



ESTIMACIÓN DEL ÍNDICE GLUCÉMICO EN PRODUCTOS SIN GLUTEN ELABORADOS CON PSEUDOCEREALES

AUTOR: Brenda Anabel Loachamín Pillajo

TUTOR: Ana María Ferrer Mairal

ÁREA DE TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

17 de Diciembre del 2015

RESUMEN

Resultados de investigaciones recientes señalan la necesidad de mejorar la calidad nutricional de los productos sin gluten destinados a la población celiaca. En este sentido, los pseudocereales como el amaranto, la quinoa y el alforfón (trigo sarraceno) son ingredientes interesantes por su composición en carbohidratos complejos y fibra, elevada calidad proteica, y aporte de minerales y compuestos bioactivos. Además, se ha descrito que los pseudocereales presentan un efecto hipoglucemiante, siendo una alternativa adecuada para reducir el índice glucémico (IG) de los productos sin gluten suscitando o complementando a los cereales habitualmente utilizados. Sin embargo, las determinaciones del índice glucémico *in vivo* resultan costosas y suelen presentar un elevado grado de variabilidad. Por tanto, resulta de gran interés para el desarrollo de nuevos alimentos, la aplicación de test *in vitro* que permitan estimar el índice glucémico de forma rutinaria.

Como objetivo principal se pretende evaluar los efectos de la incorporación de pseudocereales a productos de panadería sin gluten sobre el índice glucémico de los mismos. También, profundizar en el concepto de índice glucémico de los alimentos y conocer la metodología que puede aplicarse para la determinación del mismo; investigar la evidencia científica sobre el papel de los pseudocereales como ingredientes saludables; y determinar mediante metodología *in vitro*, el índice glucémico de productos sin gluten elaborados con y sin pseudocereales (pan de arroz y almidón de maíz, pan de quinoa y pan de alforfón), cuyo procedimiento de análisis se llevó a cabo simulando los procesos de cada una de las fases que incluyen la digestión del alimento en estudio: la fase oral, gástrica e intestinal. Este procedimiento de análisis está basado en la digestibilidad de almidón, y ha sido determinado mediante una digestión multi-enzimática dentro de un tubo de diálisis seguido por el análisis de azúcares reductores liberados al permeado.

Los resultados muestran índices glucémicos de (91.24) para el pan de arroz y almidón maíz, de (78.66) para el pan de quinoa y (58.00) para el pan de alforfón. Dichos resultados correlacionan adecuadamente con los resultados de otros autores, obtenidos mediante metodología *in vivo* e *in vitro*.

ÍNDICE

Listado de abreviaturas.....	2
0. Antecedentes.....	3
1. Introducción.....	5
1.1. Índice glucémico.....	5
1.1.1. Significado del Índice glucémico.....	5
1.1.2. Importancia del índice glucémico.....	6
1.1.3. Índice glucémico y salud/enfermedad.....	7
1.2. Métodos de determinación del índice glucémico.....	8
1.2.1. Métodos <i>in vivo</i>	8
1.2.2. Métodos <i>in vitro</i>	10
1.3. Pseudocereales y su papel en los productos sin gluten.....	12
1.3.1. Características nutricionales.....	13
1.3.2. Aplicación de los pseudocereales en los productos sin gluten.....	15
2. Objetivos y diseños experimental.....	19
3. Material y métodos.....	21
3.1. Metodología para la revisión bibliográfica.....	21
3.2. Preparación de las muestras.....	21
3.3. Metodología de análisis del Índice glucémico.....	23
3.4. Análisis estadístico de los datos.....	24
4. Resultados y discusión.....	25
4.1. Resultados del estudio in vitro de la hidrólisis del almidón.....	25
4.2. Comparación de los resultados del estudio in vitro con artículos publicados.....	27
4.3. Discusión.....	29
5. Conclusiones.....	32
6. Bibliografía.....	33

LISTADO DE ABREVIATURAS

- IG: Índice glucémico
- EIG: Índice glucémico estimado
- CG: carga glucémica
- ISO: International Organization for Standardization
- AUC: Área bajo la curva
- IUAC: Incremento del área bajo la curva
- ECV: Enfermedad cardiovascular
- LDL: Low density lipoprotein (lipoproteína de baja densidad)
- DM2: Diabetes Mellitus tipo 2
- AENOR: Asociación Española de Normalización y Certificación
- WHO: World Health Organization (Organización Mundial de la Salud)
- FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas).
- HI: Índice de hidrólisis
- calcHI: Índice de hidrólisis calculado
- HPMC: Hidroxipropilmetilcelulosa
- DS: Desviación estándar
- C_{∞} : constante de equilibrio la
- k: constante cinética el índice de
- HCl: Ácido clorhídrico
- NaOH: Hidróxido de sodio
- TAC: Valores de hidratos de carbono totales disponibles
- CGF: Panes comerciales sin gluten
- RSR: Reducción de azúcares liberados

0. ANTECEDENTES

Una parte significativa de la población humana no tolera el gluten (enfermedad celiaca), una proteína encontrada en el trigo, centeno y cebada (Fosano, A. et al., 2012). El único tratamiento en este caso es una dieta libre de gluten (Green PHR, Cellier, C. 2007).

El trigo (*triticumaestivum*) es la excepcionalidad entre los cereales debido a la fracción proteica del gluten, que aporta una importante funcionalidad en la panificación, proporcionando propiedades viscoelásticas en la masa, buenas propiedades de retención de gas y una buena estructura en la miga de muchos productos a base de cereales como: pasta, productos de panadería, cereales de desayuno. (Gallagher et al., 2004a; Moore et al., 2004).

Con el fin de imitar las propiedades viscoelásticas del gluten, se han utilizado en los productos sin gluten harinas (maíz y arroz); almidones (maíz y patata) y otros ingredientes como gomas, enzimas y proteína basadas en otros ingredientes (Elke K. Cap. 13, 2008), por ejemplo la proteína de soja o de la leche, mejorando así su aceptabilidad estructural (Nicoletta Pellegrini and Carlo Agostoni, 2015), la sensación en la boca, la aceptabilidad y la vida útil de estos productos (Ylimaki et al., 1991; Gallagher et al., 2003; Moore et al., 2004; McCarthy et al., 2005; Lazaridou et al., 2007).

Tradicionalmente, el asesoramiento nutricional para la enfermedad celiaca se había centrado sobre los alimentos a evitar en una dieta libre de gluten, pero debió ser advertido sobre la calidad nutricional; porque el patrón de dieta sin gluten es a menudo caracterizada por una excesiva consumición de proteínas, y grasas, y una reducida ingesta de hidratos de carbono complejos, fibra dietética, vitaminas y minerales. Como consecuencia, de la unión de por vida a los productos sin gluten ha sido asociado a la desnutrición y a la deficiencia de minerales que favorece el desarrollo de anemia, osteoporosis u osteopenia (Matos Segura M.E. y Rosell CM, 2011).

Los productos sin gluten frecuentemente son elaborados usando harinas sin gluten refinadas o almidón y generalmente no son enriquecidas o fortificadas (Thompson T. 1999). Como consecuencia, muchos productos sin gluten elaborados a base de cereales no contienen los mismos niveles de vitamina del grupo B, hierro y fibra que los productos elaborados a base de cereales con gluten (Thompson T. 1999, 2000; Gallagher et al., 2003).

Además, la ausencia de gluten ha sido mostrada como un efecto en la digestibilidad del almidón, por consiguiente se ve incrementada la respuesta glucémica postprandial (Scazzina F et al., 2014).

Estudios anteriores (Jenkins DJA. et al., 1987; Berti C. et al., 2004) demostraron que los productos de panadería sin gluten tenían un valor de índice glucémico (IG) significativamente mayor en comparación con el pan blanco tradicional, tomado como referencia (cuyo índice glucémico es 100), debido a algunos factores, tales como: la naturaleza del almidón, la interacción almidón-proteína, la presencia de fibra y anti-nutrientes que pueden influir en el rango de la digestión del almidón. En un

estudio posterior se puede ver que el índice glucémico de los productos sin gluten se encuentra en valores superiores similares a los obtenidos en productos con gluten, es decir presentan índices glucémicos altos (Matos Segura M.E y Rosell CM., 2011).

Los alimentos de alto índice glucémico causan un rápido y alto incremento de glucosa en sangre, sin embargo los alimentos de índice glucémico bajo provocan una digestión lenta y causan un lento y bajo incremento de glucosa en sangre. (Pellegrini N et al., 2015; Wolter A, et al., 2013).

Con esta perspectiva y de acuerdo a la gran demanda existente de productos sin gluten a base de cereales, se han replanteado distintas formulaciones en la elaboración de productos sin gluten con el objetivo de reducir los valores de índice glicémico y obtener un producto de buena calidad tanto nutricional como sensorial.

