



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE

Facultad de Ciencias y Tecnología de los Alimentos



Caracterización de harinas a base de piñón de *Araucaria Araucana*, evaluación del índice glucémico y prolaminas inmunoreactivas para su posible uso en dietas especiales. Formulación de un producto artesanal y evaluación de su aceptabilidad

Lucas RODRÍGUEZ

Tecnicatura en Control e Higiene de los Alimentos

Tutor: Bioq. Miguel MARTÍNEZ

Colaborador: Lic. Beatriz PIRONE; Téc. Susana DIEZ

Año: 2018

RESUMEN

Las enfermedades crónicas no transmisibles (enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, etc.) afectan a más de la mitad de la población mundial y están relacionadas con un importante porcentaje de mortalidad en Argentina. Estas enfermedades pueden prevenirse, en gran parte, con buenos hábitos alimentarios, vida activa y control del tabaquismo. Teniendo en cuenta esto, se pensó en la posibilidad de que el piñón de *Araucaria araucana* sea útil como materia prima para elaborar productos que puedan ser incluidos en dietas especiales, tanto para diabéticos como para celíacos.

En este trabajo, a partir de las semillas de piñón peladas en caliente se obtuvieron dos tipos de harinas: por molido sin cocción previa (piñón crudo; PCR) y por molido con cocción previa (agua a 100°C-1h) (piñón cocido; PCO), ambas secadas en estufa (55°C-24h). Las dos harinas presentaron un alto contenido de almidones resistentes a la hidrólisis “*in vitro*” (más del 70%). Sin embargo, la prueba “*in vivo*” del piñón PCO lo clasifica como un alimento de alto índice glucémico (mayor a 70). En cuanto al total de proteínas del piñón (7,5%), un 16,3% corresponden a prolaminas, las cuales no presentaron reactividad inmunológica. A partir de las harinas obtenidas, se elaboraron galletitas con 4 formulaciones distintas, que se evaluaron analizando los atributos de color, aroma, sabor y textura, aplicando un Test de ranking por preferencia. La formulación mayormente elegida fue el de las galletitas de harina PCR endulzado con azúcar y miel, presentando un buen balance entre sabor, color y textura.

Por lo expuesto anteriormente, la harina de piñón resultó ser un alimento de alto índice glucémico, ya que la digestibilidad ácida y enzimática “*in vivo*” de los almidones resistentes es más eficaz que en el proceso “*in vitro*”, por lo que no sería apto para diabéticos. Sin embargo, las prolaminas que contiene resultaron ser inmunológicamente inactivas haciendo que sea útil en dietas para celíacos. Por último, las galletitas de harina PCR con azúcar y miel fueron las más aceptadas ya que, presentaron un mayor aporte nutricional con buen equilibrio entre los sabores ácido y dulce y con una agradable sensación de “arenosidad”.

Palabras claves: *Araucaria Araucana*, piñón, harinas, almidones resistentes, índice glucémico, prolaminas, galletitas.



ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	5
1. Piñón.....	5
1.1. Características descriptivas	5
1.2. Generalidades	6
1.3. Formas de usos en la alimentación regional.....	7
2. Enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT).....	7
2.1. Definición y características generales	7
2.2. Diabetes (diabetes mellitus)	8
2.2.1. Descripción y definición.....	8
2.2.2. Diagnóstico	9
2.2.3. Prevención	9
2.2.4. Hidratos de carbono.....	10
2.2.4.1. Definición	10
2.2.4.2. Clasificación	11
2.2.5. Respuesta glucémica e índice glucémico	12
2.3. Celiaquía.....	14
2.3.1. Descripción y definición.....	14
2.3.2. Patogenia de la enfermedad	15
2.3.3. Diagnóstico y síntomas.....	17
3. Dietas especiales.....	18
3.1. Características de la dieta para diabéticos	19
3.1.1. Recomendaciones	20
3.2. Características de la dieta para celíacos	21
3.3. Nuevas formulaciones	24
3.3.1. Formulaciones para diabéticos	24
3.3.1.1. Almidones resistentes	25
3.3.2. Formulaciones para celíacos.....	26
3.3.2.1. Proteínas y enzimas	27
3.3.2.2. Fibra dietética	28



II. OBJETIVOS	29
1. Objetivo general	29
2. Objetivos particulares	29
III. PLAN DE TRABAJO	30
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	31
1. Materiales	31
1.1. Materia prima	31
1.1.1. Harina de piñón crudo	32
1.1.2. Harina de piñón cocido	32
2. Métodos	32
2.1. Caracterización de las harinas	32
2.1.1. Humedad	32
2.1.2. Cenizas totales	32
2.1.3. pH	33
2.1.4. Acidez titulable	33
2.2. Hidratos de carbono	33
2.2.1. Determinación de azúcares	33
2.2.1.1. Método de Fehling-Causse-Bonnans	33
2.2.1.2. Glicemia enzimática AA (Wiener lab)	34
2.2.2. Almidones	34
2.2.2.1. Hidrólisis ácida	34
2.2.2.2. Hidrólisis enzimática	35
2.2.2.3. Digestibilidad del almidón	35
2.3. Evaluación de los gránulos de almidón mediante microscopía óptica	36
2.4. Proteínas	36
2.4.1. Determinación de proteínas totales	36
2.4.2. Fraccionamiento proteico	36
2.4.2.1. Separación por solubilidad	36
2.4.2.2. Electroforesis	37
2.4.3. Prolaminas inmunoreactivas	37
2.5. Elaboración de galletitas a base de piñón	37
2.6. Análisis sensorial	39
2.6.1. Metodología utilizada	39

I. INTRODUCCIÓN

1. Piñón

1.1. Características descriptivas

El artículo 921 del Código Alimentario Argentino, define al piñón como las semillas peladas y limpias del fruto o piña madura del pino piñonero *Pinus pinea* L. y de otras especies como el pehuén *Pinus araucano* Mob., *Araucaria angustifolia* y *Araucaria araucana* (C.A.A., cap. XI).

Específicamente, la araucaria o pehuén (*Araucaria araucana*), también llamada piñonero, pino araucaria o pino de brazos (Taha y col., 2010) (Fig. 1) es una conífera de gran tamaño, que puede superar los 45 m de altura y llegar a los 2 m de diámetro en su base. Posee una copa ancha de forma piramidal, fuste grueso, cilíndrico y recto, con ramas verticiladas horizontales o ligeramente arqueadas. La corteza (Fig. 2) es de color gris oscuro, de 10 a 14 cm de espesor, agrietada profundamente en forma de placas hexagonales de tamaño irregular. Las hojas (Fig. 3) son simples, alternas, ovaladas o lanceoladas con base ancha y ápice agudo y de color verde oscuro. Estas cubren totalmente el tallo (Salazar y col., 2000).

El piñón (Fig. 4) tiene forma oblonga y cuneiforme, con un tamaño de entre 3,5 y 4,5 cm de longitud; 1,2 y 2,0 cm de diámetro. El color de su cubierta exterior es de color rojizo y el núcleo tiene una capa muy resistente denominada "testa" y una membrana interna delgada llamada "endopleura". En el interior se localiza el endospermo blanco y en medio de él, el embrión policotiledón (Henríquez y col., 2008).



Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

Fuentes:

- http://museo.florachilena.cl/Niv_tax/Gimnospermas/Araucariaceae/Araucaria/Araucaria_araucana.htm
(Fig 1, 2 y 3)

- Taha y col., 2010 (Fig 4)

1.2. Generalidades

La conservación de la araucaria es un tema de gran preocupación debido a su restringida distribución, lento crecimiento y escasa capacidad de regeneración, lo que la hace susceptible al impacto del hombre. A la vez, es importante por su alto valor económico y cultural para el pueblo mapuche, antiguos habitantes de Chile y Argentina meridionales (Vicenti y col., 2004).

Se trata de un árbol endémico del extremo norte de los bosques Subantárticos de Chile y Argentina. Su distribución se extiende actualmente desde los 37° 20' hasta los 40° 20' latitud S, sobre la Cordillera de los Andes. Se encuentra principalmente en el Parque Nacional Lanín del lado argentino de la cordillera, entre el volcán Copahue y el lago Huechulafquen; y desde Ñube hasta el volcán Villarica, del lado chileno (Conforti, 2009). En estado natural, crece en suelos rocosos y arenosos con buen drenaje, arcillosos o volcánicos, en alturas donde la nieve permanece sobre el suelo durante largas temporadas y en lugares de bajas temperaturas (Salazar y col., 2000).

La especie alcanza la madurez reproductiva recién a los 20 o 30 años, en las mejores condiciones ambientales y ecológicas, pero normalmente lo hace entre los 40 y 60 años, cuando llega a los 6 m de altura. En sitios secos y/o con suelos pobres, puede retrasarse hasta los 70 años, cuando logran los 2 a 3 m de altura. Los ejemplares alcanzan su máxima altura, 35 m para el caso de ejemplares en Argentina y 50 m en Chile, a los 250 años y presentan una longevidad máxima aproximada de

1.300 años (registrada en Chile) (Taha y col., 2010). Según lo descrito por Conforti (2009), en promedio viven entre 200 y 700 años.

Actualmente está protegido, en Chile, por los Parques Nacionales Conguillío, Tolhuaca, Laguna del Laja, Huerquehue, Villarrica, Nahuelbuta y por el pueblo de Collipulli y; en Argentina, por el Parque Nacional Lanín (Taha y col., 2010) y las áreas naturales protegidas Batea Mahuida, Boca del Chimehuin, Chañy y Copahue, todos ellos en Neuquén (Chébez, 2005).

1.3. Formas de usos en la alimentación regional

Como parte de la dieta, la semilla del piñón es útil para la preparación de distintas comidas y bebidas por ser muy nutritivo, ya que tiene proteínas (7,3 a 10,6%) (Conforti, 2009; Aranciaga, 2012) y un alto contenido de almidón (65 a 87%) (Pirone, 2014). Dicha semilla se debe pelar en crudo o previamente hervida ya que la parte comestible se encuentra rodeada por la “cáscara” y se puede tostar, antes de ser consumida. Cuando están cocidas o hervidas se muelen para hacer harina de piñón, con la que se pueden hacer sopas, masas o relleno de empanadas, mezclado con condimentos y cebolla; el *kofkekura* (pan hecho en base a harina de piñones y amasado sobre una piedra); masa para alfajores; o directamente se pueden consumir como fruto seco, asados o hervidos con un poco de sal. Otra forma de consumirlo es el *catuto* (milanesa de piñón), son piñones tostados con un poco de aceite y luego freídos. Entre las bebidas a base de piñón se pueden diferenciar el licor de piñones (agua donde se hierven los piñones) y el *muday* ó *chafi* (chicha o bebida fermentada a base de piñón molido con un poco de agua) (Correa, 2014).

2. Enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT)

2.1. Definición y características generales

La Organización Mundial de la Salud (OMS) las define como aquellas enfermedades no contagiosas de persona a persona, que son de larga duración y generalmente, evolucionan de forma lenta. Hay cuatro tipos principales de ECNT: las enfermedades cardiovasculares (ej.: ataques cardíacos, accidentes cerebrovasculares),

las enfermedades respiratorias crónicas (ej.: enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma), el cáncer y la diabetes (www.who.int).

Estas enfermedades se ven favorecidas por múltiples “factores de riesgo”, que se definen como circunstancias detectables en los individuos, los grupos o el ambiente, que aumentan la probabilidad de padecer un daño a la salud o de producir una evolución más desfavorable de dicho daño. Estos factores pueden ser propios de la condición biológica de cada persona (edad, sexo, etc.), originados en las condiciones de vida (estado económico, vivienda, ocupación, etc.), en los comportamientos individuales (hábitos alimentarios, tabaquismo, alcoholismo, inactividad física, etc.), determinados por el ambiente físico natural o construido por el hombre y otros elementos socioculturales, como por ejemplo, el propio sistema de atención de salud (accesibilidad, calidad) (Barragán y col., 2007).

Según Barragán y col., 2007 y una nota descriptiva publicada en enero del 2015 por la página oficial de internet de la OMS, coinciden en que los factores que presentan mayores riesgos son: el tabaquismo, el alcoholismo, la ausencia o escasa actividad física y las dietas no saludables. El mencionado libro también presenta otros factores principales como la hipertensión arterial, la hipercolesterolemia, el sobrepeso/obesidad, etc.

Hay pruebas científicas sólidas de que una alimentación saludable y una actividad física suficiente son elementos claves en la prevención de las ECNT y sus factores de riesgo (Barrios y col., 2015).

2.2. Diabetes (diabetes mellitus)

2.2.1. Descripción y definición

La glucosa es un monosacárido que proviene de la digestión de los alimentos consumidos, que circula por la sangre y es utilizada por el organismo como fuente de energía. Este monosacárido es regulado por una hormona denominada insulina, producida por el páncreas, que funciona como una “llave” que facilita el pasaje de la glucosa desde la sangre a los órganos y tejidos (www.msal.gob.ar).

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas produce escasa cantidad de insulina o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina

Ramírez y col., 2009; Hernández - Romieu y col., 2011), promoviendo el consumo de alimentos adecuados (Wu y col., 2015) con el fin de mantener una glucemia óptima y evitar complicaciones crónicas (Reyes y col., 2009). Para ello, se recomienda consumir de 3 a 5 raciones diarias de frutas y hortalizas, ya que las mismas contienen polisacáridos complejos (celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas, etc.) que no son digeribles, haciendo más lenta la absorción de la glucosa a través del intestino delgado y ocasionando una elevación menor del nivel en sangre de la misma (www.fao.org; Pibernat Tornabell y col., 2002); este último hecho también se ve favorecido al disminuir el consumo de alimentos y bebidas ricos en azúcares de absorción rápida como dulces, jaleas, postres, gaseosas, confituras, etc. (Anesto, 2002; Nettleton y col., 2008).

Otras recomendaciones se enfocan en minimizar la posibilidad de padecer enfermedades crónicas que aumentan el riesgo de padecer diabetes, como el sobrepeso/obesidad y la hipertensión arterial (www.msal.gob.ar; OMS, 2004; Barragán y col., 2007; Jenkins y col., 2008; Reyes Ramírez y col., 2009). Éstas últimas, se previenen reduciendo los alimentos con alto contenido en grasas saturadas que promueven la síntesis de tejido adiposo (Anesto, 2002; Pibernat Tornabell y col., 2002; Wu y col., 2015) y; cocinar sin o con poco agregado de sal y evitar los alimentos con alto contenido en sodio (fiambres, embutidos, quesos, etc.) (Ferrante y col., 2011; OMS, 2014).

