la punción (Azzollini *et al.*, 2018) y N_0 corresponde al número de fracturas durante la prueba (Igal *et al.*, 2020).

Como se puede observar en la Tabla 4, la adición de escaramujo disminuye los valores de W_c , siendo la muestra EE la que presenta el valor menor. Las muestras con escaramujo requieren menos fuerza de mordida para romper el extrusionado (Igal *et al.*, 2021). La misma tendencia se puede observar en F_s y F_p , cuyos valores fueron más elevados en el control, y significativamente ($p < 0,05$) mayor que los valores obtenidos en EE y EEPP. Estos resultados concuerdan con los descritos por Igal *et al.* (2021). Como ya se ha mencionado, la crujiencia se relaciona con los parámetros N_{sr} y N_0 , y se puede ver en la Tabla 4 cómo ambos siguen la misma tendencia, presentando EE y EEPP valores significativamente ($p < 0,05$) más elevados que EC. Esto implica que la adición de escaramujo resulta en snacks más crujientes.

Tabla 4. Valores medios y desviaciones estándar de los parámetros de textura de las muestras control (EC), escaramujo (EE) y escaramujo con proteína de guisante (EEPP).

	EC	EE	EEPP
W_c (N x mm)	0,25(0,03) ^a	0,083(0,019) ^c	0,14(0,02) ^b
N_{sr} (mm ⁻¹)	10,15(1,08) ^b	13,5(1,1) ^a	14,18(0,59) ^a
F_s (N)	2,5(0,2) ^a	1,1(0,3) ^c	1,96(0,27) ^b
F_p (N)	2,0(0,1) ^a	0,9(0,3) ^c	1,65(0,23) ^b
N_0	109(11) ^b	135(8) ^a	134,00(7,52) ^a

La misma letra en los superíndices dentro de la misma línea indica los grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$)

En la Tabla 5 se muestran los valores obtenidos de un análisis de correlación entre los parámetros típicos de los extrusionados y los de textura, con el fin de poder establecer una relación entre ambos. Como se puede ver, x_w se correlaciona positivamente con W_c (0,9530; $p < 0,05$) y F_s (0,8256; $p < 0,05$) y negativamente con N_{sr} (0,9596; $p < 0,05$) y N_0 (0,9851; $p < 0,05$). Otro parámetro que destacar es ρ , que se correlaciona de manera positiva con W_c (0,9583; $p < 0,05$), F_s (0,9969; $p < 0,05$) y F_p (0,9927; $p < 0,05$). Según los resultados, los parámetros que más efecto tienen sobre la textura son la humedad y porosidad. La correlación negativa de los parámetros relativos a la crujiencia (N_{sr} y N_0) con x_w corrobora que a valores más elevados de las características relacionadas con el agua menor crujiencia (García-Segovia *et al.*, 2020).

Tabla 5. Coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros fisicoquímicos y los de textura de las muestras.

	W_c (N*mm)	N_{sr} (mm ⁻¹)	F_s (N)	F_p (N)	N_o
x_w (g _w /100 g)	0,9530*	-0,9596*	0,8256*	0,7888	-0,9851*
a_w	-0,4777	0,0374	-0,6697	-0,7251	0,2236
WAI	-0,5260	0,6906	-0,3316	-0,2450	0,5880
WSI (%)	0,4460	-0,6362	0,2401	0,1525	-0,5206
SWE (mL _{swoollen} /g dry solid)	-0,7129	0,8201*	-0,5549	-0,4788	0,7494
Hg (g _w /100 g dry solid)	-0,4986	0,6682	-0,2926	-0,2096	0,5711
SEI	0,3725	-0,7611	0,0992	0,0224	-0,6218
ε (%)	0,3223	-0,7397	0,0417	-0,0324	-0,5938
ρ (g/cm ³)	0,9583*	-0,6845	0,9969*	0,9927*	-0,7979

*Las correlaciones de Pearson son significativas (p < 0,05)

5.4 Compuestos bioactivos y actividad antioxidante

Los compuestos bioactivos que se estudiaron tanto para harinas como extrusionados fueron los fenoles totales (FT) y los carotenoides totales (CT) (Tabla 6). De la misma manera se evaluó la actividad antioxidante (AOA) (Tabla 6).