Así pues, se ha visto incrementado el interés en productos a base de cereales sin gluten utilizando una mezcla harinas de arroz (*Oryza sativa*), maíz (*Zea mays*), teff (*Eragrostis tef*), sorgo (*Sorghumbicolour*), pseudocereales como la quinoa (*Chenopodium quinoa*), el amaranto y el alforfón (*Fagopyrum esculentum*) (Shophie Hager A. et al., 2012), no sólo porque la mezcla de estos ingredientes proporcionan unas buenas propiedades de panificación (alto volumen y textura de miga blanda), dicha propiedad es aportada por la presencia de un emulsionante natural en las harinas de pseudocereales (Hager AS. et al., 2012; Alvarez JL., et al., 2006, 2009, 2010). Sino también porque varios estudios realizados para la determinación del índice glucémico *in vivo* y la determinación de la digestibilidad del almidón *in vitro* con un posterior cálculo del IG en productos a base de cereales sin gluten, elaborados con pseudocereales muestran que la digestibilidad del almidón contenido en los pseudocereales es más baja que en aquellos productos a base de cereales con gluten y por consiguiente se obtienen índices glucémicos más bajos. (Wolter A et al., 2013; Collar C et al., 20014).

1. INTRODUCCIÓN

1.1 EL ÍNDICE GLUCÉMICO (IG)

1.1.1. Significado del índice glucémico (IG)

El IG se define precisamente por la norma ISO (International Organization for Standardization) ISO/DIS 26642: 2010.

El índice glucémico (IG) es una propiedad de los hidratos de carbono en diferentes alimentos (no una propiedad de los alimentos), específicamente es un índice de la medida en la que el hidrato de carbono disponible, en un alimento rico en hidratos de carbono, aumenta la glucosa en la sangre.

En el uso común, esta propiedad se conoce simplemente como el índice glucémico (IG) de los alimentos. Se define como el *área de incremento bajo la curva* de la respuesta de la glucosa en sangre (IAUC) provocada por una ración de 50 g (o en algunos casos 25 g) de hidratos de carbono disponibles en un alimento, expresada como el porcentaje de la respuesta glucémica, en el mismo sujeto, ante la ingesta de 50(o 25 g) del alimento de referencia (es decir, o bien una solución de glucosa o pan de trigo blanco, que se define, respectivamente, como la escala de la glucosa o la escala de pan) (Wolever TMS et al., 2003; Jenkins et al., 1981).

El área bajo la curva incremental (IAUC) se calcula para reflejar el aumento total de los niveles de glucosa en la sangre después de tomar la comida de prueba. El valor índice glucémico se calcula dividiendo el IAUC del alimento de ensayo por el IAUC del alimento de referencia y multiplicando por 100(Jennie Brand-Miller, Figura 1).

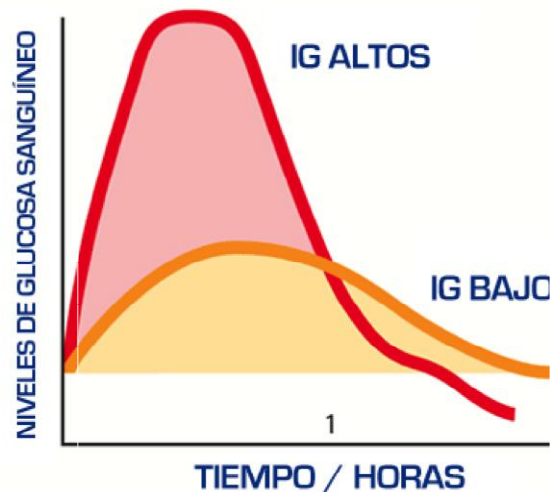


Figura 1 Niveles de glucosa en sangre inducidos por alimentos de alto y bajo índice glucémico.

El uso de un alimento estándar es esencial para reducir la influencia de confusión de las diferencias en las características físicas de los sujetos. La media de los valores resultantes de cada comida es el valor del IG para cada alimento.

Se trata de una propiedad de la propia comida, un índice o porcentaje que representa una calidad de alimentos ricos en carbohidratos.

Los alimentos según su índice glucémico (IG) pueden ser clasificados dentro de estas categorías: con bajo (<55, como las legumbres, los frutos secos, los productos lácteos y las pastas); con intermedio (55-70, el muesli, ciertos panes) y con alto IG (> 70 pan de trigo blanco) (Atkinson et al., 2008).

Los alimentos con bajo índice glucémico (IG) son aquellos que contienen hidratos de carbono que tienen un menor impacto en los niveles de glucosa en la sangre (respuesta glucémica), debido a que su digestión y absorción es más lenta. Al contrario ocurre con los alimentos de alto IG glucémico (IG), tienen un alto incremento de la glucosa en sangre (Brand-Miller et al., 2009). Cuando se combinan en las comidas, los alimentos con bajo IG producen menos fluctuación en los niveles de glucosa en sangre y de insulina que los alimentos con alto IG

La carga glucémica (CG) es el IG del producto y el total de hidratos de carbono disponibles en una determinada cantidad de alimento ($CG = IG \times \text{disponibles carbohidratos} / \text{cantidad dada de alimentos}$). Los hidratos de carbono disponibles pueden tener diferentes modos de expresión, por ejemplo: gramos (g) por porción, g por 100 g de alimento, g por día de ingesta, y g por 1.000 kJ o 1.000 kcal (1 kcal = 4,184 kJ). Por lo tanto, dependiendo del contexto en el que se utiliza la carga glucémica tiene unidades correspondientes de g por porción, g por 100 g de alimentos, y g por 1000 kJ o 1.000 kcal.

El valor clínico y práctico del IG continúa siendo estudiado y hay un creciente consenso de que hay beneficios para la salud cuando los alimentos con IG bajo reemplazan a los alimentos con IG alto en una dieta equilibrada (Rouns B et al., 2005; Augustin LSA et al., 2015).

1.1.2. Importancia del Índice glucémico

Al ingerir un alimentos que contiene hidratos de carbono empieza el proceso de la digestión que se inicia en la boca con la masticación y finaliza en el colon, pasando por un proceso de absorción del nutriente.

Dependiendo del tipo de hidratos de carbono ingerido tendrá lugar un proceso de digestión y absorción u otro. Los hidratos de carbono disponibles (alto IG) dan lugar a una digestión y absorción rápida, consecuencia de esto se produce un aumento de los niveles de glucosa en sangre (hiperglucemia) y da lugar a una rápida respuesta glucémica, mientras que los hidratos de carbono no disponibles (IG bajo) tienen una digestión y absorción lenta, retrasa la absorción de la glucosa en la sangre provocando una respuesta glucémica baja (se obtiene una reducción en la concentración en los

picos de insulina y demanda de insulina en general). Con lo cual se consigue mejoras en el control glucémico: demanda reducida de insulina, mejora del control de glucosa en sangre y reducidos niveles de lípidos en la sangre).

La presencia de glucosa en sangre desencadenan una serie de acontecimientos puestos en marcha por el sistema de control del organismo. Las células beta del páncreas detectan niveles de glucosa en sangre y comienzan a segregar insulina. La insulina es una hormona que participa en una serie de mecanismos, entre ellos, el control de glucosa, es el responsable de mantener los niveles de glucosa dentro de unos límites fisiológicos.

La ingesta de un alimento con un alto índice glucémico provoca elevados niveles de glucosa en sangre y, en respuesta, una hiperinsulinemia. La hiperinsulinemia se ha relacionado con el riesgo cardiovascular, tanto de forma independiente como por facilitar la aparición de otros factores de riesgo cardiovascular. Además, por diferentes vías, se ha asociado con un incremento en el riesgo de cáncer (Nubiola A et al., 2014). También aumentan el riesgo de la diabetes tipo 2 y la obesidad (Ludwig DDS., 2002; Liu SM., 2002; Ludwig DS., 2000). Es esta la razón que le da la importancia que tiene al IG.

1.1.3. Índice glucémico y salud/enfermedad

Dado que el concepto del índice glucémico fue presentado por Jenkins et al. en 1981, IG se ha relacionado con una variedad de condiciones/ estados y enfermedades tales como perfil lipídico anormal en sangre, enfermedades del corazón, obesidad, diabetes tipo 2, e incluso relacionada con la pérdida de visión con la edad.

Se ha observado que el consumo de hidratos de carbono de alto IG está asociado con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV); diabetes tipo 2; obesidad, debido a la hiperinsulinemia (Ludwig DDS, 2002); el riesgo de padecer cáncer de próstata (Hu J et al., 2013). La hiperinsulinemia puede aumentar el riesgo de enfermedad cardiovascular por la presión que afecta a la sangre, lípidos plasmáticos, factores de coagulación, mediadores de la inflamación, y la función endotelial, incluso en ausencia del síndrome de resistencia a la insulina (Ludwig D.D.S., 2002). La hiperinsulinemia, con el tiempo, también puede conducir a la resistencia a la insulina a través del incremento en la concentración de glucosa en sangre y por lo tanto también aumentan el riesgo de la diabetes tipo 2 y la obesidad (Ludwig DDS, 2002; Liu SM, 2002; Ludwig DS, 2000). La carga glucémica se asoció con el riesgo de padecer cáncer colorrectal y cáncer de páncreas (Hu J et al., 2013).