2.2.4. Hidratos de carbono

2.2.4.1. Definición

En sus orígenes, el término hidratos de carbono o carbohidratos se refería a compuestos únicamente a base de átomos de carbono con igual número de moléculas de agua; es decir, se representaban con una fórmula condensada genérica de $C_x(H_2O)_x$. Sin embargo, actualmente se aplica a una familia de sustancias que, además de carbono, hidrógeno y oxígeno, contienen elementos como azufre, fósforo y nitrógeno.

Su estructura es de polihidroxialdehído o de polihidroxiketona, es decir, contienen gran cantidad de grupos hidroxilos (Badui Dergal, 2012); son los

compuestos más abundantes en la naturaleza y también los que más consume el ser humano, ya que es la fuente principal de energía en la mayoría de Asia, África y Latinoamérica donde constituyen alrededor del 80% de su dieta. Por el contrario, los carbohidratos representan el 45% al 50% de la dieta en muchas personas en países industrializados (www.fao.org).

2.2.4.2. Clasificación

Los hidratos de carbono, según el grado de polimerización (GP) de la molécula, se clasifican en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Así, el GP para los monosacáridos es de 1, para los disacáridos es de 2, para los oligosacáridos oscila entre 3 y 10, mientras que los polisacáridos presentan un GP superior a 10 (Berruezo y col., 2002).

Los monosacáridos son los hidratos de carbono más sencillos y por lo cual no pueden ser hidrolizados a formas más simples; los más comunes provienen de la familia del D-gliceraldehído que por adición de grupos hidroximetilos (-CHOH) integran las tetrosas (4 carbonos), pentosas (5 carbonos) y hexosas (6 carbonos). Además de los monosacáridos que contienen un grupo aldehído o formilo (-CHO), existen los que llevan un grupo cetona o carbonilo (-C=O). En ambos casos, el grupo cetona o aldehído los convierte en azúcares reductores.

Estos azúcares, se caracterizan por ser solubles en agua e insolubles en etanol y algunos son dulces pero otros amargos; se encuentran poco en estado libre y en mayor proporción como oligosacáridos o polisacáridos. Además, al no ser hidrolizables, pueden pasar a través de la pared del tracto intestinal sin ser modificados por las enzimas digestivas por lo que son considerados azúcares de absorción rápida. Los tres más comunes son: glucosa, fructosa y galactosa (Badui Dergal, 2012).

Los disacáridos, hidratos de carbono formado por la unión de dos monosacáridos, deben ser hidrolizados en sus monómeros antes de que puedan ser absorbidos por el sistema digestivo. Ejemplos de disacáridos son la sacarosa, la lactosa y la maltosa. La sacarosa (glucosa y fructosa) es el nombre científico para el azúcar de mesa, que se obtiene de la caña de azúcar y la remolacha azucarera. La lactosa (glucosa y galactosa) se encuentra naturalmente en la leche humana y animal.



La maltosa (dos moléculas de glucosa) se encuentra en las semillas germinadas (proveniente de la hidrólisis del propio almidón) (www.fao.org).

Los oligosacáridos son el resultado de la condensación de 3 a 10 monosacáridos mediante un enlace glucosídico; los más importantes son algunos tri y tetrasacáridos. Dentro de esta categoría también se pueden incluir los disacáridos. Ejemplos son la rafinosa (unión de glucosa, fructosa y galactosa), la estaquiosa (unión de glucosa, fructosa y 2 de galactosa) y la verbascosa (unión de glucosa, fructosa y 3 de galactosa); se encuentran en cantidades pequeñas en legumbres y cereales.

Los polisacáridos están compuestos por la unión de más de 10 unidades de monosacáridos. En estado puro no tienen color ni sabor y no forman verdaderas soluciones en agua, sino más bien dispersiones de tamaño coloidal. Pueden estar formados por un solo tipo de monosacárido (homopolisacáridos) o por varios tipos de monosacáridos (heteropolisacáridos) (Badui Dergal, 2012) y; también se pueden clasificar por su digestibilidad para los humanos en digeribles (almidón, dextrinas y glucógeno), parcialmente digeribles (inulina, rafinosa, pentosanos, etc.) e indigeribles. Éstos últimos, reciben el nombre de fibra dietética o alimentaria, que se define como aquellas partes de las plantas o sus extractos y a los carbohidratos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano, con fermentación parcial o total en el intestino grueso (Olivares y Zacarías, 2013). A la vez, diversos autores (Gómez Candela y Cos Blanco, 2001; Sastre Gallego, 2003; Chamorro y Elmer, 2010; Falcón y col., 2011) dividen a la fibra dietética en soluble e insoluble. La fibra soluble (Ej.: pectinas, gomas, mucílagos, algunas hemicelulosas) se caracteriza por formar dispersiones en agua que generan geles de alta viscosidad con un alto grado de fermentación por parte de las bacterias del colon y; la fibra insoluble (celulosa, algunas hemicelulosas y lignina) no se dispersa en agua (poca viscosidad) y es escasamente fermentada en el colon.

2.2.5. Respuesta glucémica e índice glucémico

Cuando se consume un alimento con carbohidratos, se da un correspondiente aumento y un posterior descenso con respecto al nivel de glucosa en sangre (glucemia) en ayuno, lo cual se conoce como respuesta glucémica. Esto refleja la velocidad de la digestión y absorción de la glucosa, así como de los efectos de la

acción de la insulina, que normaliza la glucemia. Hay varios factores que influyen en la intensidad y la duración de la respuesta glucémica:

El alimento en particular:

- El tipo de azúcares por el que esté formado el carbohidrato; por ejemplo, la fructosa, la sacarosa y los polioles inducen una respuesta glucémica inferior a la inducida por la glucosa y la maltosa.
- La naturaleza y la forma del almidón, ya que algunos son más fáciles de digerir que otros.
- Los métodos utilizados para procesar y cocinar el alimento.
- Otros nutrientes presentes en el alimento (o comida), como la grasa, la proteína y la fibra.

La persona:

- El grado de masticación (descomposición mecánica de los alimentos).
- La velocidad de digestión (dicho tiempo se ve influenciado, en parte, por el tipo de alimento).
- Su metabolismo.
- La hora del día en la que ha ingerido el carbohidrato (www.eufic.org).

La influencia ejercida sobre la respuesta glucémica, causada por los diversos tipos de alimentos (con carbohidratos), se mide mediante el índice glucémico (IG). Éste último, se calcula comparando el incremento de la glucemia inducido por un alimento aislado, en condiciones isoglucídicas (50 g de hidratos de carbono), con el inducido por un alimento de referencia (usándose una solución de glucosa pura o el pan blanco). La comparación del área bajo la curva del alimento estudiado con el del alimento elegido como referencia, ambas a las dos horas de producida la ingesta, define el IG (Arteaga Llona, 2006; www.glycemicindex.com).

A la respuesta generada por el alimento utilizado como referencia, se le da el valor de 100 y todos los alimentos se comparan con este valor, usando como expresión el valor porcentual. Los valores del IG se agrupan en tres categorías: IG alto ≥ 70 , IG intermedio 56-69, IG bajo de 0-55 (Arteaga Llona, 2006; Torres y Torres y col., 2006).

Los alimentos con IG alto inducen una respuesta glucémica superior (se digieren y absorben más rápido) a la de los alimentos con IG bajo (se digieren y absorben más lento) (www.glycemicindex.com).

Tabla 1. Índice glucémico de algunos alimentos
(utilizando la glucosa como patrón estándar)

Alimentos con IG muy bajo (≤ 40)

Manzanas crudas

Lentejas

Leche de vaca

Fructosa

Alimentos con IG bajo (41 – 55)

Fideos y pastas

Yogur (con frutas)

Plátano crudo

Lactosa

Alimentos con IG intermedio (56 – 70)

Arroz integral

Ananá

Miel

Sacarosa (azúcar de mesa)

Alimentos con IG alto (> 70)

Pan (blanco o integral)

Papas fritas

Puré de papas

Arroz blanco, tortas de arroz

Glucosa, Maltosa

Fuente: www.eufic.org

2.3. Celiacuía

2.3.1. Descripción y definición

La mucosa intestinal es la capa interna que recubre la luz del intestino, cuya función principal es absorber los nutrientes contenidos en los alimentos, una vez que han sido convenientemente digeridos por las enzimas digestivas. Para incrementar la capacidad de absorción, el intestino dispone de una serie de adaptaciones que aumentan su superficie. En primer lugar, la longitud del mismo es muy grande, disponiéndose dentro de la cavidad abdominal como un tubo que se pliega en múltiples asas; además la mucosa tiene múltiples repliegues, cada uno de ellos tiene a su vez varias vellosidades y finalmente estas vellosidades están limitadas por las células absorbentes que aumentan su capacidad de absorción por unas microvellosidades.

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía crónica de origen autoinmune producida por una intolerancia permanente al gluten (que contiene prolaminas tóxicas) que se desarrolla en individuos genéticamente predispuestos, provocando una lesión severa en la mucosa del intestino y desaparece al adoptar una dieta libre de gluten (Casellas y col., 2006). Éste último, es un conjunto de proteínas que se hallan presentes en un grupo de cereales, principalmente en el trigo pero también en el centeno, la cebada y la avena, pero no en el maíz o el arroz (ver en 3.2.). La celiaquía no es solo una enfermedad del tubo digestivo, sino que también puede afectar a otros órganos (es sistémica), presentando síntomas muy diversos con diferentes procesos patológicos asociados (Rodríguez Sáez, 2010).

La etiología de la EC es el resultado de la interacción entre el gluten y factores inmunológicos, genéticos y ambientales (Romero, 2013; Moscoso y Quera, 2015). Es decir, que dicha combinación conlleva a que la ingesta de gluten por parte del enfermo celíaco genere una lesión progresiva a las vellosidades y microvellosidades en la mucosa intestinal, cuya consecuencia más importante es la disminución de la absorción de nutrientes (Márquez y col., 2001).

2.3.2. Patogenia de la enfermedad

Como se definió en 2.5.1., la EC es una respuesta inmune a las proteínas del gluten (que se encuentra en el trigo, avena, cebada, centeno y sus derivados) que ocurre en personas genéticamente vulnerables. Las gliadinas (prolaminas) que posee el gluten son ricas en los aminoácidos (AA) glutamina y prolina, que son fragmentos nocivos para el intestino celíaco (Arranz y Garrote, 2009). Las personas celíacas digieren pobremente la gliadina en el tracto gastrointestinal, resistiendo la acidez gástrica, las enzimas pancreáticas y las proteasas en el intestino (Moscoso y Quera, 2015). Es decir, que se descompone en diferentes péptidos que no se pueden digerir y logran pasar a través de la mucosa intestinal de un lado al otro, causando una reacción por parte del sistema inmune. Se han identificado dos tipos de péptidos: *inmunogénicos*, que estimulan los linfocitos T del intestino de los pacientes celíacos y; *tóxicos* de acción directa sobre el epitelio, que son independientes de los linfocitos T (Arranz y Garrote, 2009; Rodríguez Saéz, 2010).

Los péptidos de gluten pueden atravesar el intestino de dos maneras, ya sea a través de las células (transcelular) o entre las células (paracelular). Para el primer caso, en la mucosa del intestino existe un anticuerpo llamado inmunoglobulina A secretora (SIgA). Esta es una primera línea de defensa que mantiene las toxinas y agentes patógenos fuera de las células intestinales. La SIgA también puede transportar los patógenos hacia áreas especiales donde pueden ser desactivados por las células inmunes. Cuando hay inflamación, aumenta la cantidad de SIgA en el intestino (como sucede con la EC) porque debe eliminar o reducir los agentes indeseables que están causando la inflamación.

En la celiacía ocurre algo que no debería suceder: se transporta la gliadina a través del intestino hacia la sangre sin ser bloqueado por las SIgA. Ello se debe, a que en los celíacos existe una puerta que está disponible para que la IgA entre con la gliadina (complejo) ya que; estos pacientes tiene deficiencia de hierro (anemia) porque su intestino está inflamado y no absorbe dicho mineral correctamente. Con el fin de tratar de absorber más hierro, las células intestinales envían unidades de transporte de hierro hasta la superficie de la célula intestinal. Por alguna razón, este receptor se conecta con el complejo gliadina-SIgA y atraviesan el intestino hacia la sangre. Una vez que atraviesan, la SIgA libera la gliadina. Dentro del torrente sanguíneo, el sistema de defensa ve a la gliadina como un cuerpo extraño, por lo que se activa el sistema inmune y se desata una inflamación.

El conjunto de las células intestinales necesitan estar unidas fuertemente entre sí, para evitar que cualquier alimento no digerido o ciertos patógenos pasen a través de esta barrera. Cada célula se une a su vecina con un complejo de proteínas que permite que pasen fluidos, pero no las moléculas grandes. Las células intestinales son capaces de liberar una sustancia química llamada zonulina, que hace que el complejo proteico que las une se separe. La liberación de zonulina se desencadena por la presencia de patógenos, permitiéndoles a estos llegar a donde se hallan las células del sistema inmunitario y ser combatidos. De esto se trata la forma de la vía paracelular.

En la EC, las gliadinas interactúan con las células intestinales y estas últimas, envían la señal para segregar zonulina abriéndose una vía entre las células. Por este espacio abierto, los péptidos de gliadina pueden pasar por la barrera celular intestinal y hacer su camino hacia abajo en la zona donde se hallan las células defensoras, desarrollándose una inflamación.

Otro hecho que sucede en los celíacos, es que cuando la gliadina atraviesa la pared intestinal, entra en contacto con una enzima llamada transglutaminasa 2 (TG2) que tiene la capacidad de modificar ciertas proteínas. La gliadina se asemeja a una de las proteínas que la TG2 debe cambiar. Así que esta enzima, convierte la estructura de la gliadina (por transamidación o deamidación) para que posea el tamaño justo y quepa en un espacio pequeño en las células presentadoras de antígenos (CPA).

Cuando existe una infección, normalmente, una CPA toma una sección de la proteína (un péptido) de un agente intruso, lo mantiene en un pequeño compartimiento y lo presenta a las células de combate. Éstas últimas, crean anticuerpos que se difunden por todo el cuerpo y eliminan a esa proteína específica del agente invasor. Una vez que los invasores se liquidan, los anticuerpos desaparecen; sin embargo, las células de combate latentes pueden “recordar” esta proteína por si entra nuevamente, la reconoce y pueden reproducir anticuerpos en abundancia para ir a combatir de forma rápida y efectiva.