Como se puede ver en la Tabla 6, dentro de las harinas todas las determinaciones siguen la misma tendencia, siendo el HC el que menor cantidad de carotenoides y fenoles totales presenta, así como una actividad antioxidante inferior al resto. HE presenta cantidades significativamente (p < 0,05) mayores de estos compuestos bioactivos y mayor actividad antioxidante que HC y HEPP. En extrusionados se pueden observar resultados similares en cuanto al contenido en carotenoides mientras que para fenoles y actividad antioxidante parece no haber diferencias significativas (p > 0,05) entre EE y EEPP. Según indican los resultados, las muestras que mayor concentración de bioactivos presentan son aquellas que contienen escaramujo sin proteína de guisante. La función de la proteína de guisante es proteger los compuestos bioactivos del escaramujo durante el proceso de extrusión. Cabe resaltar que, a igualdad de peso entre las muestras, aquellas que no tengan proteína de guisante presentarán mayor concentración de bioactivos debido a la adición del agente encapsulante. Esto puede justificar que los valores resulten mayores en las muestras que únicamente incorporan escaramujo, especialmente AOA, puesto que una de las propiedades más características del escaramujo es su efecto antioxidante.

Se ha descrito en varios estudios que el tratamiento térmico y mecánico de los alimentos puede favorecer la biodisponibilidad de carotenoides al ser liberados en la matriz, gracias a la rotura de las paredes celulares y al incremento en la digestibilidad (Ornelas-Paz *et al.*, 2010). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que un exceso de temperatura puede resultar en la pérdida de dichos carotenoides. Para ello se emplean agentes encapsulantes como la proteína de guisante que se espera que proteja el escaramujo de la degradación.

Tabla 6. Valores medios y desviaciones estándar de los carotenoides totales (CT), fenoles totales (FT) y actividad antioxidante (AOA) de las muestras de harinas y extrusionados: control (C), con escaramujo (E), con escaramujo y proteína de guisante (EPP).

		CT (mg _{b-caroteno} /100 g _{b.s})	FT (mg _{GAE} /100 g _{b.s})	AOA (mg _{TE} /100 g _{b.s})
Harinas	HC	3,75 (0,09) ^{cA}	23,68 (1,15) ^{cA}	1,73 (0,14) ^{cA}
	HE	43,74 (0,14) ^{aA}	334 (9) ^{aA}	201 (2) ^{aA}
	HEPP	22,73 (0,03) ^{bA}	272 (3) ^{bA}	64,7 (0,3) ^{bA}
Extrusionados	EC	2,11 (0,06) ^{cB}	14,4 (0,3) ^{bB}	n.d ^{bB}
	EE	7,85 (0,04) ^{aB}	169,2 (0,7) ^{aB}	14,01 (0,13) ^{aB}
	EEPP	5,76 (0,02) ^{bB}	169,3 (0,8) ^{aB}	12,3 (1,3) ^{aB}

Para cada parámetro, la misma letra minúscula del superíndice dentro de la misma columna indica grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$) comparando muestras en harinas o extrusionados. Para cada muestra y parámetro, la misma letra mayúscula del superíndice en la misma columna indica grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$) comparando harinas y extrusionados.

Al comparar los datos obtenidos para cada muestra tras el proceso de extrusión, se puede ver en la Tabla 6 cómo las concentraciones de carotenoides y fenoles son inferiores en extrusionados que en harinas. La actividad antioxidante también es menor en extrusionados. Hay numerosos estudios que muestran una correlación negativa entre el proceso de extrusión y los compuestos bioactivos (Pasqualone *et al.*, 2020; Anton *et al.*, 2009). Respecto al contenido en fenoles, estos autores explican la pérdida de bioactivos como consecuencia de las altas temperaturas del proceso de extrusión, la humedad del material y una posible polimerización entre fenoles y taninos, lo cual resulta en una menor capacidad de extracción de los compuestos y consecuentemente menor actividad antioxidante.

5.5 Digestibilidad *in vitro* y bioaccesibilidad

La IVD (digestibilidad *in vitro*) representa la catálisis química enzimática que tiene lugar en el tracto digestivo (Batista *et al.*, 2017), por lo que es un factor importante que permite comprender qué realmente se digiere de lo ingerido.

Como se puede observar en la Figura 10, hay una clara diferencia entre harinas y extrusionados ($p < 0,05$). Esto se debe a que, como se ha comentado anteriormente, el proceso de extrusión induce la formación de biopolímeros que se comportan como la fibra (Larrea *et al.*, 2005; Uribe-Wandurruga *et al.*, 2020), lo que hace a los extrusionados más resistentes durante la digestión. Por tanto, a mayor cantidad de fibra menor IVD.