Por el contrario las dietas bajas en bajo índice glucémico puede tener implicaciones en la prevención y tratamiento de la enfermedades comentadas anteriormente como: la diabetes tipo 2, enfermedades coronarias y algunos cánceres.

Se ha demostrado en estudios clínicos que una dieta con bajo IG mejora el control glucémico en personas diabéticas, mejorar los lípidos séricos y otros factores de riesgo cardiovascular y, posiblemente, promueve la pérdida de peso (Jenkins DJ et al., 2008; Brand-Miller et al., 2003; Larsen TM et al., 2012-13; Jenkins DJ et al., 2012; Ball SD, 2003). En grandes estudios epidemiológicos, el consumo de dietas con bajo IG ha sido asociado con un menor riesgo de diabetes, enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer (Barclay AW et al., 2008; Ma XY et al., 2012; Hu J. et al., 2013).

Resultados recientes de ensayos clínicos promueve la utilidad del IG y CG (Ajala O. et al., 2013; Jenkins DJ. et al 2012). En estos estudios se puede comprobar que una dieta de bajo IG mejora el control glucémico y disminuye los factores de riesgo cardiovascular en la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) (Berti et al., 2004) y además se ha encontrado que una dieta baja carga glucémica mejorar el control de la glucemia y los lípidos en sangre (Jenkins DJ et al., 2014).

Estudios observacionales también han demostrado que en las personas que tienen una dieta habitual con un índice glucémico y carga glucémica baja se reduce los factores de riesgo cardiovasculares (Shikany JM et al., 2010).

En general dietas de bajo índice glucémico/carga glucémica muestran un efecto beneficio en los valores de glucosa en plasma (en particular durante el período post-prandial) y en los niveles de colesterol del plasma (LDL); esto se aplica tanto a las personas con diabetes y sin diabetes (Goff LM et al., 2013; Giacco R. et al., 2000; Parillo M. et al., 2011).

1.2. MÉTODOS DE DETERMINACION DEL ÍNDICE GLUCÉMICO

Estos métodos *in vitro* se basan en la estimación de las distintas velocidades de digestión del almidón o de la glucosa de los alimentos y su utilidad para la predicción del índice glicémico (IG). Sin embargo, no hay métodos reconocidos internacionalmente y ninguno ha sido adecuado para todos los tipos de alimentos

1.2.1. Método *in vivo*

Los procedimientos para la determinación del índice glucémico (IG) de los alimentos se basan en la norma ISO / DIS 26642 proporcionada por la Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR) (Granfeldt, 1994) y también en la revisión la bibliográfica de diversos autores (Wolever TM et al., 2003; Brouns. F et al., 2005; Brand-Miller JC et al., 2009).

El estudio del índice glucémico (IG) se lleva a cabo por la determinación de la respuesta glucémica (glucosa en sangre) en voluntarios sanos, con tolerancia normal a la glucosa, aunque en ocasiones se utiliza sujetos con diabetes. Se puede incluir hombres y mujeres no embarazadas, ni en periodo de lactancia, con edades comprendidas entre 18 y 75 años. Y se recomienda trabajar con 10 sujetos.

El procedimiento consiste en tomar muestras de sangre en ayunas mediante un pinchazo en el dedo de la mano en horarios de la mañana entre (07:00 y 09:30 a.m), después de haber pasado entre 10-14 horas de ayuno. A continuación, se les da a consumir la comida de estudio, que contienen 50 g (en ocasiones 25 g) de hidratos de carbono disponibles, y se les toma muestras de sangre por punción en el dedo de la mano a los 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos, contados a partir del inicio de la ingesta de la comida.

El área incremental bajo la curva se calcula para cada comida estudio testado utilizando el método trapezoidal y comparando con la media AUC (área bajo la curva) para el alimento de referencia en cada sujeto. La media de los valores resultantes de cada comida es el valor del IG para cada alimento.

Es importante tener en cuenta los factores que afectan a las respuestas glucémicas, afectarán a los valores obtenidos del índice glucémico. Algunos factores que podrían parecer muy importantes de controlar son: el tipo de sujeto estudiado (Brand-Miller et al., 2009; Vega Lopez et al., 2007); la comida tomada la noche anterior (Granfeld et al., 2006); el estrés, ejercicio realizado recientemente, consumo de alcohol y hábito de fumar, influyen la tolerancia a la glucosa y sensibilidad insulínica (Campbell et al., 2003); y el tipo de muestra de sangre, ya que puede tener un pequeño impacto sobre los resultados o tiende a hacer que los resultados sean peores. Los procedimientos recomendados por la FAO/WHO (1998) permiten la variación en el muestreo de sangre. Sin embargo, las recomendaciones actuales son que la sangre venosa capilar es preferida para determinar el IG porque las oscilaciones en la sangre venosa son mayores que en la sangre capilar.

La determinación en vivo del IG es costosa, ya que se necesitan 2 determinaciones para obtener el IAUC (área incrementada bajo la curva) para el alimento de referencia y dos determinaciones más para testear los productos. Además existe un elevado factor de variabilidad entre individuos lo que obliga a la selección de un elevado número de sujetos voluntarios para dichos estudios.

Esta metodología *in vivo*, al incluir humanos voluntarios conlleva implicaciones éticas y un elevado coste para una rutina de análisis. Para la determinación se requieren varias personas, cuyos niveles de glucosa en sangre se miden a intervalos regulares durante tres horas tras el consumo de una cantidad fija (50 g) de carbohidratos glucémicos. La superficie debajo de la curva se compara con la correspondiente a una carga de 50 g de glucosa, o preferiblemente 50 g de carbohidratos glucémicos procedentes de pan blanco.

Además de la complejidad de desarrollo de esta metodología, un estudio entre laboratorios (Wolever et al., 2003) determinó que para mejorar la precisión del método es necesario reducir la variación de la respuesta glucémica en una misma persona.

Por ello, es de especial interés el desarrollo de test de laboratorio *in vitro* que permitan estimar el potencial IG de los alimentos desarrollados (Burton et al., 2011). En los últimos años se ha recomendado la validación *in vitro* de este tipo de metodología (Miller Jones, 2007).

1.2.2. Método *in-vitro* de estimación del índice glucémico

Existen numerosos métodos de digestión de hidratos de carbono *in vitro* para analizar las propiedades glucémicas de los alimentos. Generalmente estos métodos logran simular los procesos de cada una de las fases que incluyen la digestión del alimento en estudio: la fase oral, gástrica e intestinal, pero la manera en el cual las condiciones fisiológicas son implementadas sobre los métodos difieren considerablemente. Algunas diferencias son en el modo de comunicación, inclusión y duración de la digestión gástrica, y la variedad de enzimas amilolíticas. La temperatura de incubación, el pH, la duración y el modo de estimulación también difieren entre métodos (Woolnough JW et al., 2008).

A la hora de seleccionar un método para el análisis *in vitro* del índice glucémico, deben tenerse en cuenta los siguientes aspectos.

Preparación de la muestra

En general, la muestra debe ser preparada tal y como va a ser consumida. Es decir, si se trata de pasta, debe cocinarse, los productos de panadería y pastelería, deberían ser procesadas como tal. Sin embargo, algunos estudios muestran que parece conveniente introducir las muestras de pan unos minutos previos en agua, con el fin de facilitar los procesos posteriores (Germaine et. al., 2008).

Las leguminosas y determinados alimentos que tienen tamaño de partículas grandes, cuando se evalúan con diferentes métodos *in vitro*, dan resultados variables.

Modo de degradación inicial

La masticación por personas como inicio de los test *in vitro* se ha propuesto como el método más apropiado para conseguir la ruptura similar a la producida *in vivo*. Sin embargo, y como en todos los casos en los que participan personas, es difícil garantizar la disponibilidad de estas personas y existe gran variabilidad por las diferencias fisiológicas de los individuos, por tanto, es necesario buscar alternativas a la masticación.

La ruptura mecánica, en cambio puede proporcionar un grado de ruptura inicial, similar a la de la masticación, pero con menor variación (Englyst et al., 1992).

Sin embargo, este sistema no permite la acción enzimática de las amilasas salivares, que si ocurre durante la masticación. Por tanto, existen métodos que proponen la adición de amilasas durante la reducción de tamaño de las muestras, pero no existe acuerdo al respecto.

Los panes integrales y las lentejas, triturados mecánicamente antes de la digestión han dado valores de digestibilidad más altas que los mismos alimentos que son chafados o masticados antes de la digestión *in vitro*, mostrando la importancia de la forma de preparación de la muestra antes de la realización de los ensayos *in vitro*.

Enzimas utilizados

Las diferencias en cuanto a los enzimas, se refieren al tipo de enzimas y al momento y condiciones en que son añadidas.

En la fase oral, pueden adicionarse amilasas salivares, cuando se utiliza una reducción de tamaño mecánica o no. En los productos derivados del pan, parece que no es necesaria dicha adición cuando se utilizan sistemas no restrictivos.

En la fase gástrica, en algunos casos, se recomienda la adición de pepsinas gástricas, con el fin de hacerlo más similar al proceso fisiológico digestivo, mientras que otros métodos no lo incluyen. En los casos en que se adicionan pepsinas, el tiempo de incubación, el modo de agitación y el pH son también variables según el método.