Las personas con EC tienen un tipo particular de CPA específica a su genotipo, y la gliadina alterada por la TG2 encaja perfectamente en el pequeño compartimiento para ser presentada. El genotipo es el antígeno leucocitario humano HLA-DQ2 (se encuentra en el 95% de los pacientes) y el HLA-DQ8 (aproximadamente en el 5% restante) (Bai y col., 2011). Así que, cuando la TG2 cambia la gliadina de una manera específica, la CPA lo recoge y la expone ante las células inmunitarias; éstas la identifican como si se tratara de un patógeno invasor y produce numerosos anticuerpos para tratar de eliminarla (www.nutriwhitedietas.com).

2.3.3. Diagnóstico y síntomas

Los métodos para detectar la cantidad de casos de enfermedad celíaca (EC) han cambiado a través de los años. Las primeras investigaciones daban sólo una parte de la incidencia de EC debido a que el diagnóstico se basaba enteramente en la detección de síntomas gastroenterológicos típicos y en la confirmación a través de una biopsia de intestino delgado. La aparición de herramientas serológicas mucho más sensibles y específicas, evidenciaron una frecuencia insospechada de formas clínicamente atípicas o aún silenciosas de EC (Catassi, 2005). Entre los métodos que se utilizan para diagnosticar esta enfermedad, se pueden encontrar las endoscopías, las biopsias duodenales, la cápsula endoscópica y los marcadores serológicos

(anticuerpos anti gliadina, anticuerpos anti endomisio, anticuerpos antitransglutaminasa tisular humana y antígeno leucocitario humano HLA-DQ2/DQ8).

La EC es un proceso muy “camaleónico” ya que varía grandemente en sus diversas formas de presentación y muestran diferentes tipos de manifestaciones, desde casos completamente asintomáticos, pasando por otros que llegan a presentar un cuadro de desnutrición. Los síntomas más frecuentes son el dolor abdominal, generalmente de tipo cólico, acompañado de hinchazón fluctuante, malas digestiones, síntomas de reflujo gastroesofágico (pirosis o “acidez”, regurgitación, etc.), así como alteraciones intestinales que oscilan desde la diarrea hasta el estreñimiento, o bien, con alternancia de ambos. Junto con ellos es frecuente que se presenten otros síntomas como anemia, debilidad o fatiga, trastornos del sueño, pérdida de peso, entre otros (Rodríguez Saéz, 2010).

3. Dietas especiales

Las dietas especiales o terapéuticas, son aquellas en las que se altera la composición en nutrientes o en energía durante una situación patológica, es decir, se modifica la alimentación cuando existe una enfermedad (Nutrición y dietética clínica, 2008). También incluyen los “alimentos dietéticos” o “alimentos para regímenes especiales”, que el C.A.A. define como aquellos que son envasados y preparados especialmente diferenciándose de los alimentos corrientes por su composición y/o por sus modificaciones físicas, químicas, biológicas o de otra índole resultantes de su proceso de fabricación o de la adición, sustracción o sustitución de determinadas sustancias componentes; los cuales están destinados a satisfacer necesidades particulares de nutrición y alimentación de determinados grupos poblacionales (Cap. XVII, art. 1339).

Uno de los aspectos más importantes para el manejo de enfermedades como la diabetes y la celiaquía es el tratamiento nutricional (o dieta especial).

3.1. Características de la dieta para diabéticos

Según Pibernat Tornabell y col. (2002), los hidratos de carbono de mayor importancia a tener en cuenta son los azúcares simples, almidones y fibra. Estudios con pacientes sanos y algunos con riesgo de diabetes muestran la importancia de incluir alimentos ricos en hidratos de carbono, sobre todo cereales integrales, frutas, verduras y lácteos descremados en la dieta de personas con diabetes.

Hay muchos factores que influyen en la respuesta insulínica y que modifican la respuesta glucémica de los alimentos (ver en 2.2.5.).

Estudios realizados en diabéticos tipo 1, muestran una fuerte relación entre la dosis de insulina administrada antes de las comidas y la respuesta post-prandial con la cantidad total de hidratos de carbono de la comida, por lo que se debe ajustar la dosis de insulina según la cantidad de hidratos de carbono ingerida. En individuos que reciben cantidades fijas de insulina es importante la coherencia en la cantidad de hidratos de carbono ingeridos día a día.

En personas con diabetes tipo 2, que mantienen el peso con dieta, sustituir los hidratos de carbono por ácidos grasos monoinsaturados reduce la glucemia post-prandial y la trigliceridemia. Pero este incremento de grasa en la dieta puede provocar un aumento de peso, por eso la dieta debe ser individualizada según objetivos dietéticos y perfil metabólico.

Se ha propuesto que los alimentos que contienen almidones resistentes de manera natural o modificada pueden variar la respuesta post-prandial, prevenir la hipoglucemia, reducir la hiperglucemia y explicar diferencias entre los índices de glucemia de algunos alimentos (Villagra, 2010; Torres-Zapata y col., 2011).

Para la población en general y para pacientes con diabetes, se aconseja escoger alimentos ricos en fibra porque aportan vitaminas, minerales y otras sustancias importantes para la salud. Hay estudios que sugieren, en pacientes con diabetes tipo 1, efectos positivos con la glucemia y algunos sobre los lípidos. En diabéticos tipo 2, la ingesta de fibra tiene que ser elevada para demostrar beneficios metabólicos sobre el control de la glucemia, hiperinsulinemia y sobre los lípidos plasmáticos, pero no está claro si la palatabilidad y los efectos gastrointestinales de estas cantidades de fibra serían aceptadas por la población general.

Otros carbohidratos a tener en cuenta, son los aquellos que se utilizan como edulcorantes. La evidencia disponible en estudios clínicos demuestra que la sacarosa no incrementa más la glucemia que cantidades isocalóricas de almidones.

Con dosis adecuadas de insulina u otros medicamentos, tomar sacarosa o dulces en pacientes diabéticos no necesita restricción porque no empeora la glucemia, pero hay que tener en cuenta también otros nutrientes ingeridos conjuntamente, como las grasas (Pibernat Tornabell y col., 2002).

3.1.1. Recomendaciones

La estrategia más adecuada para llevar a cabo un control estricto de la diabetes es combinar los métodos de índice glucémico (IG) (Jiménez-Cruz y col., 2003; Thomas y col., 2007) junto con el “conteo de carbohidratos”. El primero consiste en realizar una dieta consumiendo alimentos de IG bajo o medio, mientras que el segundo se basa en tener en cuenta el tipo y cantidad de carbohidratos que posee cada alimento con insistencia en el control del tamaño de las porciones. Este plan de alimentación sirve tanto para controlar el nivel de glucosa en sangre como para perder o mantener peso (previniendo la obesidad) (www.medlineplus.gov; www.northshore.org; Baron y Márquez, 2010).

Para planificar esta clase de dieta se debe tener en cuenta lo siguiente:

- Elegir alimentos que tengan un IG bajo a medio (ver Tabla 1). Seleccionar una variedad de alimentos saludables teniendo presente el valor nutricional de toda la comida.

- Consumir mayormente alimentos integrales sin procesar. En general, contienen un IG más bajo que cuando son procesados (ej.: en el pan blanco la harina está más refinada que en el pan integral).

- Algunos alimentos de la misma clase pueden tener diferentes valores de IG. Por ejemplo, el arroz blanco de grano largo tiene un IG menor que el arroz integral. Y el arroz blanco de grano corto tiene un IG más alto que el arroz integral. Al igual ocurre con las avenas rápidas que tienen un IG alto, pero la avena integral y los cereales de grano integral para el desayuno tienen un IG menor.

- Los alimentos con un contenido alto en fibra (frutas, verduras, cereales integrales, legumbres) tienden a tener un IG menor. La mayoría de estos alimentos

necesitan más tiempo para digerirse y aumentan lentamente el nivel de azúcar en la sangre (ver 2.2.3).

- Al consumir alimentos de IG alto, es conveniente combinarlos con alimentos de IG bajo. Éste último ayudará a contrarrestar el efecto del alimento con alto IG, por lo que el nivel de azúcar en la sangre podría aumentar más lentamente. La adición de lípidos saludables (ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados) a la comida también retardará el aumento de los niveles de azúcar en la sangre.

- Controlar el tamaño de la porción y el contenido de carbohidratos en las comidas, incluso si contiene alimentos con un IG bajo. Los alimentos de alto IG se deben consumir en porciones pequeñas.

- La cocción puede afectar el IG de un alimento (ej.: la pasta al dente tiene un IG menor que la pasta cocida) (www.medlineplus.gov; www.northshore.org; Albornoz y Pérez, 2012).

3.2. Características de la dieta para celíacos

Las harinas obtenidas de los cereales están compuestas principalmente de almidones y de distintas proteínas, siendo el gluten el componente proteico principal del trigo. La fracción soluble en alcohol del gluten o prolamina, que es a su vez la fracción proteica cuantitativa más importante, recibe el nombre específico de gliadina. Por electroforesis, se han identificado cuatro tipos de gliadinas: α , β , γ y ω gliadina, todas ellas tóxicas para el individuo celíaco. Las prolaminas análogas del centeno (secalina) y la de la cebada (hordeína) también son tóxicas para el sujeto celíaco (Polanco Allué y col., 2008); aunque se han hallado diferencias en el nivel de toxicidad de ésta última entre sus variedades, presentando algunas bajos niveles de gluten tóxico (Comino y col., 2013).

En cuanto a la prolamina de la avena (avenina), hay estudios que cuestionan la toxicidad de la misma. Así, algunos autores no han indicado lesiones en la mucosa intestinal tras cinco años de provocación con avena en celíacos adultos; otros sí encuentran lesiones mediadas por células T específicas para avenina. En otros estudios pediátricos, luego de un año de consumo, se observa una mucosa sin alteraciones y no se detecta respuesta serológica específica frente a la avenina. Estas diferencias podrían deberse a que su contenido en prolaminas es muy inferior al de

los tres cereales reconocidos como tóxicos (Tabla 2) y sus efectos podrían manifestarse a más largo plazo o sólo en individuos con un mayor grado de sensibilidad hacia estas prolaminas. Sin embargo, hay bibliografía que demuestra que mediante ensayos inmunológicos, ciertas variedades de avena resultan ser inocuas para los pacientes celíacos, las cuales podría ser implementadas en la dieta especial (Comino y col., 2013).

Tabla 2. Porcentaje de prolamina en la fracción proteica de los distintos cereales

Cereal	Prolamina	% Prolaminas
Trigo	Gliadina	80-90
Cebada	Hordeína	30-50
Centeno	Secalina	30-50
Avena	Avenina	10-15

Fuente: Polanco Allué y col., 2008.

El único tratamiento eficaz disponible para la EC, es el seguimiento de una dieta estricta sin gluten (DSG), mantenida de forma continuada, durante toda la vida del paciente. Ésta consiste en suprimir del consumo habitual, todos los alimentos elaborados con harina de trigo fundamentalmente, pero también de centeno, cebada y avena. Los dos únicos cereales libres de gluten son el maíz y el arroz, que por tanto constituyen la base de preparación de los diversos alimentos (pan, galletas, pasta, etc.) sobre los que se fomenta la DSG (Rodríguez Sáez, 2010). Hay bibliografías (Rodríguez Sáez, 2010 y Bai y col., 2011) que coinciden en que aproximadamente un 70% de los pacientes presentan una clara mejoría de los síntomas al cabo de 2 semanas de iniciada la DSG. Luego, entre los 6 y 12 meses ocurre la normalización serológica (niveles de anticuerpos) y de 6 a 24 meses para la recuperación completa de la mucosa intestinal. No obstante, la rapidez de la respuesta es muy variable e imprevisible, dependiendo del grado de adherencia a la dieta, así como de la extensión de las lesiones intestinales.

Existen dos patrones de alimentación que el celíaco puede seguir: el de “exclusión” de los alimentos con gluten o el de “sustitución” por alimentos especiales sin gluten. En el primer patrón, el paciente ha de eliminar el trigo, la cebada, el centeno, la avena y el triticale (híbrido de trigo y centeno variedad “secale”) y basar sus comidas en aquellos productos naturales y frescos que, en su

origen, no contengan gluten: leche, carnes, pescados, huevos, frutas, verduras, hortalizas, legumbres y cereales permitidos (maíz y arroz); manteniendo a su vez una dieta variada y equilibrada, que cubra sus necesidades específicas de energía, agua, principios inmediatos, vitaminas, sales minerales y oligoelementos. El celíaco debe rechazar todos los productos en cuya composición figure como ingrediente el trigo, la cebada, el centeno, la avena y el triticale, así como cualquier derivado de éstos: harinas, féculas, almidones, proteínas, malta, espesantes, sémola, etc., cuando no se especifique su planta de origen y/o no posean logo de “sin TACC”.

Debe tener precaución con los alimentos elaborados, transformados y/o envasados ya que, al haber sido manipulados, la garantía de que no contengan gluten es más difícil de establecer.

El aporte de hidratos de carbono necesario, que en nuestro entorno se cubre con la ingesta de cereales y sus derivados, los celíacos lo obtienen del arroz, maíz, patatas y legumbres, o bien, de los productos especiales para celíacos denominados “sin TACC” que están disponibles en tiendas especializadas. Estos productos constituyen la base de la otra estrategia alternativa con la que cuenta el celíaco, la de “sustitución” de los alimentos con gluten por los llamados “productos especiales sin TACC”. Es necesario destacar, que el precio de éstos últimos es muy elevado frente a sus análogos con gluten. El alto costo de estos alimentos, a la que no pueden hacer frente algunas familias y la falta de ayuda por parte de la administración, motiva que algunos celíacos consuman alimentos con gluten con la consiguiente recaída y agravamiento clínico (Márquez y col., 2001).

La DSG es muy saludable y completa, ya que contiene todos los nutrientes necesarios para mantener una alimentación sana. Su adherencia continuada es difícil en cualquier etapa de la vida, debido a que la harina de trigo está presente en la composición o en los aditivos de muchos alimentos. Los pacientes que no responden a la retirada del gluten de la dieta, deben ser advertidos de las “contaminaciones cruzadas” o del consumo inadvertido de productos que contienen gluten y se les debe hacer un estudio completo sistemático orientado a la búsqueda de posibles enfermedades o complicaciones asociadas (Rodríguez Sáez, 2010). Son aptos para una DSG aquellos alimentos que, de forma natural, no contienen prolaminas tóxicas; productos elaborados con almidones de los cereales tóxicos pueden ser consumidos si no superan el contenido máximo de gluten autorizado por el Codex Alimentarius,

es decir, 20 ppm (mg/kg) para alimentos naturalmente exentos de gluten y 200 ppm para aquellos elaborados con almidón de trigo. A pesar de esta normativa, se desconoce qué cantidad máxima de gluten puede consumir un sujeto celíaco sin perjudicar su salud y hay evidencia de que determinados pacientes presentaron manifestaciones clínicas graves tras la ingesta de mínimas cantidades de esta proteína (Polanco Allué y col., 2008).