El control tanto en harinas como extrusionados presentó los valores más altos, siendo significativamente diferentes entre ellos ($p < 0,05$). La adición de proteína de guisante parece no tener efecto sobre el IVD ($p > 0,05$). De acuerdo a lo dicho antes, se puede ver cómo la adición de escaramujo sí tiene un efecto negativo sobre el IVD ($p < 0,05$) puesto que contribuye al contenido en fibra del snack y por tanto disminuye su digestibilidad.

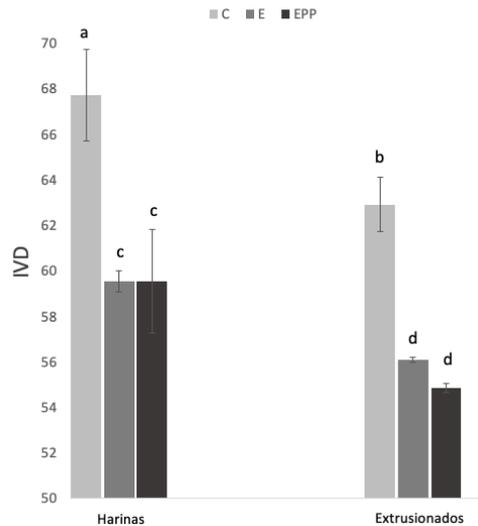


Figura 10. Valores medios y desviaciones estándar del % de IVD (digestibilidad *in vitro*) de las muestras de harinas y extrusionados: control (C), escaramujo (E) y escaramujo con proteína de guisante (EPP). Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$)

El término bioaccesibilidad hace referencia a la fracción que es liberada durante la digestión *in vitro* y es accesible para su absorción. Difiere de la biodisponibilidad, que es la fracción de nutrientes o componentes del alimento que se ha digerido de manera eficiente durante la digestión *in vivo*, se han asimilado y posteriormente absorbido por el organismo (Fernández-García *et al.*, 2009). Una vez obtenidos los compuestos bioactivos, la bioaccesibilidad se determinó usando la ecuación 14 propuesta por Khouzam *et al* (2011):

$$\text{Bioaccesibilidad} = \frac{A}{B} \times 100 \quad (14)$$

Donde A es la concentración de los compuestos bioactivos en la fracción bioaccesible tras la digestión *in vitro* y B es la concentración de los compuestos bioactivos previo a la digestión. Los posibles compuestos

En la figura 11 se muestran los porcentajes de bioaccesibilidad de FT y CT para todas las muestras. La bioaccesibilidad de los FT fue significativamente ($p < 0,05$) mayor en los extrusionados que contienen escaramujo, EE y EEPP. El procesamiento de los alimentos cambia aspectos fisicoquímicos de los compuestos fenólicos, por lo que puede tener efectos positivos o negativos sobre la bioaccesibilidad de los mismos. En este caso se puede ver cómo el proceso de extrusión permite que más compuestos fenólicos sean liberados y puedan ser más bioaccesibles en la digestión humana. La bioaccesibilidad de los CT mostró una tendencia similar a FT en cuanto a que los extrusionados presentaban mayor porcentaje de bioaccesibilidad que las harinas, siendo el extrusionado EEPP la muestra con mayor valor ($p < 0,05$). En este caso, en ambas muestras sí que hay diferencias ($p < 0,05$) entre las muestras que incorporan escaramujo y aquellas que además tienen proteína de guisante, lo cual podría implicar que la proteína de guisante previene en cierta medida los daños que pueden ocasionar la pérdida de carotenoides.