En la fase intestinal, lo que debe producirse es la hidrólisis de la muestra mediante amilólisis. Dependiendo del método *in vitro* del que se trate, esta hidrólisis puede producirse mediante amilasas o mediante pancreatinas, y utilizando concentraciones diferentes.

Otros métodos incluyen la adición de amiloglucosidasa.

La adición de una fase lipolítica también se ha propuesto en ocasiones, con el fin de simular el efecto de las sales biliares. Los métodos que incorporan pancreatina, que ya contiene una lipasa, incorporan esta lipólisis por defecto.

Otra diferencia es el tiempo de actuación que se deja a dichos enzimas hidrolíticos, que puede variar entre 20 y 180 minutos y la frecuencia con la que se extraen alícuotas para el análisis.

Uso de sistemas restrictivos y no restrictivos

Los sistemas restrictivos utilizan un sistema de diálisis para simular la absorción a lo largo del lumen intestinal, y se han propuesto como especialmente adecuados para aquellos alimentos que tienen fibras solubles viscosas, como las legumbres.

Sin embargo, se han hallado buenas correlaciones con los sistemas *in vivo* tanto con sistemas con diálisis como sin diálisis. En muchas ocasiones parece que la variabilidad que conlleva la realización de la diálisis, hace poco recomendable su realización.

Análisis de los datos

Los parámetros medidos, incluyen la tasa de digestión de carbohidratos; el almidón resistente; la hidrólisis de almidón; el almidón disponible, el almidón resistente; la fibra o el almidón total.

En cuanto al análisis de los datos, puede utilizarse:

- Porcentaje de hidrólisis directamente
- Puntos específicos de la curva de hidrólisis

- Índice de hidrólisis (HI), que se calcula como el área bajo la curva para el alimento problema expresado como un porcentaje del área correspondiente para el alimento referencia (pan blanco). Este enfoque se ha aplicado a sistemas de diálisis, con el que se han obtenido buenas correlaciones con el índice glicémico. Para sistemas no restrictivos, las ecuaciones para predecir el índice glicémico basadas en una ecuación de primer orden, han dado mejores correlaciones.

Las determinaciones del índice glucémico *in vivo* requiere la disponibilidad de personas para la medida clínica de la glucosa tras la ingesta del alimento y por tanto no es un método válido para el uso rutinario (Monro y Mishra, 2010) para el desarrollo de nuevos productos y control de calidad de los mismos, es por ello que resultan costosas. En cambio ha surgido un gran interés en la aplicación de un método *in vitro* que permitan estimar el índice glucémico de forma rutinaria para el desarrollo de nuevos alimentos.

El inconveniente que tiene es que aún no se ha adoptado un método universal estandarizado entre todas las numerosas opciones disponibles (Woolnough, 2008) y que probablemente por esta razón, existen en ocasiones desviaciones con las determinaciones realizadas *in vivo* (Brand-Miller y Holt, 2004; Brouns, 2005).

1.3. PSEUDOCEREALES Y SU PAPEL EN LOS PRODUCTOS SIN GLUTEN

Los pseudocereales, botánicamente, son un grupo de plantas que pertenecen al grupo de las dicotiledóneas y en comparación con los cereales que son monocotiledóneas. Pero producen semillas ricas en almidón, igual a los cereales.

Botánicamente la quinoa pertenece a la clase dicotiledónea, familia *Chenopodiaceae*, género *Chenopodium*, y especie quinoa. El género *Chenopodium* incluye aproximadamente unas 250 especies (Abugoch, JLE., 2009; Chamorro V et al., 2003). Entre quinoa existen variedades dulces y amargas que depende del contenido de saponinas (es decir, la variedad se considera que es una variedad dulce si el contenido de saponina está por debajo de 0,11%) (Koziol M et al., 1993).

El amaranto pertenece al orden *Caryophyllales*, familia *Amaranthaceae*, género *Amaranthus*, y la sección *Amaranthus* (Berghofer E 2002; Sauer JD. 1967). El género *Amaranthus* incluye cerca de 60 especies.

El alforfón o trigo sarraceno pertenece al orden *Polygonales*, familia *Polygonaceae* al género *Fagopyrum* (Berghofer E, 2002).

En cuanto al tamaño, el amaranto es un grano pequeño (de 1 a 1,5 mm de diámetro), de forma circular y cuyo peso por semilla es 0,6-1,3 mg (Bressani, 2003). El grano de quinoa es generalmente más grande que el amaranto, con un diámetro de 1-2,5 mm (Taylor and Parker, 2002). El grano de alforfón, también conocido como alforfón, es de forma triangular, 9.4 mm de largo y consta de cascara, spermoderm, endospermo y el embrión (Mazza y Oomah, 2003).

El amaranto y la quinoa son dos de los mejores cultivos para las culturas precolombinas en América Latina. Después de la conquista Española, el cultivo y la consumición de amaranto y quinoa fue interrumpido y después de ello continuó a pequeña escala. Desde que se reconoció que estos granos tienen buenas propiedades nutricionales, el interés se ha elevado nuevamente.

El alforfón es originario del centro de Asia y fue trasladado por nómadas a Europa central y del este. En el s. XIII el alforfón alcanzó más importancia en Alemania, Austria e Italia, de igual manera se perdió el cultivo de otros cereales.

Además, los pseudocereales no contienen gluten, lo que les permite ser incorporadas en dietas para celíacos. Por otra parte, esta falta de gluten hace que el procesamiento sea más difícil o, al menos, necesita adaptaciones específicas (Schoenlechner R et al., 2008).

1.3.1. Características nutricionales

En cuanto a la composición de los pseudocereales, en general son considerados como una buena fuente de fibra, minerales, proteínas de alto valor biológico, lípidos (ácidos grasos insaturados) y componentes bioactivos (polifenoles, fitoesteroles, saponinas, escualeno) (Zielinski and Koziol, 1992; Rúales and Naire, 1993; Steadman et al., 2001; Alvarez J et al., 2009; Valcarcel Y and Da Silva L, 2012).

Hidratos de carbono: almidón

Los hidratos de carbono son principalmente polisacáridos (almidón). Los monosacáridos y disacáridos se encuentran en pequeñas cantidades. Según revisiones bibliográficas se puede observar que el almidón en los pseudocereales generalmente se encuentra en cantidades más bajas en comparación con los cereales, el contenido de almidón en el amaranto está en un (61.4-67.3%), en la quinoa (64.2-69.0%) y en el alforfón (58.9-67.2%). En el caso del trigo se encuentra entre (61.0*-78.4) (Alvarez J et al., 2009; *Souci et al., 2000).

El contenido de amilosa de almidón de amaranto es menor que en otros almidones de cereales, con valores que varían de 0,1% a 11,1% (Schoenlechner R. et al., 2008).

Proteína

El contenido de proteínas en los pseudocereales es generalmente alto y de alto valor biológico en comparación con los cereales comunes como el trigo (Bressani, 1994, Koziol, 1992), y el amaranto presenta cantidades mucho mayores a la quinoa y el alforfón. Además, su contenido en aminoácidos es superior al de los cereales comunes (Drzewiecki et al., 2003).

Según la revisión bibliográfica llevada a cabo, el contenido de proteína se encuentra entre valores siguientes 15.2*-16.5% para amaranto, seguido de un 13.3*-14.5 % para la quinoa y un 10.9*-12.5%

para el alforfón. En comparación con el trigo (11*-14.3%) tienen un porcentaje mayor de proteínas (Alvarez J et al., 2009; *Souci et al., 2000).

Las proteínas están compuestas principalmente por globulinas (20%) y albúminas (40%), además contiene glutelina (25-30%) y no contienen ó contienen en pequeñas cantidades prolamina (2-3%), que es la principal proteína de almacenamiento en los cereales, y tóxicas en la enfermedad celiaca (Drzewiecki et al., 2003; Gorinstein et al., 2002). Por esta razón se consideran a los pseudocereales como granos sin gluten.

Fibra dietética

En general los pseudocereales son ricos en fibra dietética proporcionando así un efecto beneficioso para el salud (Champ et al., 2003). La fibra tiene los valores siguiente 20.6% en el amaranto, 14.2% en la quinoa y 29.5% en el alforfón, se puede comprobar que el contenido de fibra dietética es más alta en las semillas de trigo sarraceno en comparación con el amaranto y la quinoa.

Lípidos

El contenido en grasa en los pseudocereales es mayor en comparación a los cereales cuyo porcentaje se encuentra entre el (2.0*-2.3%). El amaranto contiene entre 5.7-8*%, la quinoa 5.2-7.5*% y el alforfón 2.1-2.7*%, siendo el amaranto y la quinoa mucho mayor que el alforfón. Hay que destacar que contienen principalmente ácidos grasos insaturados. El más abundante es el ácido linoleico, representando el 50% de los ácidos grasos totales en el amaranto y la quinoa, y aproximadamente el 35% en el alforfón; seguido de ácido oleico que representa el 25% en amaranto y quinoa y 35% en el alforfón; y ácido palmítico. La quinoa muestra un alto contenido de ácido α -linolénico (C18: 3 n-3), con valores que van desde 3,8% (Rúales y Nair, 1993) al 8,3% (Alvarez J et al., 2009), presentando beneficios para la salud, previene enfermedades cardiovasculares, cáncer, osteoporosis y enfermedades inflamatorias.