En conclusión, una buena norma es basar la dieta en alimentos naturales que no contengan gluten, reservando el consumo de productos manufacturados denominados “sin TACC” para casos y situaciones concretas (Marquéz y col., 2001).

3.3. Nuevas formulaciones

En la actualidad, se están realizando investigaciones en el campo de la nutrición para innovar en la utilización de ingredientes y crear nuevas fórmulas en la elaboración de alimentos, que puedan ser incluidas en la dieta de los pacientes con ECNT y los ayuden en su tratamiento (www.industriaalimenticia.com; Pacheco de Delahaye, 2001; Molina-Rosell, 2013).

3.3.1. Formulaciones para diabéticos

Con el continuo énfasis en los alimentos y bebidas que pueden ser vías para el control de la diabetes, cada vez más ingredientes están disponibles a los formuladores para crear productos de atractivas características organolépticas.

Los actuales ingredientes para el control de azúcar en sangre tienen un propósito dual común. La acción dual de los oligosacáridos ha demostrado niveles moderados de azúcar en la sangre, haciéndolos sustitutos del azúcar de calidad en algunos alimentos de bajo índice glucémico. También añaden volumen a productos endulzados con edulcorantes cero calorías (por ejemplo: aspartamo, stevia o sucralosa) y enmascaran el regusto producido por estos últimos, especialmente en las formulaciones de bebidas. En estas últimas, los altos pesos moleculares de algunos oligosacáridos les proporcionan mayor viscosidad, lo que conduce a un mayor cuerpo y sabor. Además, tienen la capacidad de extender el período de vida útil

mediante la retención de humedad, sin aumentar significativamente los niveles de actividad del agua (www.industriaalimenticia.com).

3.3.1.1. Almidones resistentes

Los almidones resistentes son ideales para la industria de alimentos y bebidas, ya que son incoloros, inodoros, altamente solubles y pueden funcionar como fibra dietética; por lo tanto, pueden beneficiar a los diabéticos y ayudar en la modulación de control de azúcar en la sangre.

La fibra derivada del maíz (otros nombres: fibra de maíz soluble, maltodextrina resistente o maltodextrina resistente a la digestión) es una fibra funcional y versátil que puede usarse en la formulación de productos reducidos en azúcar o sin azúcar y puede ser procesada para lograr una buena fuente de fibra dietética. Estudios clínicos han encontrado que estos ingredientes logran disminuir la respuesta glucémica de alimentos elaborados a base de hidratos de carbono, ya que se trata de un almidón resistente útil para regular el azúcar en la sangre (son carbohidratos de absorción lenta); estimula la saciedad y una respuesta bioquímica secundaria a acciones prebióticas en el tracto gastrointestinal.

La maltodextrina resistente puede utilizarse con eficacia en las bebidas (mezclas en polvo o listas para beber) y funciona bien en todo el espectro de pH, igualmente puede utilizarse en productos horneados, dulces e incluso en postres congelados.

En las formulaciones al horno, el almidón resistente sustituye hasta un 25% o más de harina y, en algunos casos, aporta un ligero aumento en el volumen a estos productos. Los efectos de saciedad son de larga duración y en el tracto gastrointestinal actúa como una fibra (www.industriaalimenticia.com).

Los estudios de otros alimentos, como el piñón de *Araucaria araucana* (Conforti, 2009; Taha y col., 2010; Pirone, 2014) y el plátano verde (*Musa paradisiaca*) (Pacheco de Delahaye, 2001), permitieron evidenciar que son otras fuentes con alto contenido de almidones resistentes que podrían ser utilizadas como materias primas para el desarrollo de productos de bajo IG que se puedan incluir en las dietas para pacientes diabéticos. En el caso del piñón, también ofrece diferentes formas de uso y procesamiento además del consumo fresco, principalmente en forma de harina que es muy versátil para la elaboración de diversos productos.

3.3.2. Formulaciones para celíacos

En los últimos años, se ha incrementado la necesidad por los productos libres de gluten (sin TACC), debido al aumento del número de enfermos celíacos diagnosticados. Los pacientes buscan que dichos productos posean la misma apariencia que los productos con gluten, sin olvidar los aspectos nutricionales de los mismos.

Los alimentos sin TACC derivados de cereales son ricos en hidratos de carbono y grasas, y deficientes en algunos macronutrientes y micronutrientes. Es por ello, que las DSG pueden ocasionar a largo plazo dietas desequilibradas con deficiencia en algún nutriente. La incorporación de otros ingredientes/nutrientes como aceites omega 3, proteínas específicas, fibras, probióticos y prebióticos se vislumbra como alternativa para mejorar la composición nutricional de los alimentos libres de gluten.

Los cereales libres de gluten disponibles para la fabricación de panes sin gluten son el arroz, maíz, mijo, sorgo y teff (*Eragrostis tef*).

Se ha observado un incremento del uso de harina de arroz en la formulación de productos sin TACC por sus características organolépticas y su hipoalergenicidad, aunque es necesario el uso de algún hidrocoloide, emulgente, enzima o proteínas para conferir propiedades viscoelásticas. Las harinas de cereales, como el arroz y otros vegetales (leguminosas, musáceas, raíces y tubérculos), se perciben como potenciales ingredientes en el desarrollo de numerosos productos a nivel mundial.

Los pseudocereales como quinoa, amaranto y trigo sarraceno, también se están introduciendo como ingredientes en la formulación de productos sin TACC. En el norte de América se pueden localizar diversos panes basados en amaranto, con el cual se consigue mejorar la composición nutricional dado que posee mayor cantidad de proteínas, fibra y minerales. Las harinas procedentes del trigo sarraceno y el mijo son más ricas en proteínas y minerales, por ello se han propuesto para el desarrollo de productos alternativos nutritivamente más enriquecidos (Molina-Rosell, 2013).

La harina piñón de *Araucaria araucana*, es otra alternativa disponible para la elaboración de productos sin TACC, ya que naturalmente no contiene gluten, lo que permitiría la preparación de productos de panificación aptos para celíacos. Además proporciona un gran valor nutricional y mayor retención de agua (rico en fibra dietética), aportando esponjosidad al producto (Alvez y col., 2015).



Otra alternativa es el uso de enzimas o coadyuvantes tecnológicos, como las amilasas, proteasas, hemicelulasas, lipasas, transglutaminasa y oxidasas para mejorar la calidad de los panes libres de gluten. La utilización de transglutaminasa y glucosa oxidasa, permite mejorar la textura, pero el efecto depende principalmente de la harina que se use en la formulación. Ambas enzimas forman enlaces intra e intermoleculares entre las proteínas del arroz originando una red proteica. Sin embargo, esta red no mimetiza por completo la funcionalidad del gluten y es necesario la presencia de hidrocoloides. La acción de la transglutaminasa también se puede potenciar mediante la adición de otras proteínas (incrementan los residuos de lisina que favorecen el entrecruzamiento enzimático). Una investigación ha descrito que el efecto de la transglutaminasa en presencia de proteínas de soja, de leche o huevo, es la reducción del volumen debido a la polimerización de las proteínas (Molina-Rosell, 2013).

3.3.2.2. Fibra dietética

El agregado de fibra dietética confiere textura, capacidad gelificante, espesante, emulgente y estabiliza las propiedades de los alimentos sin TACC. A medida que se añade mayor concentración de estas fibras, se mejora el perfil nutricional del producto con respecto a los panes de referencia, pero la calidad sensorial se va deteriorando.

En el trabajo de Molina-Rosell (2013), se explica que se puede aumentar el contenido total de fibra dietética en productos sin TACC incorporando distintas frutas y vegetales como: manzana, remolacha, zanahoria, arándanos y harina de teff. Mediante la optimización de las condiciones de extrusión se podrían obtener productos sin TACC enriquecidos en fibra dietética. Bajo este concepto, el agregado de harina de piñón es otra variante que permitiría la posibilidad de aumentar el contenido de fibra ya que posee un alto contenido de almidón (43,79%) de los cuales el 93% son resistentes a la digestión enzimática (Pirone, 2014) y otros polisacáridos no amiláceos (celulosa, hemicelulosa, pectinas, hidrocoloides y lignina) (Henríquez y col., 2008); que constituyen un elevado porcentaje de fibra dietaria que podría mejorar las características de los productos sin TACC aportando mayor esponjosidad a estos (alta retención de agua) (Alvez y col., 2015).



II. OBJETIVOS

1. Objetivo general

Estudiar las propiedades de distintas harinas a base de piñón de *Araucaria araucana* para evaluar la posibilidad de incorporarlo en dietas especiales. Elaborar a partir de estas harinas varias formulaciones de un producto artesanal, para evaluar su aceptabilidad.

2. Objetivos particulares

- Estudiar las propiedades de la materia prima en función de las necesidades dietéticas a cubrir.
- Formular un alimento artesanal a base de estas semillas libre de TACC y de azúcares simples.
- Ensayar diferentes formulaciones para la elaboración del producto artesanal.
- Determinar los parámetros de calidad del producto elaborado.
- Realizar un análisis sensorial del producto final.
- Evaluar los datos obtenidos y realizar el análisis estadístico de los mismos.

III. PLAN DE TRABAJO

- Carga horaria de 120 horas.
- 10 horas por semana.
- 12 semanas (3 meses).

Actividades:

Actividades	Meses		
	1	2	3
1	X		
2	X		
3		X	
4		X	
5		X	
6		X	X
7			X

1. Búsqueda bibliográfica sobre dietas para individuos con patologías alimenticias como diabetes, obesidad, celiaquía, hipertensión.
2. Evaluación de las propiedades nutricionales del piñón que favorecen el desarrollo de alimentos para dietas especiales (análisis del poder antigénico del gluten y del poder glucogénico de la semilla).
3. Determinación de otros parámetros de interés (sodio, potasio, fibras).
4. Desarrollo de formulaciones de productos alimenticios que satisfagan las necesidades de estos sectores de la población.
5. Evaluación de la aceptabilidad de los productos obtenidos mediante análisis sensorial de los mismos.
6. Procesado de los datos obtenidos y evaluación de los resultados.
7. Redacción del trabajo.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla de abreviaturas

Abreviatura	Significado
AD	Agua destilada
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BM	Baño maría
bs	Base seca
HCl	Ácido clorhídrico
IRAM	Instituto Argentino de Normalización y Certificación
ISO	International Organization for Standardization
M	Molar/es
MM	Materiales y métodos
NaCl	Cloruro de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
N	Normal/es
% p/p	Porcentaje peso en peso
% p/v	Porcentaje peso-volumen
PCO	Harina de piñón cocido
PCR	Harina de piñón crudo
ppm	Partes por millón
TACC	Trigo, Avena, Cebada y Centeno

1. Materiales

1.1. Materia prima

Se utilizaron piñones de *Araucaria araucana* provenientes de Villa Pehuenia, Neuquén. Las semillas enteras se trataron en agua a ebullición (piñón/agua: 1/4) durante 1 hora sólo para ablandar la cáscara (no se consideró como cocción). Luego fueron retiradas del agua y se procedió al pelado en caliente, separándose las semillas sin cáscara en dos mitades, para la obtención de las harinas.



1.1.1. Harina de piñón crudo

La primera mitad se pesó y se molió, utilizando un minipimer Braun para lograr una granulometría de 0,5 mm. Los piñones crudos y molidos se colocaron en una bandeja y se llevaron a estufa de secado (DALVO, modelo FHe7F7I, Vca 220W 3100) a 55°C durante 24 horas. La harina obtenida fue pesada, se almacenó en un recipiente Ziploc a temperatura ambiente y se rotuló como PCR.

1.1.2. Harina de piñón cocido

La segunda mitad se pesó y se cocinó a ebullición durante 1 hora (piñón/agua: 1/4). Una vez retirados del fuego, enfriados (con agua potable fría), escurridos, se secaron y pesaron. Se molieron usando un minipimer Braun. Los piñones cocidos y molidos se colocaron en una bandeja y se llevaron a estufa de secado (DALVO, modelo FHe7F7I, Vca 220W 3100) a 55°C durante 24 horas. La harina obtenida fue pesada, se almacenó en un recipiente Ziploc a temperatura ambiente y se rotuló como PCO.

2. Métodos

2.1. Caracterización de las harinas

Se realizó de acuerdo con las técnicas de AOAC (1990).

2.1.1. Humedad

La humedad de las muestras se determinó por gravimetría. La muestra se colocó estufa de secado (DALVO, modelo FHe7F7I, Vca 220W 3100) a una temperatura de 105°C hasta peso constante. El contenido de agua se calculó mediante el porcentaje de pérdida de peso y el resultado se lo expresó en % p/p.

2.1.2. Cenizas totales

Se determinó según AOAC 1990 (923-03). Las muestras previamente deshidratadas fueron carbonizadas y luego sometidas a una temperatura de 525°C en



mufla (Indef, modelo 272, Argentina) hasta peso constante. Se obtuvieron las cenizas de la semilla y el resultado se lo expresó en % p/p.

2.1.3. pH

Se midió pH según AOAC 1990 (981-12) utilizando un analizador de iones marca ORION, modelo EA 940 y un electrodo combinado de pH marca ORION (N° de catalogo: 91-04). La muestra se preparó pesando 10 g de fruta triturada a la que se le incorporó 40 ml de agua destilada hervida y enfriada y se midió el pH de la mezcla.

2.1.4. Acidez titulable

Se midió según AOAC 1990 (942-15). La muestra se preparó pesando con exactitud 18 g de harina de piñón a la que se agitó en 200 ml de agua destilada hervida y enfriada; la mezcla se trató a 40°C durante 1 hora en BM para luego filtrarla. El filtrado obtenido se tituló con una solución 0,1 N de NaOH hasta pH 8,1, utilizando un analizador de iones marca ORION, modelo EA 940 y un electrodo combinado de pH. El resultado se expresó en g de ácido cítrico cada 100 g de muestra.