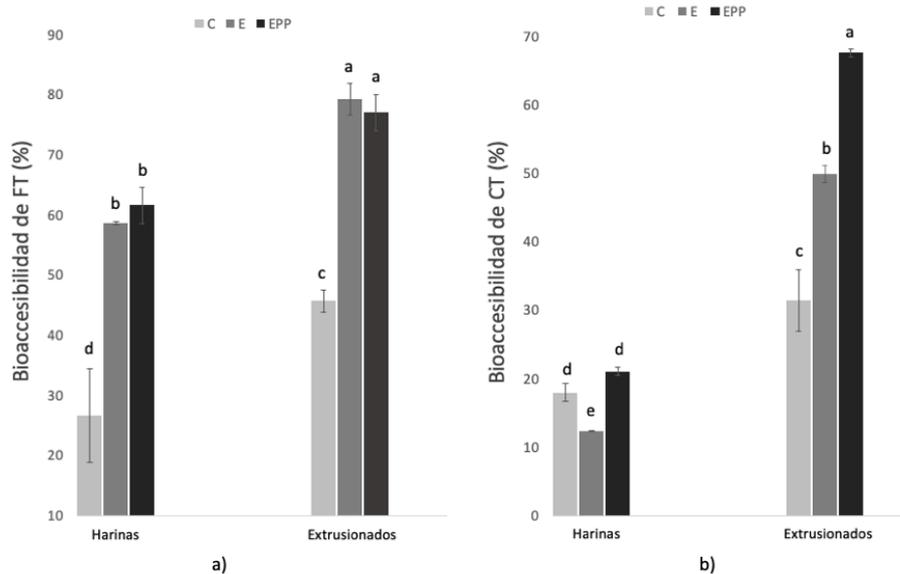


Figura 11. a) Valores medios y desviaciones estándar del % de bioaccesibilidad de fenoles totales (FT) de las muestras de harinas y extrusionados: control (C), escamujero (E) y escamujero con proteína de guisante (EPP). b) Valores medios y desviaciones estándar del % de bioaccesibilidad de carotenoides totales (CT) de las muestras de harinas y extrusionados: control (C), escamujero (E) y escamujero con proteína de guisante (EPP). Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$)

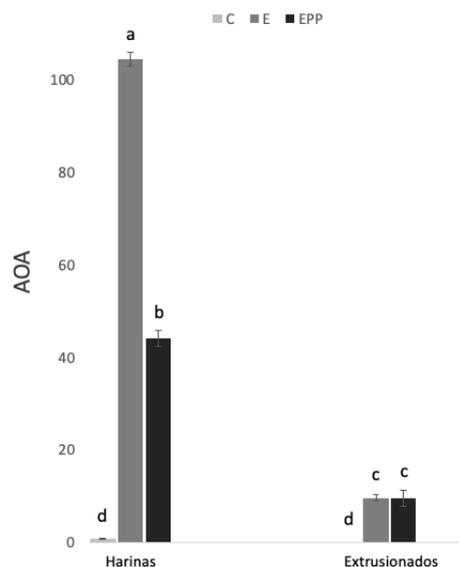


Figura 12. Valores medios y desviaciones estándar de la actividad antioxidante (AOA) de las muestras de harinas y extrusionados: control (C), escamujero (E) y escamujero con proteína de guisante (EPP). Las letras indican los grupos homogéneos establecidos por ANOVA ($p < 0,05$)

La figura 12 muestra los datos obtenidos de la actividad antioxidante después de la digestión *in vitro* de las harinas y extrusionados. Dentro de las harinas, la muestra que incorporaba escamujero (HE) presentó el valor más elevado ($p < 0,05$). Los valores más bajos se vieron en los controles de ambas muestras (HC y EC), siendo apenas apreciable. Esto se debe a que la actividad antioxidante depende de la composición y concentración de antioxidantes como

vitaminas, fenoles y carotenoides (Liu, 2003), compuestos no presentes en los controles. Hay que tener en cuenta que para la bioaccesibilidad de FT y CT obtenemos datos (en porcentaje) de la cantidad de estos compuestos bioactivos, sin embargo, para la actividad antioxidante se mide realmente la capacidad, por lo que no se puede expresar como bioaccesibilidad. Por ello, la Figura 12 muestra la gráfica de los valores tras la digestión *in vitro*. A pesar de que los valores que se observan son menores en extrusionados, si se compara con los datos de la Tabla 6 (previo a la digestión *in vitro*), se puede ver que los datos iniciales también eran menores. Si se compara la capacidad antioxidante antes y después de la digestión, se puede ver cómo la extrusión tiene un efecto positivo sobre la actividad antioxidante.