Vitaminas y Minerales

El amaranto contiene vitaminas del grupo B (riboflavina) (Berghofer and Schoenlechner, 2002); la quinoa aporta riboflavina, tiamina y ácido fólico (Taylor and Parker, 2002) y el alforfón aporta tiamina, riboflavina y piridoxina (Bonafaccia et al., 2003). Además, los pseudocereales son fuente de vitamina E, se encuentran en las siguientes cantidades en el amaranto, quinoa y alforfón (5,7, 8,7 y 5,5 mg/100 g) respectivamente, (Bruni et al., 2001; Ruales y Nair, 1993; Zielinski et al., 2001).

El pseudocereales amaranto, quinoa y alforfón son generalmente una buena fuente de minerales como el calcio, magnesio, zinc y hierro. Se muestra que el contenido de estos minerales es mayor en el amaranto, seguido de la quinoa y el alforfón (Alvarez J et al., 2009).

Compuestos bioactivos

El alforfón es una buena fuente de compuestos fenólicos (Gallardo et al., 2006 y Zielinski and Kozłowska, 2000), principalmente contiene glúcidos de la queratina flavonoide, seguidos de apigenina y luteolina (Dietrych S and Oleszek, 1999). La quinoa es también fuente de abundantes flavonoides: kaempferol, flavonoides y quercitina (Dini et al., 2004).

Según Klimczak et al., 2002), los principales compuestos fenólicos que se encuentran en las semillas de amaranto son el ácido cafeico, ácido hidroxibenzoico y ácido ferúlico.

Además, los pseudocereales contiene esteroides vegetales (fitosteroides), son otro grupo de componentes biológicamente activos presentes en los lípidos. Tiene efectos positivos para la salud: inhiben la absorción intestinal de colesterol total en plasma lo que reduce los niveles de colesterol y la lipoproteína de baja densidad (LDL) (Moghadasian and Frohlich, 1999). Y saponinas, que se encuentra en la quinoa en un porcentaje de 0,01 a 4,65% (Kozioł, 1992). Estas tienen efectos beneficios en la salud: son anticancerígenas, antimicrobianas, disminuye el colesterol, moduladoras del sistema inmune y anti-inflamatorias.

A continuación se presenta dos tablas, la primera de la composición nutricional del amaranto, quinoa y alforfón; y la segunda de la composición nutricional de un cereal (trigo).

Tabla 1: La composición de nutrientes del amaranto, quinoa y alforfón (Alvarez-Jubete et al., 2009; *Souci et al., 2000).

**Datos aportados por Souci et al., 2000.*

Grano	Proteína	Grasa	Hidratos de Carbono	Fibra dietética	Minerales
Amaranto	15.2*-16.5	5.7-8*	61.4-67.3*	20.6	2.8-3.2*
Quinoa	13.3*-14.5	5.2-7.5*	64.2-69.0*	14.2	2.6*-2.7
Alforfón	10.9*-12.5	2.1-2.7*	58.9-67.2*	29.5	1.9*-2.1

Tabla 2: Composición nutricional del trigo, expresado en porcentaje (Valcárcel B et al., 2012, *Souci et al.,

2000). *Datos aportados por Souci et al., 2000.

	Proteínas	Grasa	Hidratos de Carbono	Fibra dietética	Minerales
Trigo	11*-14.3	2.0*-2.3	61.0*-78.4	-	1.8*-2.2

1.3.2. Aplicación de los pseudocereales en los productos sin gluten

La gran demanda de productos sin gluten ha dado lugar a un estudio numeroso que tiene como objetivo la investigación de la aplicación de pseudocereales en productos sin gluten ricos en nutrientes tales como: pan, pasta y productos de confitería.

El amaranto, quinua, alforfón y se están convirtiendo cada vez más populares, debido a su mejora en cuanto a la calidad nutricional, mejora de las propiedades de panificación y la duración de los de los productos sin gluten a base de cereales elaborados con pseudocereales.

Una variedad de granos enteros sin gluten como los pseudocereales: amaranto, quinua y alforfón se han investigado cada vez más como ingredientes nutritivos en formulaciones sin gluten, son considerados como granos potencialmente libres de gluten con un excelente perfil de nutrientes. El grano de pseudocereal puede ser molido (harina) y utilizado como un ingrediente en diferentes mezclas para panqueques, pan, magdalenas, galletas, empanadillas, pasteles, galletas, pastas, postres, etc. (Lorenz K et al., 1991; Grobelenk MS. et al., 2009; Schoenlechner, 2010; Alvarez JL. et al., 2010; Hager AS., et al., 2012; Małgorzata W, et al., 2013; Bastos GM et al., 2015).

La producción de **panes** sin gluten ha sido ampliamente estudiado recientemente, dado que el pan es el alimento básico consumido diariamente en todas partes del mundo .

Uno de los principales déficits en calidad del pan sin gluten es su deficiente estructural debido a la mala propiedades de retención de gas que particularmente afectan el volumen del pan y de la densidad de la miga negativamente. Por ello, se estudiaron y evaluaron los aspectos tecnológicos (textura de la masa viscoelástica y las propiedades de horneado), la duración y las propiedades nutricionales relacionado a la aplicación de los pseudocereales como ingrediente en la elaboración de panes sin gluten.

Alvarez JL., et al., 2010: donde se muestra que los pseudocereales son considerados como granos potencialmente libres de gluten con un excelente perfil de nutrientes. Son fuente de energía debido a su contenido de almidón y proporcionan proteínas de buena calidad, fibra dietética y lípidos ricos en ácidos grasos insaturados. También contienen niveles adecuados de minerales, vitaminas y cantidades significativas de otros componentes bioactivos, tales como saponinas, fitoesteroles, escualeno y polifenoles.

Hager AS, et al., 2012: medición de parámetros tal como el volumen, la textura de la miga, actividad agua, duración del pan. sólo los panes elaborados con harina de avena eran de calidad similar al pan de trigo, y la utilización de trigo sarraceno, arroz, maíz, quinua, sorgo y teff harinas resultado en panes de calidad inferior. Un publicaion previa muestra que la utilización de harinas de pseudocereales es mejor que la harina del trigo, sus propiedades de panificación y características sensoriales son idóneas para la producción de panes sin gluten de alguna manera. Sin embargo, su utilización como parte de una compuesto formulación podría conducir a una mejora del producto.

Valcárcel B et al., 2012: tras una revisión bibliográfica se muestra los principales aspectos de amaranto y la quinua, y sus diferentes aplicaciones en la elaboración del pan, entre otros como: pasta y productos de panadería.

Wronkowska M, et al., 2013: se observó que conforme aumenta cantidad de harina de alforfón añadida en la elaboración de pan sin gluten aumenta el volumen del pan. Además, comparándolo con el pan control, el pan sin gluten de alforfón presentó un color más oscuro, miga blanda y se observó un retraso en envejecimiento mejorado.

Föste M et al., 2014: se investigó la sustitución de harina de arroz y de maíz por salvado de la quinoa. Demostrando así que pequeñas cantidades de salvado de quinoa mejora el volumen del pan, la firmeza de la miga y mejora la apariencia mejorando así la aceptación sensorial.

Machado Alencaraet NM et al., 2015: Estos resultados demostraron que es posible desarrollar panes sin gluten con pseudocereales y edulcorantes ya que dan propiedades sensoriales y físicoquímicas similares a los panes producidos con las formulaciones a base de almidón. El uso de amaranto, quinoa y edulcorantes ha demostrado ser eficaz en el desarrollo de los panes sin gluten. Esta investigación abre nuevas oportunidades para la industria de panadería sin gluten y sin sacarosa, que muestra las posibilidades de desarrollo de los panes sin gluten para un grupo de la población con necesidades especiales, como los celíacos, intolerantes al gluten, diabéticos, y / o en los dos.

Otra de las aplicaciones de los pseudocereales es en la elaboración de pasta sin gluten. Se han realizado varios estudios para encontrar fuentes alternativas para producir la **pasta** mediante la sustitución del trigo.

Schoenlechner, R., et al., 2010: investigaron el uso de amaranto, quinoa y alforfón para la producción de pasta sin gluten. Los resultados demostraron que la pasta producida a partir de amaranto había disminuido la firmeza de la textura y el tiempo de cocción, mientras que la pasta de quinoa mostró principalmente aumento de la pérdida de cocción. En la pasta de trigo sarraceno se observaron los menores efectos negativos. Pero una combinación de las tres harinas en una proporción de 60% de trigo sarraceno, 20% de alforfón y 20% de amaranto quinoa, mejoró la matriz de la masa.