2.2. Hidratos de carbono

2.2.1. Determinación de azúcares

2.2.1.1. Método de Fehling-Causse-Bonnans

Los carbohidratos se determinaron mediante el método volumétrico que se fundamenta en la propiedad que presentan los azúcares reductores de actuar sobre los metales, en este caso el cobre en medio alcalino, reduciéndolo de Cu^{+2} a Cu^{+1} , observándose un cambio característico del color azul del reactivo a naranja o rojo ladrillo del precipitado formado. Se utiliza como indicador de la titulación, el azul de metileno que al reducirse pasa de color azul a incoloro. La reacción no es estequiométrica por lo que es necesario determinar el título del reactivo mediante una titulación de una cantidad exacta del mismo con una solución patrón de glucosa de



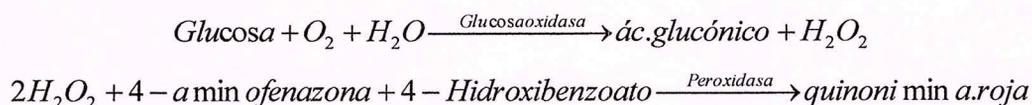


concentración conocida. Para el cálculo se determina la cantidad de glucosa necesaria para reducir un volumen exacto de reactivo.

2.2.1.2. Glicemia enzimática AA (Wiener lab)

Se realizó la digestión del almidón, con 0,5 ml de una solución (0,1%) de enzima amilasa (Amylase AG 300L), a una muestra líquida que se obtuvo pesando exactamente 20 mg de harina de piñón y mezclándose con 3 ml de agua destilada. La incubación se hizo a 37°C durante 30, 60, 90 y 120 minutos (cada tiempo con muestras por duplicado). Las muestras testigo se incubaron 120 minutos sin el agregado de enzima. Ésta última se inactivó a 100°C durante 10 minutos en BM.

La determinación se lleva a cabo mediante la incubación de 10 µl de la muestra digerida con 1 ml del reactivo que contiene las enzimas a 37°C por 5 minutos. La reacción enzimática es la siguiente:



El color desarrollado por el producto obtenido se lee espectrofotométricamente a 505 nm. Los resultados se expresan en mg/dl de glucosa.

2.2.2. Almidones

2.2.2.1. Hidrólisis ácida

Se determinaron azúcares reductores solubles titulando 10 ml de reactivo Fehling-Causse-Bonnans (FCB), en una muestra de aproximadamente 12 g de harina de piñón, diluida en 50 ml de agua destilada, floculada con acetato de plomo al 25% (para eliminar proteínas) y filtrada. El resultado se expresó en porcentaje de azúcares reductores solubles en base seca.

Al filtrado proveniente de la determinación de azúcares solubles, se le agregó 10 ml de HCl concentrado, se llevó a BM a ebullición por espacio de 2 horas. Se agregó NaOH 33% para neutralizar, utilizando fenolftaleína como indicador; se llevó al volumen original con agua destilada y se filtró por papel de filtro. En el filtrado se

determinó el contenido de azúcares totales solubles titulando 10 ml de reactivo FCB. El resultado se expresó en porcentaje azúcares solubles post hidrólisis en base seca.

A 1,5 g de harina de piñón pesados con exactitud, se les adicionaron 100 ml de agua destilada y 10 ml de HCl concentrado. Se colocó un refrigerante adosado al erlenmeyer y se calentó a ebullición a reflujo por espacio de 2 horas para hidrolizar los hidratos de carbono. Luego de dejar enfriar la solución hidrolizada, se neutralizó con NaOH al 33% (verificando el pH mediante tiras indicadoras de pH, rango 1-14). Una vez neutralizado, se pasó la solución a un matraz aforado de 250 ml llevando a dicho volumen con agua destilada. Se agitó bien y se centrifugó la solución, determinando los azúcares por el método de FCB. El resultado se expresó en porcentaje de azúcares totales en base seca.

2.2.2.2. Hidrólisis enzimática

En una muestra de aproximadamente 6 g de harina de piñón, diluida en 35 ml de agua destilada, se realizó una hidrólisis enzimática utilizando 15 ml de una solución (1%) de enzima amilasa (Amylase AG 300L) incubando durante 2 horas a 37°C. La enzima se inactivó con un calentamiento de 10 minutos en BM a 100°C. Los azúcares reductores se determinaron mediante el método de FCB. El resultado se expresó en porcentaje de azúcares reductores remanentes y porcentaje de hidrólisis (teniendo en cuenta el contenido inicial de carbohidratos).

2.2.2.3. Digestibilidad del almidón

La digestibilidad del almidón se determinó “*in vivo*” calculando el índice glucémico en 6 individuos sanos. Dicho índice se evaluó mediante la respuesta glucémica de los individuos sometidos a una carga isoglucídica de 60 g de piñón pelado en caliente y cocido (2 horas a 100°C), respecto de una carga estándar de glucosa (25g). Se extrajeron muestras para la determinación de glucemia por el método enzimático de Glicemia enzimática AA (Wiener lab, Argentina) a distintos tiempos (0; 30; 60 y 120 minutos) para graficar las dos curvas (ambas promedio de las 6 determinaciones). Se calculó el índice de glucémico (IG) mediante la siguiente ecuación (Goñi y col., 1997):



$$IG = \frac{\text{Área bajo la curva de digestibilidad de la muestra (0 - 120 min)}}{\text{Área bajo la curva de digestibilidad de glucosa (0 - 120 min)}} \times 100$$

2.3. Evaluación de los gránulos de almidón mediante microscopía óptica

Se realizó una observación microscópica de una suspensión de harina al 10%, para analizar las muestras PCR y PCO utilizando un microscopio óptico (Baush & Lomb) con un aumento de 400X y una cámara digital TSView adosada que permite adquirir microfotografías digitales. Las observaciones se realizaron con luz blanca sobre las muestras de harina de piñón.

2.4. Proteínas

2.4.1. Determinación de proteínas totales

Las proteínas totales se determinaron por el método de Kjeldahl que se fundamenta en la conversión del nitrógeno total presente en la muestra a sales de amonio que son posteriormente valoradas por volumetría ácido-base. Los resultados se expresaron en % de proteínas utilizando el factor 6,25.

2.4.2. Fraccionamiento proteico

2.4.2.1. Separación por solubilidad

Las fracciones proteicas se separaron por diferencia de solubilidad en distintos medios: albúminas (hidrosolubles); globulinas (solubles en soluciones salinas de NaCl 0,5M); prolaminas (solubles en alcohol 70%); glutelinas (solubles en soluciones alcalinas de NaOH 0,1M) y se determinaron mediante colorimetría por el método de Biuret. El método se fundamenta en la propiedad que tienen los iones cúpricos del reactivo de acomplejarse con los enlaces peptídicos produciéndose un color violeta-purpúreo bajo condiciones alcalinas. El reactivo contiene tartrato de sodio que estabiliza el ión cúprico en la disolución alcalina. Se lee a 540 nm la absorbancia del color producido, que será proporcional al contenido en proteínas de la muestra. Los resultados se expresan en %. También se realiza la lectura a 700 nm de absorbancia, la cual se resta a la obtenida a 540 nm, con la finalidad de evitar la interferencia producida



por la turbidez tanto de la muestra de harina de piñón como la propia del reactivo de Biuret.

2.4.2.2. Electroforesis

La electroforesis es una técnica basada en los movimientos de moléculas cargadas en un campo eléctrico. Cada molécula se mueve hacia el electrodo de carga opuesta (cátodo y ánodo) y este movimiento denominado “electroforesis” da nombre a la técnica. En el transporte electroforético, a la fuerza del campo eléctrico se opone la resistencia viscosa del medio, produciéndose, cuando se igualan una velocidad constante de desplazamiento de las partículas. En este caso se utilizó un equipo integrado por una fuente de poder Chemetron y una cubeta Chemar modelo C1-2, la muestra se la incubó sobre gel de acetato de celulosa a pH 8,6 (buffer de borato/acetato - Biopur) y la corrida se realizó durante 35 minutos con un voltaje de 200 V. Para el revelado se utilizó Amido Black 10 B (Biopur).

2.4.3. Prolaminas inmunoreactivas

Se determinó la inmunoreactividad de las prolaminas mediante el método de enzaimunoen ensayo competitivo empleando anticuerpos policlonales (Chirido y col., 1995). Límite de detección: 0,1 mg de gliadinas por cada 100 g de muestra. Las muestras se analizan en alícuotas de extractos obtenidos por triplicado. Los resultados corresponden al promedio de al menos 12 ensayos y se expresan, en base a peso neto, como mg de prolaminas/100 g de muestra. Se indica como no detectable (nd) el contenido de prolaminas inferior a 0,1 mg/100 g.

2.5. Elaboración de galletitas a base de piñón

Se elaboraron cuatro variantes de galletitas libres de TACC: con harina de piñón PCR y endulzada con azúcar (833); con harina de piñón PCR y endulzada con azúcar y una proporción de miel (454); con harina de piñón PCO endulzada con azúcar (632); con harina de piñón PCO endulzada con azúcar y una proporción de miel (728). Se evaluaron mediante un Test de ranking por preferencia (ANEXO I).

Tabla 6. Formulaciones de las galletitas

Ingredientes	833	454	632	728
Harina de piñón crudo (g)	200	200	---	---
Harina de piñón cocido (g)	---	---	200	200
Fécula de maíz (g)	100	100	100	100
Azúcar (g)	75	50	75	50
Manteca	30	30	30	30
Polvo de hornear (g)	1,5	1,5	1,5	1,5
Miel (g)	---	25	---	25
Huevo (unidad)	1	1	1	1
Crema de leche (g)	15	15	15	15
Esencia de vainilla	c/n	c/n	c/n	c/n
Ralladura de limón	c/n	c/n	c/n	c/n

c/n cantidad necesaria

Para la elaboración de las galletitas se procedió de la siguiente forma: se mezcló la harina de piñón con la fécula de maíz, el polvo de hornear, el endulzante y la manteca. Se ahuecó la mezcla y se incorporó la materia grasa (crema de leche). Se saborizó con esencia de vainilla y ralladura de limón y se incorporó el huevo. Se mezclaron los ingredientes y se amasaron hasta incorporación total de los mismos. Se enmantecó un molde que se llevó a frío. Se espolvoreó la superficie con fécula de maíz, se estiró la masa hasta un espesor de 3 mm, se cortaron las galletitas y se llevaron a cocción durante 17 minutos a 195°C. Las Fig. 9, 10, 11 y 12 muestran las galletitas resultantes de cada una de las formulaciones.



Fig. 9. PCR sin miel

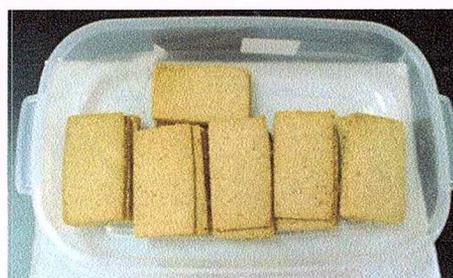


Fig. 10. PCR con miel



Fig. 11. PCO sin miel

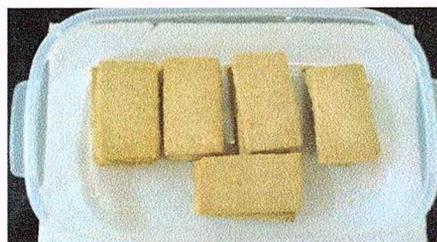


Fig. 12. PCO con miel



2.6. Análisis sensorial

Las muestras fueron analizadas sensorialmente por un grupo de panelistas entrenados a los que se les presentaron las galletitas elaboradas a base de harina de piñón (833; 454; 632 y 728).

2.6.1. Metodología utilizada

La metodología aplicada fue el test de ranking por preferencia (ANEXO I) que consistió en evaluar las muestras de acuerdo a los siguientes atributos: color, aroma, sabor, textura y preferencia global. Mediante este test se pueden procesar más de tres muestras realizando un ordenamiento por intensidad de un atributo determinado o por preferencia. Tiene el inconveniente que puede producir fatiga sensorial.

2.6.2. Selección del área de evaluación. Preparación y presentación de las muestras

El área seleccionada para el análisis fue un lugar amplio, calmo, libre de olores y de fácil acceso, con luz uniforme blanca, con buenas sillas y mesa de entrenamiento, con control de temperatura (Normas IRAM 20.003; ISO 1998).

Las muestras se prepararon en el laboratorio y para la evaluación se presentaron en simultáneo pero distribuidas en forma aleatoria entre los evaluadores. Cada muestra consistió en una galletita (≈ 4 g) a temperatura ambiente, colocada en platitos codificados mediante números aleatorios de tres dígitos obtenidos al azar. Entre muestras se utilizó agua para la neutralización de sabores.

2.6.3. Reclutamiento y entrenamiento de los evaluadores. Selección del postratamiento

Se reclutaron 15 evaluadores que eran docentes y estudiantes con edades comprendidas entre 28 a 45 años. Fueron seleccionados de acuerdo al conocimiento previo sobre el tema de análisis sensorial. Se les entregó una planilla de evaluación con consignas claras y de fácil respuesta (ANEXO II).

Se evaluaron las muestras para determinar la formulación preferida globalmente, teniendo en cuenta el tratamiento de datos y evaluación de los resultados que se explica a continuación.

2.6.4. Tratamiento de datos y evaluación de los resultados

Para el tratamiento de datos se ordenaron las muestras según la intensidad de cada uno de los atributos mediante una tabla de preferencia para cada atributo, de acuerdo al Ordenamiento de Newells. La tabla se construye con el N° de evaluador, los códigos de las muestras y las posiciones del ranking. Luego se realizó una tabla de puntaje por cada evaluador del atributo analizado, que tomó valores del 1 (el que más gustó) al 4 (el que menos gustó).

En la evaluación de los resultados se utilizó el análisis estadístico de Friedman (Meilgaard y col., 2006) que determina si las sumas de los ordenamientos totales para cada muestra difieren significativamente. Para ello se calcula un número (F), que se compara contra un F crítico utilizando la tabla de Newells (ANEXO III) que tienen doble entrada, una es el número de panelistas y otra el número de muestras.

$$F = \frac{12}{JP(P+1)}(R_1^2 + R_2^2 + \dots + R_p^2) - 3J(P+1)$$

Donde:

J: N° de evaluadores

P: N° de muestras o productos

R_i : sumas de los ordenamientos totales

Se calcula la significación de los resultados de orden por rango, con una significación del 5% ó 1% y se compara dicho valor con la diferencia entre las dos muestras a analizar. Si la diferencia es menor al número obtenido por tablas, indica que las muestras no presentan diferencias significativas en cuanto al atributo evaluado.

$$[R_i - R_j] \geq 1,960 \sqrt{\frac{JP(P+1)}{6}} \text{ para } 5\%$$

$$[R_i - R_j] \geq 2,576 \sqrt{\frac{JP(P+1)}{6}} \text{ para } 1\%$$



2.7. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos (excepto para el análisis sensorial) fueron analizados a partir de un análisis de la varianza (ANOVA), utilizando el LSD (mínimas diferencias significativas) como método de comparaciones múltiples, con un nivel de significación del 0,05. El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico Statgraphics® Plus (versión 5.1 para *Windows*).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Caracterización de la harina de piñón

El piñón de *Araucaria araucana* es una semilla muy rica en carbohidratos que representan el 77% de las calorías totales del piñón fresco (100 g aportan 240 Kcal). Considerando que la mayoría de estos nutrientes pueden ser almidones resistentes (Pirone, 2014), se trabajó con harina de piñón crudo (de semillas peladas en caliente y sin cocción) (PCR) y piñón cocido (de semillas peladas en caliente y con cocción) (PCO) (ver MM 1.1.), para evaluar el comportamiento de esos nutrientes al tratamiento térmico.