6. CONCLUSIONES

- La incorporación de escaramujo con o sin proteína de guisante a harina de maíz para obtener extrusionados permitió obtener snacks con mayor valor funcional. Estos extrusionados mostraron mayor cantidad en compuestos bioactivos (fenoles y carotenoides) y una mayor actividad antioxidante respecto al control.
- A pesar de que la adición de polvo de escaramujo con o sin proteína de guisante redujo la expansión de los extrusionados, dichos snacks fueron más crujientes. Por otro lado, la incorporación de escaramujo potenció colores más rojizos en las harinas y extrusionados.
- La extrusión redujo el índice de digestibilidad de las muestras debido a la formación de biopolímeros a partir del almidón, que se comportan como la fibra en el tracto digestivo. Así mismo, la incorporación de escaramujo también redujo el índice de digestibilidad por su aporte de fibra.
- La extrusión incrementó la bioaccesibilidad de los carotenoides y fenoles totales. También propició una mayor actividad antioxidante después de la digestión.
- Por todo ello, la obtención de extrusionados de maíz enriquecidos con escaramujo con o sin proteína de guisante puede ser una alternativa para proporcionar a los consumidores snacks más saludables.

7. BIBLIOGRAFÍA

AGARWAL S, CHAUHAN ES, Extrusion processing: The effect on nutrients and based products. *The Pharma Innovation Journal*. 2019; 8(4):464-470.

AGUDELO, C., IGUAL, M. M., CAMACHO, M. M., & MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. (2017). Effect of process technology on the nutritional, functional, and physical quality of grapefruit powder. *Food Science and Technology International*, 23(1), 61–74. <https://doi.org/10.1177/1082013216658368>

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), 445–475. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.779568>

ANDERSON, R.A., 1969. Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. *Cereal Sci. Today*, 14, 4–12.

ANTON, A.A.; GARY FULCHER, R.; ARNTFIELD, S.D. Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded snacks with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour: Effects of bean addition and extrusion cooking. *Food Chem*. 2009, 113, 989–996.

AOAC Association of Official Analytical Chemist. 2000a. Volume I, Agricultural Chemicals, Contaminants, Drugs; Horwitz, W., Ed.; AOAC: Rockville, MD, USA.

AYERBE, A. G., & GARCÍA, E. T. (2010). El escaramujo: propiedades y uso terapéutico. *Medicina naturista*, Vol. 4 - N.º 1: 44-52.

AZZOLLINI, D., DEROSI, A., FOGLIANO, V., LAKEMON, C. M. M., & SEVERINI, C. (2018). Effects of formulation and process conditions on microstructure, texture and digestibility of extruded insect-riched snacks. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 45, 344-353.

BABAULT, N., PAÏZIS, C., DELEY, G., GUÉRIN-DEREMAU, L., SANIEZ, M. H., LEFRANCMILLOT, C., & ALLAERT, F. A. (2015). Pea proteins oral supplementation promotes muscle thickness gains during resistance training: a double-blind, randomized, Placebo-controlled clinical trial vs. Whey protein. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12970-014-0064-5>

BATISTA, A.P., NICCOLAI, A., FRADINHO, P., FRAGOSO, S., BURSIC, I., ...& RAYMUNDO, A. (2017). Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical, and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. *Algal Res*. 26:161–171.

BENZIE, I. F. F. & STRAIN, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299:15-27. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99005-5)

BORDOLOI R, GANGULY S. Extrusion technique in food processing and a review on its various technological parameters. *Indian Journal of Scientific Research and Technology*. 2014; 2:1-3.

CAI, Y. Z., & CORKE, H. (n.d.). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments [Article]. *Journal of Food Science*, 65(7), 1248–1252. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273>

CHENG, E. M., ALAVI, S., PEARSON, T., & AGBISIT, R. (2007). Mechanical–acoustic and sensory evaluations of cornstarch–whey protein isolate extrudates. *Journal of Texture Studies*, 38(4), 473-498.

CHOTON, S., GUPTA, N., BANDRAL, J. D., ANJUM, N., & CHOUDARY, A. (2020). Extrusion technology and its application in food processing: A review. *The Pharma Innovation Journal*, 9(2), 162-168. <https://doi.org/10.22271/tpi.2020.v9.i2d.4367>

DELLA VALLE, G., VERGNES, B., COLONNA, P., & PATRIA, A. (1997). Relations between rheological properties of molten starches and their expansion behaviour in extrusion. *Journal of Food Engineering*, 31(3), 277-295 [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(96\)00080-5](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(96)00080-5)

DESRUMAUX, A.; BOUVIER, J.M.; BURRI, J. Corn grits particle size and distribution effects on the characteristics of expanded extrudates. *J. Food Sci.* 1998, 63, 857–863.

DO CARMO, C. S., VARELA, P., POUUROUX, C., DESSEV, T., MYHRER, K., RIEDER, A., ... & 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.