Marti A. et al., 2013: Se resume cómo reemplazar la funcionalidad de gluten en la pasta, donde muestra haciendo referencia a varios autores, que la combinación de harinas amaranto, quinoa y alforfón, maíz, arroz, soja, o junto con la adición de albumina, emulsionantes y enzimas la mejora de la calidad nutricional de pasta, mientras se mantiene el buen comportamiento de cocción.

Islas-Rubio A.R., et al., 2014: donde que la sustitución de sémola de trigo por una mezcla de amaranto en su totalidad o parcialmente da lugar a pasta de mejora calidad de cocción y textura aceptable.

Bastos GM, et al., 2015: La adición de harina de la pulpa de patata y harina de amaranto para la elaboración de pasta fresca sin gluten ayudó a producir una pasta bien estructurada con buenas cualidades físicas y sensoriales (mejores características de color, se logra un color más amarillento

antes de la cocción y un menor tiempo de cocción, con lo cual pierde menos nutrientes por lixiviación).

Otra aplicación de los pseudocereales es productos de panadería, tras una revisión bibliográfica cabe destacar en este la elaboración de este tipo de productos los estudios son menos números en comparación del pan e inclusive de la pasta.

Sedej I et. al., 2011: se han investigado nuevas formulaciones para galletas saladas de alforfón sin gluten (refinados y cereales integrales) y se comparan con las galletas a base de trigo (refinados y cereales integrales). Se pudo observar que la adición de harina de alforfón aporta unas buenas propiedades sensoriales.

Torbica A, et al., 2012: se muestra que una mezclas de harina de arroz y harina de trigo alforfón da como resultado un sabor agradable y una aceptable calidad tecnológica (forma, estructura, y el aspecto). En la comparación de diferentes muestras con distintas cantidades de harina de alforfón se observa que con una adición del 20% de alforfón se obtuvieron mejores resultados a nivel sensorial.

2. OBJETIVO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

El **objetivo principal** de este trabajo es evaluar los efectos de la incorporación de pseudocereales a productos de panadería sin gluten sobre el índice glucémico de los mismos.

Como objetivos parciales, se proponen los siguientes:

- Profundizar en las bases del concepto de índice glucémico de los alimentos.
- Conocer la metodología que puede aplicarse para determinar el índice glucémico de los alimentos.
- Investigar la evidencia científica sobre el papel de los pseudocereales como ingredientes saludables en productos con y sin gluten.
- Determinar, mediante metodología *in vitro*, el índice glucémico de productos sin gluten elaborados con y sin pseudocereales.

Para la consecución de dichos objetivos, se propuso el diseño experimental que se muestra en la siguiente figura:



En primer lugar se realizó una revisión bibliográfica sobre el concepto del índice glucémico, su relación con la salud y sobre los diferentes métodos existentes, tanto *in vivo* como *in vitro*, para la determinación del índice glucémico (IG). En segundo lugar se ha realizado una revisión sobre las características nutricionales, sensoriales y tecnológicas de los pseudocereales y sus derivados, haciendo especial hincapié en su relación con el índice glucémico. También se han revisado los trabajos previos que señalan los efectos sobre los diferentes aspectos de la calidad de la incorporación de pseudocereales a productos sin gluten, así como los porcentajes de adición de estos pseudocereales a productos panarios.

Para la parte experimental del trabajo, fue necesario optimizar el método para la determinación del índice glicémico mediante un sistema *in vitro*. Posteriormente se elaboraron panes sin gluten con y sin adición de harinas de pseudocereales y se aplicó la metodología *in vitro* para la determinación del índice glucémico.

Los resultados obtenidos en este trabajo fueron comparados con estudios previos encontrados y se elaboraron las conclusiones.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. METODOLOGIA PARA LA REVISION BIBLIOGRÁFICA

Se ha realizado una revisión bibliográfica sistemática, para la cual, en primer lugar, se identificaron la terminología a estudiar y se seleccionaron las fuentes de información, utilizando en todos los casos, revistas científicas, actas de congresos, libros, tesis y páginas web.

Se utilizaron las bases de datos Web of Science, Science Directy Pubmed como principales fuentes de información.

Los resultados obtenidos fueron filtrados en función de su relación con el tema propuesto y su índice de impacto de la revista y el número de citas. Finalmente, las fuentes seleccionadas fueron analizadas y consideradas en el apartado de introducción y de discusión de la presente memoria.

3.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

3.2.1. Ingredientes del pan

Harina de arroz (Nomen, Spain) y almidón de maíz (Tereos-Syral); harina de alforfón (BauckHof, Alemania), harina de quinoa (Quinoa real, Anapqui, Bolivia), HMPC (hidroxipropilmetilcelulosa HMPC; metolose SFE 4000, ShinEtsu, Alemania). El aceite; la levadura fresca el azúcar y la sal se obtuvieron en un supermercado local.

3.2.2. Preparación del pan

Como *pan de referencia*, se utilizó un pan de trigo convencional, que fue elaborado con 2% de sal, 2% de azúcar, 3% de levadura y 63% de agua, expresado con respecto a un 100% de harina de trigo, según el procedimiento descrito en el trabajo de Hager et al., 2012.

El *pan sin gluten control* se elaboró con harina de arroz y almidón de maíz, mientras que los panes con pseudocereales se elaboraron adicionando harina de alforfón o harina de quinoa. Las diferentes formulaciones ensayadas se muestran en la tabla 3.

La cantidad de agua utilizada en el control y cada uno de los de los panes que contiene pseudocereal se mantuvo el mismo; la única diferencia en la formulación de los panes fue el tipo de harina utilizado como un material compuesto con harina de arroz. La masa libre de gluten se preparó de la siguiente manera. En primer lugar, se disolvió la levadura en agua a 35°C junto con el azúcar. Y se dejó reposar durante 10 minutos. A continuación, se mezclaron los ingredientes sólidos durante 1 min usando un equipo de amasado (Kenwood) a velocidad 1. Se añadió la levadura y el azúcar disueltos en agua y se amasó durante un minuto a velocidad 1. Tras arrastrar la masa de las paredes con una espátula, se amasó a velocidad rápida (nivel 4) durante 1,5 minutos más.

Tabla 3. Formulaciones de las muestras de pan sin gluten utilizadas en el estudio*.

Ingredientes	Pan Control sin gluten(g)	Pan con Alforfón (g)	Pan con Quinoa(g)
Harina de arroz	150		
Almidón de maíz	100		
Harina de pseudocereal		250	250
Aceite de oliva	5	5	5
Levadura fresca	7.5	7.5	7.5
Azúcar	5	5	5
Sal	5	5	5
HPMC	1.9	1.9	1.9
Agua (mL)	225	225	225

La masa se distribuyó en moldes metálicos rectangulares, que se introdujeron en el fermentador automático (Iverpan FC-22, Salva, Spain). Se dejó fermentar durante 75 minutos a 30°C y 80% de humedad relativa.

Los panes se hornearon a 190 °C durante 45 minutos en un horno (Salva, España), tras lo cual se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 2 horas y se almacenaron en bolsas herméticas, durante 24 horas, hasta su análisis.

Los panes elaborados se muestran en las imágenes 1, 2, y 3.

Imágenes 1, 2 y 3. Panes elaborados para la realización del estudio

Pan control



Pan de alforfón



Pan de quinoa



3.3. Metodología de análisis del índice glicémico *in vitro*.

La digestibilidad de almidón *in vitro* se evaluó de acuerdo con Brennan y Tudorica (2008) por una digestión multi-enzimática dentro de un tubo de diálisis seguido por el análisis de azúcares reductores liberados al permeado.

Alícuotas de 4 g de pan se agitaron con 20 ml de tampón de fosfato sódico potásico (pH 6,6). Se ajustó el pH a 1,5 (HCl 8 M) y se añadió 5 ml de solución de pepsina (pepsina 115 U ml⁻¹, EC 3.4.23.1, 674 U mg⁻¹ sólido, Sigma Aldrich, Irlanda).

La mezcla se incubó durante 30 min a 37 °C. Después, el pH se reajustó a 6,9 con NaOH 6 N y se añadió 1 ml de solución alfa-amilasa pancreática porcina (alfa-amilasa 110U ml⁻¹, EC 3.2.1.1, 22 U, mg⁻¹ sólido, Sigma Aldrich, Irlanda).

La mezcla se llenó hasta 50 ml (añadimos 20 ml de tampón fosfato) y luego se transfirió a tubos de diálisis (peso molecular de corte de 11.331 Da, Sigma Adrich, Irlanda).

Se añadieron perlas de vidrio para imitar movimientos peristálticos.

Los tubos de diálisis se colocaron en vasos de precipitados de vidrio que contienen 450 ml de tampón de fosfato sódico potásico (pH 9,6) y se incubaron durante 300 min a 37 °C.

Los tubos se invierten cada 15 min.

Cada 30 min, alícuotas de 1 ml de dializado se retiraron y el volumen fue reemplazado cada vez con 1 ml de tampón fosfato sódico potásico.

El contenido de azúcares reductores de los dializados retirados se determinó utilizando el método de ácido 3,5 dinitrosalicílico.

Para ello, 100 µl de dializado junto con 100 µl de 3,5 -ácido dinitrosalicílico (DNS) de reactivo se hirvieron durante 10 min.