En la Fig. 5 se observan ambas harinas, obtenidas por el mismo sistema de molienda. La apariencia visual de la harina PCR fue diferente a la PCO, la segunda mostró una granulación más porosa, que podría deberse a la gelatinización del almidón o a la diferencia de humedades, por el efecto plastificante del agua, o a ambos efectos.

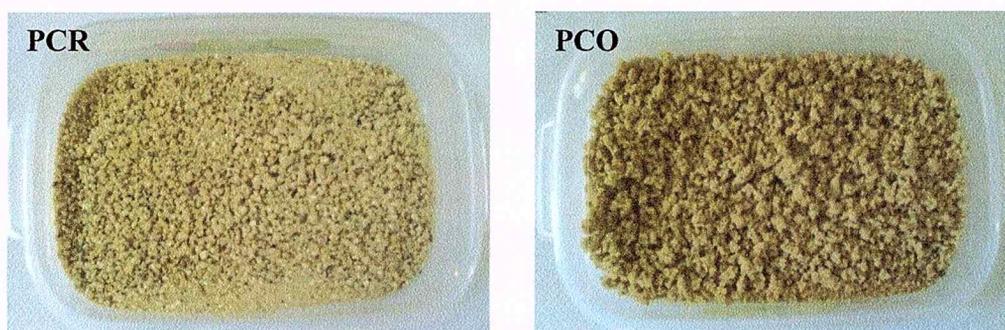


Fig. 5. Harina de piñón crudo (PCR) y piñón cocido (PCO)

Simultáneamente se llevó a cabo una microscopía óptica (ver MM 2.3.) en las harinas para evaluar los cambios morfológicos del material con la temperatura y monitorear el proceso de gelatinización. En la Fig. 6 se ilustra el proceso de hinchamiento de los gránulos de almidón para una suspensión al 10% p/v de las muestras. En la muestra PCR se observan los gránulos enteros de superficie lisa, sin irregularidades, de diferentes formas (esférica y ovoide) y tamaño (3,8 a 9,3 μm), quedando un gran espacio libre entre los gránulos. Henríquez y col. (2008) encontraron para la misma especie, gránulos de almidón de $14,61 \pm 1,05 \mu\text{m}$. Posiblemente las diferencias con el presente estudio se deban en parte a las diferentes condiciones

climáticas en las cuales crecieron los ejemplares estudiados, al estado de madurez o a las condiciones de almacenamiento de los piñones, post cosecha.

En la muestra PCO, la mayoría de los gránulos pierden su forma y sufren una desestructuración de su superficie para finalmente, entrelazarse y generar una red polimérica como sucede en otras matrices (Quintero y Rueda, 2013). De acuerdo a estudios realizados por Conforti (2009), la temperatura de gelatinización del almidón de piñón de *Araucaria araucana* estaría comprendida entre 70 y 75°C, razón por la cual la muestra PCO, que se obtuvo mediante calentamiento a 100°C por 1 hora, presenta una gelatinización total, con interrupción y colapso de sus gránulos.

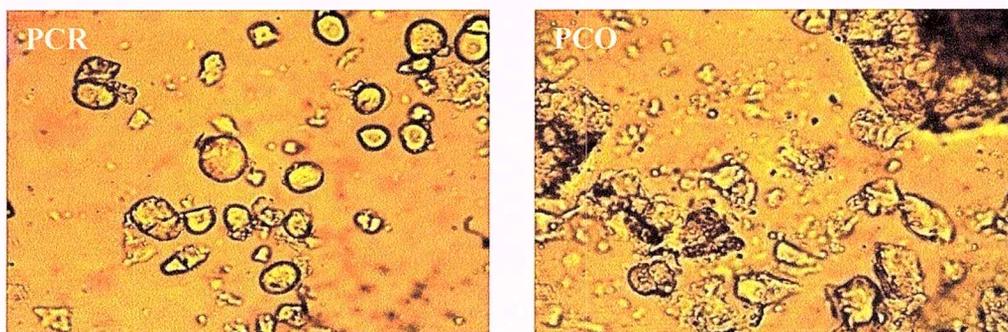


Fig. 6. Microfotografías (aumento a 400X) de los gránulos de almidón de las harinas de piñón crudo (PCR) y piñón cocido (PCO).

La tabla 3 muestra las características de las harinas que, a pesar de presentar una humedad residual semejante, son significativamente diferentes en cuanto a acidez, pH y cenizas, probablemente se deba al efecto de lixiviación durante la cocción en agua. En cuanto al rendimiento, en el caso del piñón cocido fue menor debido a la hidratación que presentó la semilla en el proceso.

Tabla 3. Características de la harina de piñón

Harina de piñón	PCR	PCO
Humedad (%)	46,8±8,1 ^a	55,8±1,1 ^a
Acidez (% Ác. cítrico)	8,6±0,1 ^a	3,3±0,2 ^b
pH	5,77±0,01 ^a	6,16±0,07 ^b
Cenizas (%)	1,38±0,04 ^a	0,68±0,01 ^b
Rendimiento (%)	53,2	44,2

Las medias con sus desvíos estándar dentro de las filas que presentan letra minúscula en superíndice diferente son significativamente diferentes ($p < 0,05$). PCR: harina de piñón crudo – PCO: harina de piñón cocido.

1.1. Carbohidratos del piñón

Los hidratos de carbono del piñón de *Araucaria araucana* se presentan en diferentes formas: una porción como azúcares reductores simples y de rápida asimilación ($2,5 \pm 0,3\%$ bs), otra como azúcares reductores posthidrólisis ($3,8 \pm 0,4\%$ bs) y una mayor que corresponden a los almidones resistentes a la hidrólisis ácida ($71,6 \pm 2,3\%$ bs), es decir que solo el 5,0% de los almidones totales de la harina del piñón crudo (PCR) fue sensible al tratamiento ácido (ver MM 2.2.2.1.). En este trabajo, los estudios se focalizaron en evaluar la digestibilidad de esos almidones realizando la hidrólisis “*in vitro*” y la digestibilidad “*in vivo*” de esos nutrientes.

1.2. Hidrólisis del almidón

La tabla 4 muestra el contenido de azúcares reductores y el porcentaje de hidrólisis enzimática de una suspensión de harina de piñón incubada con una diastasa durante 2 h a 37°C (ver MM 2.2.2.2.). Se puede observar que el tratamiento enzimático de la harina de piñón crudo (PCR) fue más efectivo en la hidrólisis del almidón que el tratamiento ácido (3 veces más), aunque seguía siendo bajo teniendo en cuenta el total de los almidones presentes (75,4%). En el caso de la harina del piñón cocido (PCO), presentó mayor porcentaje de hidrólisis que el piñón PCR (un 43,8% mayor), porque el calor aumentó la gelatinización del almidón y destruyó los gránulos dejando más expuesta la molécula a la acción de la enzima. Conforti (2009) realizó las mismas experiencias en piñón crudo pelado en frío y pelado en caliente, hallando el mismo comportamiento pero los resultados no coincidieron. Ello se debe a que la hidrólisis en el piñón crudo pelado en frío fue menor donde los almidones no se gelatinizaron (en este trabajo se peló en caliente lo que permitió un cierto grado de gelatinización aumentando el % de hidrólisis) y la hidrólisis en el piñón crudo pelado en caliente fue mayor (en esta experiencia luego del pelado en caliente se le sumó una cocción en agua que causó, probablemente, pérdidas de azúcares simples por lixiviación disminuyendo el % de hidrólisis en la harina).

Tabla 4. Hidrólisis enzimática del almidón

Muestra	AR (%)	Hidrólisis (%)
PCR	$13,7 \pm 4,3$	17,6
PCO	$24,4 \pm 5,1$	31,3

AR (%): porcentaje de azúcares reductores.

1.3. Índice glucémico del piñón

Los carbohidratos que son consumidos en la dieta son digeridos y absorbidos en el intestino delgado a diferente velocidad de acuerdo a la fuente botánica y de la forma física que se encuentren en el alimento (Carmona García, 2005). El concepto de índice glucémico fue propuesto por Jenkins (1981) para describir en forma numérica la rapidez de absorción de los carbohidratos de un determinado alimento o su capacidad de aumentar la concentración de glucosa en sangre.

En la Fig. 7 se graficó la respuesta glucémica de los individuos sometidos a una carga isoglucídica de piñón (PCO), respecto de una carga estándar de glucosa (se usa ésta en lugar del pan blanco, porque siempre presenta una absorción intestinal al 100% lo que la hace la mejor referencia), en función del tiempo, ambas promedio de seis determinaciones (ver MM 2.2.2.3.). Se puede observar que la curva correspondiente al piñón presenta un pico máximo a los 30 minutos de la ingestión de la semilla hervida, valor menor (45% menos) que el presentado por la curva de glucosa y un aumento posterior al final de la curva (16,5% de glucosa a los 120 minutos de incubación).

Existen dos grupos de factores que influyen en la respuesta post-prandial, el primero se refiere a aquellos que están relacionados directamente con el alimento y llamamos factores intrínsecos (composición del almidón, grado de gelatinización, contenido y tipo de fibras, interacción con proteínas-lípidos y pH del alimento) y los llamados factores extrínsecos (azúcares añadidas y forma de procesamiento). En el caso del piñón se debe tener en cuenta la composición de los carbohidratos y el proceso de calentamiento realizado en la muestra PCO.

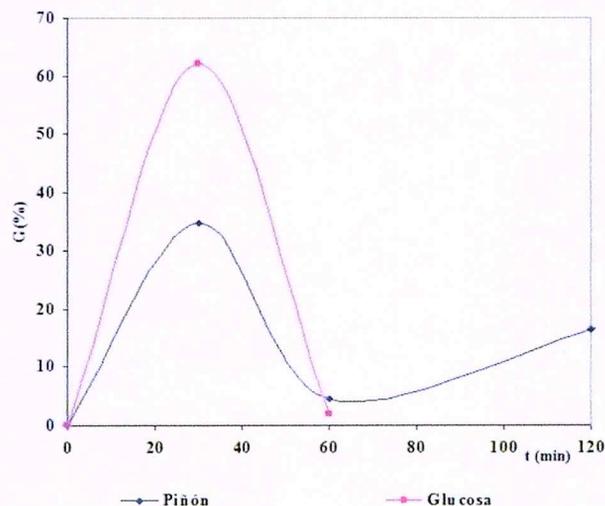


Fig. 7. Digestibilidad del almidón

El porcentaje de glucosa de la harina PCO a los 90 minutos es del 8% mientras que la glucosa pura no presenta datos a éste tiempo (se absorbió casi completamente a los 60 minutos), lo que indica que los carbohidratos de la harina son de absorción lenta. Sin embargo, el índice glucémico a los 120 minutos (área bajo la curva) de la ingesta del piñón PCO fue de 91, lo que demuestra que la digestibilidad del piñón (PCO) "in vivo" fue mucho mayor (tres veces más) que la hidrólisis enzimática "in vitro". Este valor clasifica al piñón cocido PCO dentro de los alimentos de índice glucémico alto (más de 70), es decir, es un alimento energético adecuado cuando el organismo necesita calorías de consumo lento.

1.4. Solubilidad de las proteínas

El contenido de proteínas totales en el piñón fue de 7,5% bs, resultado similar a Henríquez y col. (2008). Para evaluar las características morfológicas de las proteínas presentes en la semilla, se determinó la solubilidad de las mismas en diferentes medios. Las proteínas globulares son solubles en agua o en buffer de pH 8, en medio salino se pueden separar albúminas y globulinas y las prolaminas son solubles en medio alcohólico. Observando la tabla 5, se puede inferir que el 55,9% de las proteínas totales presentó un comportamiento similar a las proteínas globulares (31,6% solubles en álcali y 24,3% solubles en agua). Por otro lado, el 27,8% pudieron corresponder a albúminas y globulinas y el 16,3% a prolaminas.

Tabla 5. Solubilidad de las proteínas del piñón

Medio de extracción	Proteína solubilizada (%)
AD	24,3
NaCl (0,5 M)	27,8
Etanol (70%)	16,3
NaOH (0,1M) pH: 8	31,6

Para ilustrar estos resultados se realizó una electroforesis de los distintos extractos de cada medio de extracción utilizado, encontrando en todos los casos el mismo perfil electroforético, variando sólo en la intensidad de las bandas.

En la Fig. 8 se logran diferenciar tres bandas, que por el tipo de movilidad, se puede afirmar que la primera (de bajo peso molecular pero de mayor intensidad en el color) corresponde a albúminas, la segunda a globulinas y la tercera probablemente a

prolaminas y gluteninas (la segunda y tercer banda aparecen con menor coloración pero son de pesos moleculares mayores).

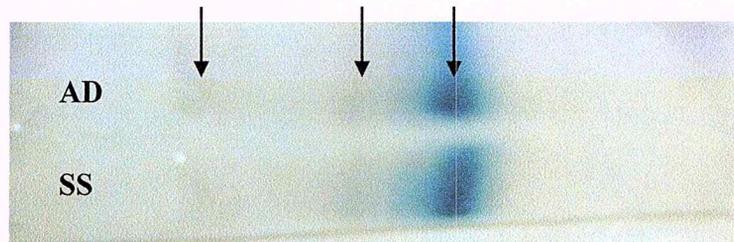


Fig. 8. Electroforesis de las proteínas del piñón.
(AD: agua destilada; SS: solución salina)

1.5. Reactividad inmunológica de las prolaminas

Las prolaminas son proteínas de almacenamiento que se encuentran en diferentes granos. Se clasifican en gluteninas, proteínas poliméricas de alto peso molecular, solubles en soluciones débilmente ácidas o alcalinas, y las gliadinas, que son monoméricas de bajo peso molecular y soluble en soluciones alcohólicas.