DOĞAN, H., & KARWE, M. V. (2003). Physicochemical properties of quinoa extrudates. *Food Science and Technology International*, 9(2), 101-114.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E., CARVAJAL-LÉRIDA, I., & PÉREZ-GÁLVEZ, A. (2009). In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition research*, 29(11), 751-760.

GARCÍA-SEGOVIA, P.; IGUAL, M.; NOGUEROL, A.T., MARTÍNEZ-MONZÓ, J. Use of insects and pea powder as alternative protein and mineral sources in extruded snacks. *Eur. Food Res. Technol.* 2020, 246,703–712.

GEORGIEVA, S., ANGELOV, G., & BOYADZHIEVA, S. (2014). Concentration of vitamin C and antioxidant activity of rosehip extracts. *J Chem Technol Metal*, 49(5), 451-4.

HARASYM, J., SATTA, E., & KAIM, U. (2020). Ultrasound treatment of buckwheat grains impacts important functional properties of resulting flour. *Molecules*, 25(13), 3012

HESS, J. M., & SLAVIN, J. L. (2018). The benefits of defining "snacks". *Physiology & behavior*, 193(Pt B), 284–287. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.04.019>

HESS, J. M., JONNALAGADDA, S. S., & SLAVIN, J. L. (2016). What Is a Snack, Why Do We Snack, and How Can We Choose Better Snacks? A Review of the Definitions of Snacking, Motivations to Snack, Contributions to Dietary Intake, and Recommendations for Improvement. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 7(3), 466–475. <https://doi.org/10.3945/an.115.009571>

IGUAL, M., GARCÍA-SEGOVIA, P., & MARTÍNEZ-MONZÓ, J. (2020). Effect of Acheta domesticus (house cricket) addition on protein content, colour, texture, and extrusion parameters of extruded products. *Journal of Food Engineering*, 282, 110032

IGUAL, M., RAMIRES, S., MOSQUERA, L. H., & MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. (2014). Optimization of spray drying conditions for lulo (Solanum quitoense L.) pulp. *Powder Technology*, 256, 233–238. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.02.003>

IGUAL, M.; CHIȘ, M.S.; PĂUCEAN, A.; VODNAR, D.C.; RANGA, F.; MIHĂIESCU, T.; TÖRÖK, A.I.; FĂRCAȘ, A.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; GARCÍA-SEGOVIA, P. Effect on Nutritional and Functional Characteristics by Encapsulating *Rose canina* Powder in Enriched Corn Extrudates. *Foods* 2021, 10, 2401.

IGUAL, M.; CHIȘ, M.S.; PĂUCEAN, A.; VODNAR, D.C.; MUSTE, S.; MAN, S.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; GARCÍA-SEGOVIA, P. Valorization of Rose Hip (*Rosa canina*) Puree Co-Product in Enriched Corn Extrudates. *Foods* 2021, 10, 2787.

JIMÉNEZ, M.; ESCRIBANO-CEBRIÁN, J.; GARCÍA-CARMONA, F. (1998). Oxidation of the flavonol fisetin by polyphenol oxidase. *Biochim Biophys Acta*, 1425(3): 534-542. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(98\)00108-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(98)00108-1)

KARKLE, E.L.; KELLER, L.; DOGAN, H.; ALAVI, S. Matrix transformation in fiber-added extruded products: Impact of different hydration regimens on texture, microstructure, and digestibility. *J. Food Eng.* 2012, 108, 171–182.

KOLEVA, I.I.; BEEK, T.A., LINSSEN, J.P.H., GROOT, A. & EVSTATIEVA, L.N. (2002). Screening of plant extracts for antioxidant capacity: a comparative study on 3 testing methods. *Phytochemistry Analysis*, 13(1): 8-17. <https://doi.org/10.1002/pca.611>

KHOUZAM, R. B., POHL, P., & LOBINSKI, R. (2011). Bioaccessibility of essential elements from white cheese, bread, fruit and vegetables. *Talanta*, *86*, 425-428.