Los tubos de reacción se enfriaron inmediatamente en hielo y se diluyeron con 1 ml de H₂O destilada.

Se midió la absorbancia a 546 nm.

Se preparó una curva estándar utilizando maltosa (Sigma Aldrich, Irlanda).

La disolución de DNS se preparó mediante la combinación de:

- Solución A (10 g de polvo de ácido 3,5 dinitrosalicílico en 200 ml de NaOH 2 N).
- Solución B (300 g de tartrato de potasio sódico tetrahidratado en 500 ml de agua destilada) y ajustando el volumen a 1 l con agua destilada.

Las siguientes ecuaciones se utilizaron para el cálculo de la reducción de azúcares liberados % (RSR) (fragmentos dializados de almidón digerido más azúcares reductores nativos calculados equivalentes de maltosa como porcentaje del total de hidratos de carbono disponibles en 4 g de muestra), área de índice de hidrólisis (HI) (en virtud la curva de 0 a 180 min como un porcentaje de la zona correspondiente del pan de trigo blanco de referencia) y el IG predicho:

$$\% \text{ RSR} = A_{\text{muestra}} \times 500 \times 0.95 / A_{\text{maltosa}} \times \text{carbohidratos} \times 100$$

donde

A_{muestra} = absorbencia de la muestra a 546 nm

A_{maltosa} = absorbencia de la solución que contiene maltosa (1 mg/ ml)

Carbohidrato = mg de almidón y azúcares contenidos en 4 g de muestra (1326 mg/ 4 g de pan de trigo; 762 mg/4 g de trigo, 836 mg/4 g teff y 764 mg/4 g de pasta de avena)

500 = volumen total (ml)

0.95 = factor de conversión de maltosa a almidón

El índice de hidrólisis (HI) fue calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\text{HI} = \text{AUC (0-180 min) muestra} / \text{AUC (0-180 min) pan trigo} \times 100$$

Donde

AUC = Área bajo la curva (Area Under Curve).

Y por último, el índice glucémico estimado, se calculó mediante la siguiente fórmula, descrita por Grandfellt et al., 2006):

$$\text{eGI}_{\text{HI}} = 0.862 \times \text{calCHI} + 8.198$$

Para los cálculos se ha considerado que el pan de referencia es el pan de trigo, descrito en el apartado de preparación de las muestras, presenta un valor de eIG de 100.

3.4. Análisis estadístico de los datos

Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando el programa SPSS Statistics v.22 para el método *in vitro*. Los datos del IG obtenidos de las tres muestras (pan de harina de arroz y almidón de maíz; pan de harina de alforfón y pan de harina de quinoa) son expresados a continuación, en el apartado siguiente, como medias del IG.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados del estudio *in vitro* de la hidrolisis del almidón

La tabla 4 muestra la constante de equilibrio (C_{∞}), la constante cinética (k), el índice de hidrolisis calculado (calcHI) y el índice glucémico estimado (eIG) para las 3 muestras de panes sin gluten (pan harina de arroz y almidón de maíz, pan de alforfón y pan de quinoa).

Tabla 4. Constante de equilibrio ($t180$), constante cinética (k), índice de hidrolisis calculado (calcHI), e índice glucémico esperado (eIG) para los tipos de panes.

Muestra	C_{∞}	K	CalcHI	EIG
Media del pan de harina de arroz y almidón de maíz	25,03	1,14	93,86	91,24
Media del pan de alforfón	9,17	0,33	33,32	58,00
Media del pan de quinoa	19,35	0,37	70,95	78,67

La figura 2 muestra los valores de área bajo la curva (AUC) para las tres muestras estudiadas.

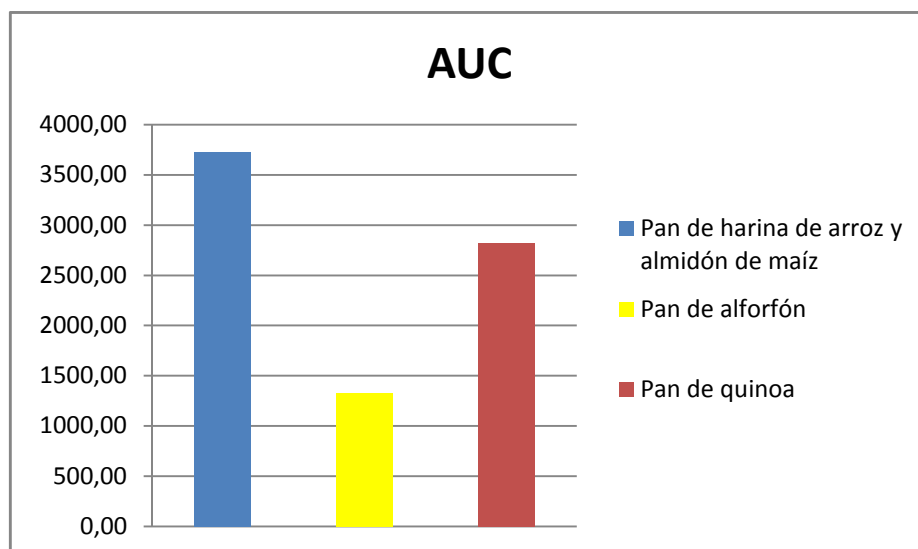


Figura 2: Área bajo la curva (AUC) para la hidrolisis del almidón *in vitro* durante 180 minutos. Pan de trigo es el producto de referencia, pan blanco comercial.

La tabla 5 muestra los resultados de los valores de índice glucémico (IG) para las 3 muestras evaluadas en el presente estudio.

Tabla 5. Estadísticos descriptivos para el IG estimado de 3 muestras (pan de harina de arroz y almidón de maíz, pan de harina de alforfón y pan de harina de quinoa).

	N	Mínimo	Máximo	Media IG	Desviación estándar
Pan harina de arroz y almidón de maíz	2	78,32	104,15	91,24	18,27
Pan de harina de alforfón	2	50,18	65,82	58,00	11,06
Pan de harina de quinoa	2	74,67	82,65	78,66	5,64

La Figura 3 muestra finalmente los valores de índice glucémico estimado para el pan de referencia, elaborado con trigo, el pan sin gluten control, elaborado utilizando cereales sin gluten (maíz y arroz) y los de pseudocereales (alforfón y quinoa).

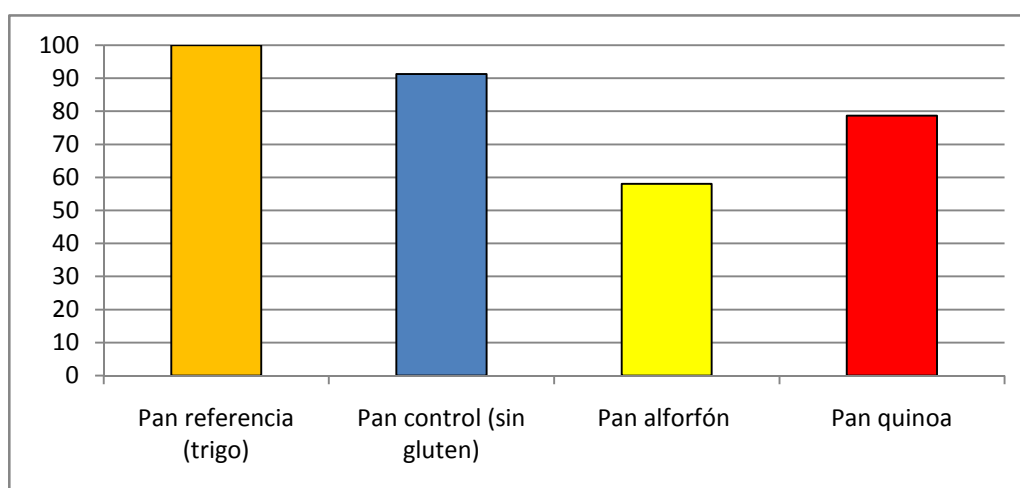


Figura 3. Índice glucémico estimado para los diferentes panes.

Nuestros resultados muestran así, que la utilización de harina de arroz junto con almidón de maíz, harina de quinoa y de alforfón para la elaboración de pan, disminuye el índice glucémico en el producto, en los cuales los valores de IG obtenidos para el pan de alforfón (58,00), quinoa (78,67) y pan de harina de arroz y almidón de maíz (91,23) son inferiores a los valores de IG del pan de referencia (pan de trigo), cuyo IG es 100. Por otro lado se ve incrementado IG se ve incrementado de la siguiente manera: pan de alforfón > pan de quinoa > pan de arroz/almidón de maíz.

Con la sustitución de harina de trigo, por una mezcla de harina de arroz y almidón de maíz, en un 50% respectivamente; por harina de alforfón, en un 100%; y por harina de quinoa, en un 100%, se puede observar una reducción del índice de hidrólisis (HI) y por tanto en el índice glucémico (IG).

La figura 1 muestra las AUC de la digestión del almidón durante 3 horas. El AUC fue significativamente más bajo para el pan elaborado con harina de alforfón en comparación con los otros dos (pan de referencia y pan de quinoa).