En algunos cereales (trigo, avena, centeno y cebada), estas proteínas presentan una propiedad muy importante desde el punto de vista de la funcionalidad, forman el gluten (complejo proteico) con un desempeño muy importante en la elaboración del pan (Vega Ruiz, 2009).

Nutricionalmente, son responsables de la enfermedad celíaca, enteropatía crónica de origen autoinmune, que se desencadena por una intolerancia permanente al gluten de los cereales mencionados (TACC). Una característica de la enfermedad es el desarrollo de anticuerpos contra sustancias antigénicas propias (reticulina, transglutaminasa, etc.) y externas (gliadina). La condición indispensable para que desaparezcan los síntomas es una dieta libre de gluten, con la exclusión de esos cereales (Ellis y col., 1998). Algunos estudios pequeños (a corto plazo) y casos aislados indicaron que esta dieta si es estricta y continuada, también ayudaría en la terapia de otras enfermedades autoinmunes asociadas (dermatitis herpetiforme, enfermedades tiroideas autoinmunes, esclerosis múltiple, etc.) y que mostraron, no en todos los casos, mejoría en los síntomas de los pacientes tratados (mayormente en donde se aplicó de forma temprana la dieta en niños y adolescentes) (Polanco Allué y col., 2008; Márquez y col., 2001; Cruchet y Verbeke, 2003; Lahoz y col., 2011; Lahoz y Rodrigo, 2012; Martín y col., 2014).



En la harina del piñón se analizó la reactividad de las prolaminas, resultando negativa la reacción al enzimoimmunoensayo competitivo con anticuerpos policlonales (Chirido y col., 1995), lo que indica que esta materia prima podría ser apta para individuos que presenten la enfermedad. A pesar de ello, si se tiene en cuenta el porcentaje de prolaminas que es superior a 10 ppm (mg/kg), en caso de que presentaran propiedades inmunoreactivas, no se la puede considerar una harina libre de TACC (C.A.A., Cap. XVII, art. 1383).

1.6. Otros nutrientes de interés

En el análisis composicional del piñón se destacaron otras características nutricionales de interés, como el bajo contenido lipídico (0,73% bs), la presencia de fibras (2,20% bs) y el alto contenido de cenizas minerales (2,53% bs), de los cuales el 84% son solubles en agua. De acuerdo a Conforti (2009), el mineral en mayor proporción sería potasio (1890 mg/100g) y en menor cantidad, sodio (257 mg/100g).

2. Elaboración de las galletitas a base de harina de piñón

Con el objetivo de encontrar una aplicación a la materia prima analizada, se formularon galletitas de buena calidad nutricional para individuos que requieren dietas especiales, reemplazando la harina de los cereales no aptos para celíacos (TACC) por la harina del piñón crudo o cocido. Los productos elaborados se evaluaron sensorialmente analizando los atributos de color, aroma, sabor y textura, aplicando un Test de preferencia.

2.1. Ensayo en pequeña escala

En los ingredientes de las cuatro formulaciones utilizadas en las galletitas (ver MM 2.5.), se puede observar que entre las variantes se utilizó harina de piñón, de diferente procesamiento y distintos endulzantes (azúcar o mezcla azúcar/miel). En el caso de las harinas, se evaluó la influencia del pretratamiento realizado al piñón en la percepción del consumidor, la harina de piñón cocido presentó menor granulometría para el mismo proceso de molienda. En cuanto a los azúcares, se buscó evaluar el efecto que produce la incorporación de un endulzante como la miel, que introduce humedad a

la masa y tiene mayor poder edulcorante, sobre las características sensoriales de las galletitas (www.inti.gob.ar).

2.2. Evaluación sensorial de las galletitas

En la tabla 7 se muestran los resultados obtenidos del análisis sensorial de las galletitas elaboradas a base de harina de piñón. En el Test de ranking por preferencia realizado, el puntaje más bajo (1) corresponde a la muestra de mayor preferencia, mientras que el más alto (4), se le da a la muestra de menor preferencia. La galletita preferida por los evaluadores fue la 454 y los caracteres que tuvieron en cuenta para su elección fueron el color, el sabor y la textura resaltando un buen balance entre los atributos elegidos, con un sabor delicadamente dulce pero ácido y con una textura suave y agradable.

Tabla 7. Análisis sensorial de los atributos de las galletitas

MUESTRAS	COLOR	AROMA	SABOR	TEXTURA	PREF. GLOB.
833	41 ^{ab}	31 ^a	35 ^a	37 ^a	35 ^a
454	24 ^a	36 ^a	24 ^a	34 ^a	26 ^a
632	46 ^b	39 ^a	51 ^b	41 ^a	48 ^b
728	39 ^b	41 ^a	40 ^{ab}	38 ^a	40 ^b

Los efectos individuales se analizaron mediante el test de Friedman. Las sumatorias dentro de las filas que presentan letra minúscula en superíndice diferente son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Relación entre el análisis sensorial y parámetros nutricionales de calidad:

Se encontró una correlación positiva entre la evaluación sensorial y la calidad nutritiva del alimento. La galletita elegida contenía en su formulación, harina de piñón crudo que incidió en la sensación gustativa del producto elaborado, confiriéndole cierta arenosidad, que fue mejor aceptada entre los evaluadores. Nutricionalmente, la harina del piñón crudo aportó mayor porcentaje de micronutrientes hidrosolubles y termolábiles que se perdieron en la harina de piñón cocido, durante el tratamiento térmico. La incorporación de miel, aumentó el dulzor de la muestra que equilibró la acidez del limón (Peynoud, 1980) y aportó nutrientes propios de la miel aumentando la calidad nutricional del producto final.

VI. CONCLUSIONES

- La harina de piñón resultó una materia prima de alto contenido energético con un importante aporte de almidones de asimilación lenta que fueron más hidrolizables al gelatinizar los gránulos con una cocción a ebullición, aumentando el índice glucémico. Los valores de índice glucémico de los alimentos son solamente datos orientativos que ayudan a predecir la respuesta glucémica de algunos alimentos y a evitar algunas hiperglucemias después de las comidas, esto se logra substituyendo alimentos de alto índice glucémico por otros de índice moderado (69 – 55) o bajo (menos de 54).
- El presente trabajo esclareció que la digestión ácida y enzimática “*in vitro*” no fueron eficaces en este proceso, sin embargo, la combinación de ambos factores que se realizan “*in vivo*”, permite un gran aprovechamiento de los hidratos de carbono de la semilla del piñón. No sería recomendable para diabéticos, pero sí para individuos sanos que requieran un aporte calórico (en forma de carbohidratos) acompañado de fibras, proteínas, minerales (con bajo niveles de sodio) y con bajo contenido de lípidos.
- En el estudio de las proteínas, si bien el mayor porcentaje de las mismas estaba conformado por albúminas y globulinas, presentó un contenido de prolaminas que resultaron inmunológicamente inactivas que resultan apropiadas para dietas especiales en el tratamiento de la EC y probablemente para otras patologías autoinmunes asociadas a ella.
- El análisis sensorial de las galletitas elaboradas con harina de piñón, libres de TACC, mostró una mayor aceptabilidad las formuladas con harina de piñón crudo que conservaron sus nutrientes, y miel, que le dio mayor humedad a la preparación y mayor poder edulcorante que neutralizó la acidez del limón incorporado como saborizante.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Agudelo-Botero M., Dávila- Cervantes C. (2015). “Carga de la mortalidad por diabetes mellitus en América Latina 2000-2011: los casos de Argentina, Chile, Colombia y México”. Instituto Nacional de Geriatria junto con la Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales (FLACSO). México D. F.
- Alberti KGGM, Aschner P., Assal J. P., Bennett P. H., Groop L., Jervel J. y col. (1999). “Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications”, Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO consultation. Department of Noncommunicable Disease Surveillance. Geneva, Switzerland.
- Albornoz López R., Pérez Rodrigo I. (2012). “Nutrición y síndrome metabólico” en: Nutrición clínica y dietética hospitalaria, volumen 32, N° 3, pp. 92-97.
- Alvez G., Previgliano A., Russo M. A. (2015). “Desarrollo de scones elaborados con harina de piñón, aptos para celíacos”. Trabajo final de licenciatura presentado ante el Instituto Universitario de Ciencias de la Salud, Fundación H. A. Barceló. Capital Federal, Argentina.
- Anesto J. B. (2002). “Consumir azúcar con moderación” en: Revista Cubana de Nutrición y Alimentación, volumen 16, N° 2, pp. 142-145.
- Aranciaga G. (2012). “Vainillas elaboradas con harina de piñón”. Tesis de licenciatura presentada ante la Universidad FASTA.
- Arranz E., Garrote J. (2009). “Inmunología de la enfermedad celíaca” en: Gastroenterología y hepatología, volumen 33, N° 9, pp. 643-651.
- Arteaga Llona A. (2006). “El índice glicémico. Una controversia actual.” en: Nutrición Hospitalaria, volumen 21 (Supl. 2), pp. 55-60.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC, 1990). Official Methods of Analysis.
- Badui Dergal S. (2012). “Química de los alimentos”. 5ta edición. México, Editorial Pearson. 744 p.
- Bai J. C., Bottero A. J., González A. F., Litwin N., Martín G. T., Martínez S. M. y col. (2011). “Guía de práctica clínica sobre diagnóstico y tratamiento de la enfermedad celíaca en el primer nivel de atención”. Guía aprobada por la Resolución N° 561/2011, Ministerio de Salud de la Nación. Bs As., Argentina.
- Barragán H. L., Moiso A., Mestorino M., Ojea O. (2007). “Fundamentos de la salud pública”. Buenos Aires. Editorial UNLP. 686 p.

- Barrios A., Barán Wasilchuk M. T., Cabello Á., Cañete F. (2015). “Manual de manejo de enfermedades crónicas no transmisibles, desde la atención primaria de salud”. 2da edición. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Dirección de Enfermedades Crónicas No Transmisibles. Programa Nacional de Diabetes. Programa de Prevención Cardiovascular. Programa de Enfermedades Respiratorias Crónicas. Paraguay. 73 p.
- Berruezo G. R. (2002). “Hidratos de carbono. Evidencias y potenciales usos de los hidratos de carbono para la alimentación y la salud humana”. Departamento de tecnología de alimentos, nutrición y bromatología. Universidad de Murcia. pp. 3-17
- Brand-Miller J., Hayne S., Petocz P., Colagiuri S. (2003). “Low-glycemic index diets in the management of diabetes. A meta-analysis of randomized controlled trials” en: *Diabetes Care*, Volume 26, Number 8, pp. 2261-2267.
- Calvo Romero C. (2013). “Conceptos actuales en enfermedad celíaca” en: *Boletín de Pediatría*, volumen 53, N° 224.
- Carmona García R. (2005). “Efecto del tipo de remojo en la digestibilidad del almidón en frijol cocido”. Tesis de posgrado presentada ante el Instituto Politécnico Nacional - Centro de desarrollo de productos bióticos. Yautepec, Morelos, México.
- Casellas F., López Vivancos J., Malagelada J. R. (2006). “Current epidemiology and accessibility to diet compliance in adult celiac disease” en: *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, volumen 98, N° 6, pp. 408-413.
- Catassi C. (2005). “El mapa mundial de la enfermedad celíaca” en: *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, volumen 35, N° 1, pp. 46-55.
- Chébez J. C. (2005). “Guía de las reservas naturales de la Argentina. Patagonia norte”. 1era edición. Buenos Aires. Editorial Albatros. Tomo 1, 192 p.
- Chirido F. G., Añón M. C., Fossati C. A. (1995). “Optimization of a competitive ELISA with polyclonal antibodies for quantification of prolamins in foods” en: *Food & Agricultural Immunology*, number 7, pp. 333-343.
- Código Alimentario Argentino (1969). Ley 18284/69. Artículo 921 (Resolución conjunta SPReI N° 169/2013 y SAGyP N° 230/2013), Capítulo XI, Alimentos vegetales (actualización al 01/2017); Artículo 1339 (Resolución conjunta SPReI N°94/08 y SAGPyA N° 357/08) y 1383 - (Resolución conjunta SPReI N°131/2011 y SAGyP N° 414/2011), Capítulo XVII, Alimentos de régimen o dietéticos (actualización al 03/2013).

- Comino I., Real A., Moreno M. L., Cebolla A., Sousa C. (2013). “Detección de la fracción inmunotóxica del gluten: aplicaciones en seguridad alimentaria”. En: Rodrigo L. y Peña A. S., editores. “Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca”. Barcelona, España: OmniaScience. p. 433-445.
- Conforti P. (2009). “Obtención y caracterización de productos de panadería con componentes regionales y de alto valor nutricional”. Tesis doctoral presentada ante la UNLP.
- Correa L. (2014). “Estudio y elaboración de un producto artesanal a base de piñón de *Araucaria araucana* y evaluación de su aceptabilidad”. Tesis de tecnicatura presentada ante la UNCo.
- Cruchet M. S., Verbeke P. S. (2003). “Dieta libre de gluten y disminución del riesgo de asociación de enfermedades autoinmunes en el paciente celíaco” en: Revista Chilena de Nutrición, volumen 30, N° 2.
- Ellis H. J., Rosen-Bronson S., O’Reilly N., Ciclitira P. J. (1998). “Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a coeliac toxic peptide of a gliadin” en: Gut, vol. 43, number 2, pp. 190-195.
- Falcón V. M .R., Barrón H. J. M., Romero B. A. L., Domínguez S. M. F. (2011). “Efecto adverso en la calidad proteica de los alimentos de dietas con alto contenido de fibra dietaria” en: Revista Chilena de Nutrición, volumen 38, N° 3, pp. 369-375.
- Ferrante D., Linetzky B., Konfino J., King A., Virgolini M., Laspiur S. (2011) “Encuesta nacional de factores de riesgo 2009: evolución de la epidemia de enfermedades crónicas no transmisibles en Argentina. Estudio de corte transversal” en: la Revista Argentina de Salud Pública, volumen 2, N°6, pp. 34-41.
- Frenk Baron P., Márquez E. (2010). “Diabetes mellitus tipo 2 en niños y adolescentes” en: Medicina Interna de México, volumen 26, N° 1, pp. 36-47.
- Gómez Candela C., Cos Blanco A. I. (2001). “Nutrición en atención primaria”. Madrid, España; Editorial Novartis. 230 p.
- Goñi I., García-Alonso A., Saura-Calixto F. (1997). “A Starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index” en: Nutrition Research, vol. 17, pp. 427-437.