LARREA M, CHANG Y AND MARTÍNEZ BUSTOS F. (2005). Effect of some operational extrusion parameters on the constituents of orange pulp. *Food Chem* 89: 301–308. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.037>

LISIECKA, K., WÓJTOWICZ, A., BOUASLA, A., & KASPRZAK, K. (2021). Design of new gluten-free extruded rice snack products supplemented with fresh vegetable pulps: The effect on processing and functional properties. *Int. Agrophys*, *35*, 41-60. <https://doi.org/10.31545/intagr/132121>

LIU, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.*, *78*:517S–520S <https://doi.org/10.1093/ajcn/78.3.517S>

MINEKUS, M., ALMINGER, M., ALVITO, P., BALLANCE, S., BOHN, T. O. R. S. T. E. N., BOURLIEU, C., ... & BRODKORB, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & function*, *5*(6), 1113-1124. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>

ORNELAS-PAZ, J. DE J., FAILLA, M.L., YAHIA, E.M., GARDEA, A. (2008). Impact of the Stage of Ripening and Dietary Fat on in Vitro Bioaccessibility of β -Carotene in 'Ataulfo' Mango. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(4): 1511-1516.

ÖZKAN, G., SAGDIÇ, O., BAYDAR, N. G., & BAYDAR, H. A. S. A. N. (2004). Note: Antioxidant and antibacterial activities of *Rosa damascena* flower extracts. *Food science and technology international*, *10*(4), 277-281

PASQUALONE, A.; COSTANTINI, M.; COLDEA, T.E.; SUMMO, C. Use of Legumes in Extrusion Cooking: A Review. *Foods*, 2020, *9*, 1–17.

PATIL, R.T.; DE BERRIOS, J.J.; TANG, J.; PAN, J.; SWANSON, B. Physical characteristics of food extrudates—A review. In Proceedings of the ASAE (American Society of Agricultural Engineers) Annual International Meeting, Tampa, FL, USA, 17–20 July 2005.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; HAKKINEN, S.; AARNI, M.; SUORTTI, T.; LAMPI, A.; EUROLA, M.; PIIRONEN, V.; NUUTILA, A.; OKSMAN-CALDENTEY. (2003). Blanching and longterm freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *Journal of Science of Food and Agriculture*, *83*: 1389-1402. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1589>

ROBERTSON, J.A.; DE MONREDON, F.D.; DYSELER, P.; GUILLON, F.; AMADÒ, R.; THIBAUT, J.F. Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: A European collaborative study. *LWT Food Sci. Technol.* 2000, *33*, 72–79.

SCHLINKERT, C., GILLEBAART, M., BENJAMINS, J., POELMAN, M., & DE RIDDER, D. (2020). The snack that has it all: People's associations with ideal snacks. *Appetite*, 152, 104722. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2020.104722>

SELVENDRAN, R. R. & RYDEN, P. (1990). Methods in plant biochemistry Vol. 2. *Academic Press. London*. 549.

SINGH, N.; SMITH, A.C. A comparison of wheat starch, whole wheat meal, and oat flour in the extrusion cooking process. *J. Food Eng.* 1997, 34, 15–32.

SMITH, R.C., REEVES, J.C., DAGE, R.C. & SCHNETTLER, R.A. (1987). Antioxidant properties of 2-imidazolones. *Biochem. Pharmacology*, 36(9):1457-1460.

SYRIO. (s.f.). A dog rose photographed at Biotopo Lago Pudro. Own work, perigine valsugana.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A., GIL, M. I., CREMIN, P., WATERHOUSE, A. L., HESS-PIERCE, B., & KADER, A. A. (2001). HPLC - DAD - ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4748-4760

URIBE-WANDURRAGA, Z. N., IGUAL, M., GARCÍA-SEGOVIA, P., & MARTÍNEZ-MONZÓ, J. (2020). Influence of microalgae addition in formulation on colour, texture, and extrusion parameters of corn snacks. *Food Science and Technology International*, 26(8), 685-695.

ZACHARY, Z., BRIANNA, F., BRIANNA, L., GARRETT, P., JADE, W., ALYSSA, D., & MIKAYLA, K. (2020). Self-quarantine and weight gain related risk factors during the COVID-19 pandemic. *Obesity research & clinical practice*, 14(3), 210-216.

ZHA, F., GAO, K., RAO, J., & CHEN, B. (2021). Maillard-driven chemistry to tune the functionality of pea protein: Structure characterization, site-specificity, and aromatic profile. *Trends in Food Science & Technology*.

ZHENG YU, J., & AUGUSTINE 1, A. (2002). Effect of extrusion cooking on the properties and acceptability of bread-crumbl-like coating products. *International Journal of Food Properties*, 5(3), 573-584.