- Haro Pérez A. O. (2004). "Elaboración de una mezcla de miel crema de abeja (*Apis mellifera* L.) con harina de piñones de *Araucaria araucana* ((Mol) K. Koch)". Tesis de licenciatura presentada ante la Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Henríquez C., Escobar B., Figuerola F., Chiffelle I., Speisky H., Estévez A. M. (2008). "Characterization of piñón seed (*Araucaria araucana* (Mol) K. Koch) and the isolated starch from the seed". *Food Chemistry*, vol. 107: pp. 592-601.
- Hernández-Lahoz C., Mauri-Capdevila G., Vega-Villar J., Rodrigo L. (2011). "Neurogluten: patología neurológica por intolerancia al gluten" en: *Revista de Neurología*, volumen 53, N° 5, pp. 287-300.
- Hernández-Lahoz C., Rodrigo L. (2012). "Trastornos relacionados con el gluten y enfermedades desmielinizantes" en: *Medicina Clínica (Barc.)*, N° 2269, 6 p.
- Hernández-Romieu A. C., Elnecavé-Olaiz A., Huerta-Urbe N., Reynoso-Noverón N. (2011). "Análisis de una encuesta poblacional para determinar los factores asociados al control de la diabetes mellitus en México" en: *Salud Pública de México*, volumen 53, N° 1, pp. 34-39.
- Jenkins D. J., Wolever T. M., Taylor R. H., Barker H., Fielden H., Baldwin J. M. y col. (1981). "Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange" en: *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 34, number 3, pp. 362-366.
- Jenkins D. J. A., Kendall C. W. C., McKeown-Eyssen G., Josse R. G., Jay Silverberg B. S., Booth G. L. y col. (2008). "Effect of a low-glycemic index or a high-cereal fiber diet on type 2 diabetes. A randomized trial" en: *JAMA*, Volume 300, Number 23, pp. 2742-2753.
- Jiménez-Cruz A., Seimandi-Mora H., Bacardi-Gascon M. (2003). "Efecto de dietas con bajo índice glucémico en hiperlipidémicos" en *Nutrición Hospitalaria*, volumen 18, N° 6, pp. 331-335.
- Mancillas Adame M. G., Gómez Pérez F. J., Rull Rodrigo J. A. (2002). "Diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus, conceptos actuales" en: *Revista de Endocrinología y Nutrición*, volumen 10, N° 2, pp. 63-68.
- Márquez M., Polanco I., Alonso M., Mearin M. L., Ribes C., García M. D. y col. (2001). "Enfermedad celíaca. Manual del celíaco." Madrid, España. Editorial Gráficas Marte S.A. 148 p.



- Martín I. S. M., Garicano Vilar E., Collado Yurrutia L., Ciudad Cabañas M. J. (2014). “¿Es el gluten el gran agente etiopatogénico de enfermedad en el siglo XXI?” en: *Nutrición Hospitalaria*, volumen 30, N° 6, pp. 1203-1210.
- Matos-Chamorro A., Chambilla-Mamani E. (2010). “Importancia de la fibra dietética, sus propiedades funcionales en la alimentación humana y en la industria alimentaria” en: *Revista de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, volumen 1, N° 1, pp. 4-17.
- Meilgaard M. C., Carr B. T., Civille G. V. (2006). “Sensory evaluation techniques”. 4th edition. CRC Press. New York, United States of America.
- Molina-Rosell C. (2013). “Alimentos sin gluten derivados de cereales”. En: Rodrigo L. y Peña A. S., editores. “Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca”. Barcelona, España: OmniaScience. p. 447-461.
- Moscoso J. F., Quera P. R. (2015). “Enfermedad celíaca. Revisión” en: *Revista médica de Chile*, volumen 144, N° 2, pp. 211-221.
- Murillo S. (2012). “El índice glucémico de los alimentos” en: *Boletín Di@betes*, Artículo 47.
- Nettleton J. A., Steffen L., Ni H., Liu K., Jacobs D. R. Jr. (2008). “Dietary patterns and risk of incident type 2 diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)” en: *Diabetes Care*, Volume 31, Number 9, pp. 1777-1782.
- Olivares S., Zacarías I. (2013). “Estudio para revisión y actualización de las guías alimentarias para la población chilena”. Instituto de nutrición y tecnología de los alimentos (INTA). Universidad de Chile. Chile.
- O.M.S. (2004). “Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud”. 57ª Asamblea Mundial de la Salud; aprobación de la resolución WHA57.17.
- Pacheco de Delahaye E. (2001). “Evaluación nutricional de sopas deshidratadas a base de harina de plátano verde. Digestibilidad in vitro del almidón” en: *Acta Científica Venezolana*, volumen 52, pp. 278–282.
- Peynoud E. (1980). “Le gout du vin”. Éditeur: DUNOD, París. France.
- Pibernat Tornabell A. (2002). “Hidratos de carbono y diabetes. Los hidratos de carbono en la dieta del paciente diabético”. Unidad de nutrición y dietética, Hospital Universitario de Girona Doctor Josep Trueta. Girona. pp. 18-21.



- Pirone B.; Aguilera F.; Diez S.; Lujan M.; Schamme L.; De Michelis A. (2014). Evaluación morfológica de las semillas de *Araucaria araucana* y su respuesta a los tratamientos de cocción y deshidratación. Actas -V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICYTAC 2014). Córdoba, 2014 (ISBN 978-987-45738-5-8). Trabajo B 445.
- Polanco Allué I., Ribes Koninckx C., Rodrigo Sáez L., Riestra Menéndez S., Fonseca Capdevila E., Menchén Viso L. y col. (2008). “Libro blanco de la Enfermedad Celíaca”. Editorial ICM; Madrid, España. 157 p.
- Quintero Novoa D. F., Ramírez Rueda J. A. (2013). “Estudio del mecanismo de gelatinización del almidón de yuca”. Tesis de ingeniería presentada ante la Universidad de Los Andes. Bogotá, Colombia.
- Reyes Ramírez M. P., Morales González J. A., Madrigal Santillán E.O. (2009). “Diabetes. Tratamiento nutricional” en: Medicina Interna de México, volumen 25, N° 6, pp.454-460.
- Rodríguez Sáez L. (2010). “Enfermedad celiaca” en: Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud, volumen 34, N° 2, pp. 49-59. Madrid, España.
- Salas-Salvadó J., Bonada i Sanjaume A., Trallero Casañas R., Saló i Solà M. E., Burgos Peláez R. (2008). “Nutrición y dietética clínica”. 2da edición. Editorial M.a.s.s.o.n., 664 p.
- Salazar R., Soihet C., Méndez J. M. (2000). “Manejo de semillas de 100 especies forestales de América Latina”. Impreso por CATIE, volumen 1, 205 p. Turrialba, Costa Rica.
- Sastre Gallego A. (2003). “Fibra y prebióticos: conceptos y perspectivas” en: Gastroenterología y hepatología, volumen 26 (Supl. 1), pp. 6-12.
- Taha E., Casanova G., Navarro R. (2010). “Resultados y lecciones en producción, técnicas de poscosecha y desarrollo de productos a partir del piñón”. Proyecto de innovación en la VIII región del Biobío y IX región de La Araucanía. Serie de experiencias de innovación para el emprendimiento agrario. Fundación para la Innovación Agraria. Ministerio de agricultura. Chile.
- Thomas D. E., Elliott E. J., Baur L. (2007). “Dietas de bajo índice glucémico o baja carga glucémica para el sobrepeso y la obesidad” (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2007, N° 4.



- Torres y Torres N., Palacios-González B., Noriega-López L., Tovar-Palacios A. R. (2006). “Índice glicémico, índice insulínico y carga glicémica de bebidas de soya con un contenido bajo y alto de hidratos de carbono” en: Revista de Investigación Clínica, volumen 58, N° 5, pp. 487-497.
- Torres-Zapata A. E., Aparicio-Trápala M. A., Blé- Castillo J. L., Corzo-Sosa C. A. (2011). “Respuesta glucémica e insulínica de pacientes con diabetes tipo 2 al consumo de sopa de calabaza criolla (*Cucúrbita pepo L.*) enriquecida con almidón de banano” en: Información Tecnológica, Volumen 23, N° 2, pp. 71-86.
- Vega Ruiz M. C. G. (2009). “Proteínas de la harina de trigo: clasificación y propiedades funcionales” en: Temas de Ciencia y Tecnología, volumen 13, N° 38, pp. 27-32.
- Vicenti B, Amaral W., Meilleur B. (2004). “Desafíos de la ordenación de los recursos genéticos silvícolas para contribuir a la subsistencia, ejemplos de Argentina y Brasil”. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Roma, Italia. p. 115.
- Villagra A. A. (2010). “Almidón retrogradado en el tratamiento dietoterápico de la Diabetes Mellitus tipo 2”. Trabajo final de licenciatura presentado ante la Universidad de ISALUD.
- Wu L., Zhen W., Zhu J., Murad A. L., Prokop L. J., Murad M. H. (2015) “Dietary intake and risk of cancer and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis” en: Nutrition Reviews, Volume 73, Number 7, pp. 409-425.

Páginas de Internet

- http://museo.florachilena.cl/Niv_tax/Gimnospermas/Araucariaceae/Araucaria/Araucaria_araucana.htm
- www.eufic.org
- www.fao.org
- www.glycemicindex.com
- www.who.int
- www.industriaalimenticia.com
- www.medlineplus.gov



FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS DE LOS ALIMENTOS
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE

- www.msal.gob.ar
- www.northshore.org
- www.nutriwhitedietas.com



VIII. ANEXOS

ANEXO I

PRUEBA DE RANKING POR PREFERENCIA

NOMBRE:.....

EVALUADOR No:.....

FECHA:../../..

Ud. recibirá 4 muestras distintas de conserva de piñón. Por favor ordénelas según el orden de preferencia escribiendo el número de la muestra que más le gusta a la izquierda siguiendo hacia la derecha con las que le gusta menos respecto a los siguientes atributos:

◆ COLOR: Mire cada una de las conservas y según su color diga:

Gusta más

gusta menos

En relación a la que le gusta más diga por qué:.....

◆ AROMA: huela cada una de las conservas y según su aroma diga:

Gusta más

gusta menos

En relación a la que le gusta más diga por qué:.....

◆ SABOR: Llévese un piñón a la boca, saboréelo y diga:

Gusta más

gusta menos

En relación a la que le gusta más diga por qué:.....

◆ TEXTURA: Mientras saborea el piñón, evalúe su textura y diga:

Gusta más

gusta menos

En relación a la que le gusta más diga por qué:.....

◆ PREFERENCIA GLOBAL: Teniendo en cuenta todo lo anterior diga:

Gusta más

gusta menos

En relación a la que le gusta más diga por qué:.....



ANEXO II

ENCUESTA PARA CANDIDATOS A PANELISTAS

Por favor, complete y conteste el siguiente cuestionario.

1- Datos personales

Nombre y Apellido:

Edad:

Sector en el cual trabaja:

2- ¿Presenta algún problema de salud o reacción alérgica a algún alimento, que pueda afectarle al participar en paneles de evaluación sensorial?

.....

3- Marque con una cruz si sufre, muy a menudo, de las siguientes enfermedades:

- Alergias
- Bronquitis
- Dentales
- Resfríos
- Sinusitis
- Daltonismo
- Otras que puedan afectar los sentidos

4- ¿Es usted fumador?

- Si
- No

5- ¿Toma algún medicamento que puede afectar sus sentidos del gusto y olfato?

- Si
- No

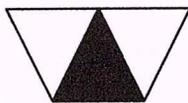
6- Los miembros de un panel entrenado no deben usar perfumes o cosméticos muy aromáticos los días de evaluación. Tampoco deben fumar una hora antes de la prueba. Está Ud. dispuesto a cumplir estas normas si es elegido como evaluador?

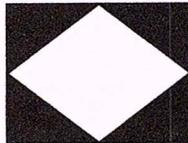
- Si
- No

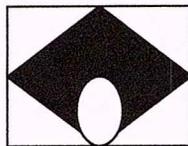
7- Marque sobre la línea la proporción de la superficie sombreada de cada figura teniendo en cuenta la siguiente escala:

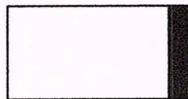
Nada	Poco sombreado				Moderadamente			Muy sombreado		
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

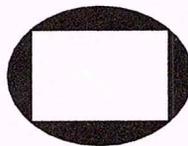




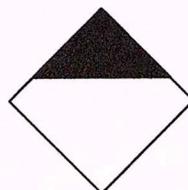












ANEXO III

Tabla A10 - Valores críticos para el método de Friedman (niveles 0.05 y 0.01)

Número de evaluadores, J	Número de muestras (o productos) P					
	3	4	5	3	4	5
	Niveles de significación $\alpha = 0,05$			Niveles de significación $\alpha = 0,01$		
2	--	6,00	7,60	--	--	8,00
3	6,00	7,00*	8,53	--	8,20	10,13
4	6,50	7,50*	8,80	8,00	9,30*	11,00
5	6,40	7,80	8,96	8,40	9,96	11,52
6	6,33*	7,60	9,49**	9,00	10,20	13,28**
7	6,00	7,62	9,49**	8,85	10,37	13,28**
8	6,25	7,65	9,49**	9,00	10,35	13,28**
9	6,22	7,81**	9,49**	8,66	11,34**	13,28**
10	6,20	7,81**	9,49**	8,60*	11,34**	13,28**
11	6,54	7,81**	9,49**	8,90*	11,34**	13,28**
12	6,16	7,81**	9,49**	8,66*	11,34**	13,28**
13	6,00	7,81**	9,49**	8,76*	11,34**	13,28**
14	6,14	7,81**	9,49**	9,00	11,34**	13,28**
15	6,40	7,81**	9,49**	8,93	11,34**	13,28**

Nota 3

- el método de Friedman contempla también el caso en que $P = 2$. Sin embargo, en tal situación es suficiente aplicar la distribución binomial (o su aproximación normal) al número de veces que una de las muestras es preferida a la otra, lo que se puede ver en la norma IRAM 20007;
- el factor F, puede tener sólo valores discontinuos, discontinuidad que es muy pronunciada para valores pequeños de (J, P). En consecuencia, no es posible obtener valores críticos que correspondan exactamente a los niveles de 5 % y de 1 %. Los valores marcados con un asterisco (*) en la tabla 3 corresponden a niveles algo mayores que 5 % y 1 %; los valores no marcados corresponden a valores menores que 5 % y 1 %.
- los valores señalados con un doble asterisco (**) son valores críticos obtenidos por medio de la aproximación según la distribución χ^2 .