Los resultados muestran que la digestión de almidón es más baja en panes sin gluten elaborados con pseudocereales comparándolo con el pan control.

Las dietas de bajo índice glucémico pueden tener implicaciones en la prevención y en la gestión de enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2, enfermedades coronarias y algunos cánceres, por lo que la utilización de pseudocereales para la elaboración de pan, sería aconsejable tanto para la población convencional como para la población celiaca.

4.2. Comparación de los resultados del estudio *in vitro* con artículos publicados

En este apartado se comentan los resultados de distintas revisiones bibliográficas.

En el artículo *"In vitro digestibility and predicted glycaemic indexes of buckwheat, oat, quinoa, sorghum, tff and comercial gluten free bread"* publicado por Wolter A, et al., 2013, en cuyos resultados todos los panes sin gluten elaborados con 100% de harina de alforfón, avena, sorgo y teff y quinoa) mostraron una digestibilidad del almidón más baja, excepto el pan de quinoa que tenía un IG significativamente mayor, en comparación con el pan de referencia (pan blanco de trigo). Los resultados detallados obtenidos en este trabajo de Wolter A et al. (2013), se muestran en la tabla 6, señalando en **negrita** aquellos que son comparables con nuestros datos.

Tabla 6. Valores de hidratos de carbono totales disponibles (TAC), área bajo la curva (AUC), índice de hidrólisis (HI), índice glicémico predicho (pIG relacionado con el pan de trigo) y carga glucémica predicha (pGL) para panes sin gluten, panes comerciales sin gluten (CGF) y panes de trigo.

Parámetros	Alforfón	Avena	Quinoa	Sorgo	teff	CGF	Trigo
TAC (mg/4 g pan)	1171±17 ^e	1984±21 ^c	1033±13 ^f	1634±17 ^a	1296±13 ^d	1109±12 ^f	1543±12 ^b
AUC (g/100 TAC min)	2377±760 ^b	1884±48 ^c	3260±119 ^a	1934±63 ^{bc}	2026±64 ^{bc}	2009±76 ^{bc}	3266±114 ^a
HI	73±2 ^b	58±1 ^c	100±4 ^a	59±2 ^c	62±2 ^c	54±2 ^d	
eGIpan trigo=100	80±1^b	71±1 ^{cd}	95±2^a	72±1 ^c	74±1 ^c	69±1 ^d	100^a
pGL 50 g porción	8 ^d	9 ^c	9 ^c	10 ^b	8 ^d	7 ^e	13 ^a

Valores se expresan con \pm seguridad ($\alpha=0.05$) diferentes superíndices en la misma fila indicando diferencia significativa ($P < 0.001$).

En el artículo *"Chemical Composition and Starch Digestibility of Different Gluten-free Breads"* de Matos Segura ME and Rosell CM, 2011, los resultados obtenidos muestran la digestibilidad del almidón en numerosos panes sin gluten del mercado español, basados en almidón de maíz, almidón de patata, o harina de arroz, enriquecidos con leche y proteínas de distintas fuentes. Los valores obtenidos para panes sin gluten del mercado español oscilan entre 83 y 96, es decir, se trata de valores muy elevados.

En el artículo *"Impact of ancient cereals, pseudocereals and legumes on starch hydrolysis and anti radical activity of breads"* publicado por Colla C, et al., 2014, muestra que el reemplazo de harina de trigo por una combinación ternaria entre un 22.5% y 45% de harinas de pseudocereales o legumbres dan como resultado una baja y lenta digestibilidad del almidón y valores de IG entre un 78 y un 94. Además, de proporcionar un valor nutricional superior (mayores cantidades de polifenoles bioaccesibles y mayor actividad anti radical) en comparación con panes elaborados con el 100% de harina de trigo.

En el artículo *"Influence of sourdough on in vitro starch digestibility and predicted glycemic indices of gluten-free breads"* de Wolter A, et al., 2014, en el cual se estudia la adición de masa fermentada para cada tipo de harinas sin gluten de alforfón, quinoa, sorgo y teff en la elaboración de pan sin gluten. Las harinas sin gluten de trigo sarraceno, quinoa, sorgo y teff se fermentaron usando una cepa heterofermentativa *Weissella cibaria* MG (Wc) y una facultativa heterofermentativa *Lactobacillus plantarum* FST 1.7 (Lp). Y se compararon con el pan control elaborado con 100% de harina de cada tipo (alforfón, quinoa, sorgo y teff).

Los resultados muestran que los valores de IG fueron disminuidos en comparación con el pan control, al adicionar masa fermentada, se muestra claramente en el caso del pan de masa fermentada de trigo (control 100; Wc 85; Lp 76). Pero, no fue igual para la mayoría de los panes sin gluten, con excepción de pan de masa fermentada de sorgo (control 72; Lp 69) y de teff (control 74; Lp 68). Por el contrario, el aumento de IG se encontraron en la quinoa (control 95; Wc 106; Lp 103) y pan de masa fermentada de alforfón (control 80; Wc 89; Lp 86).

En el artículo *"Effects of pseudocereals, legumes and inulin addition on selected nutritional properties and glycemic index of whole grain wheat-based biscuits"* de Vujic L et al., 2014. Los resultados mostraron que, mediante la sustitución de 30% de harina de trigo blanco con pseudocereales (trigo sarraceno o harina de amaranto) y legumbres (soja o harina de algarroba), fue posible disminuir la digestibilidad del almidón *in vitro* en las galletas.

Las galletas control, las galletas con sacarosa añadida, y las galletas con harina de trigo sarraceno y sin inulina, tenía GI medio (58,7 a 66,9), mientras que las muestras con el amaranto, la soja o la harina de algarroba tenían bajo IG (44,9 a 52,5). Es decir, los valores son inferiores a IG de 100.

En el artículo *"Nutritional properties of starch in buckwheat products: Studies in vitro and in vivo"* de Skrabanja, V et al., 2001. Se realizó un estudio *in vitro* e *in vivo* de varios productos de alforfón, una serie de panes elaborados con porcentajes que van del 30 al 70% de harina de trigo sarraceno. Los índices glucémicos e insulínico calculados van desde el 61 al 74. Se concluyó que el trigo sarraceno tiene un uso potencial en el diseño de alimentos con IG inferiores al pan de referencia (pan de trigo).

En varios estudios *in vivo*, la quinoa ha mostrado efectos hipoglucemiantes *in vivo* y ha sido recomendada como una alternativa al ingrediente tradicional en la producción de productos sin gluten a base de cereales con un bajo índice glucémico (Berti et al., 2004). El alforfón también ha sido sugestionado como un ingrediente potencial en el diseño de alimentos con bajo índice glucémico (Skrabanja V et al., 2001). Además, el grano de amaranto ha demostrado que reduce eficazmente los niveles de glucosa en y aumentar los niveles de insulina en ratas diabéticas, lo que sugiere que el grano de amaranto podría ser beneficioso en la corrección de la hiperglucemia y la prevención de complicaciones de la diabetes (Kim, Kim, Cho, Kim, and Shin, 2006).

4.3. Discusión

Nuestros resultados muestran una buena relación con los resultados obtenidos mediante métodos *in vitro* por otros investigadores. Se puede comprobar que el uso de pseudocereales, legumbres, almidones y masa fermentada en productos de panaderías, concretamente en el pan tiene un efecto positivo debido a su bajo contenido en IG.

Para la determinación del IG mediante el método *in vitro*, el procedimiento de análisis está basado en la hidrólisis del almidón y el análisis de los azúcares reductores. La determinación *in vitro* para evaluar el efecto de la sustitución de ingredientes en el índice glucémico ha sido previamente descrita por otros investigadores pero no hay establecida una metodología estandarizada para la determinación de la tasa de digestión de los carbohidratos (Goñi et al., 1997; Granfeldt, 1994; Germaine et al., 2008). Las principales diferencias entre los diferentes métodos incluyen:

1. La preparación de la muestra y el modo en que el alimento se degrada inicialmente (mediante molido o utilizando a sujetos que mastiquen las muestras). En un estudio reciente concluían que el método de tipo no restrictivo (tubo de ensayo), mostraban un buen potencial como nuevo método para predecir la digestibilidad *in vitro* del almidón en productos de grano (Germaine et al., 2008).
2. Las cantidades y los tipos de enzimas utilizados (Goñi et al., 1997; Granfeldt, 1994; Germaine et al., 2008).
3. Las condiciones de incubación, sistemas no restrictivos frente a sistemas restringidos (diálisis)
4. La forma de analizar los datos y expresar los resultados.

Sin embargo, existe coincidencia en cuanto a la medida de hidrólisis del almidón desde el minuto 0 hasta los 180 minutos. Además, el índice de hidrólisis (HI) medido utilizando métodos *in vitro* es luego transformado en IG estimado utilizando diferentes ecuaciones empíricas.

Los valores de IG obtenidos para nuestras muestras (pan de arroz con almidón de maíz, alforfón y pan de quinoa fueron: 91,24, 58,00 y 78,66 respectivamente), se correlacionan con los valores de IG obtenidos mediante una procesos *in vitro* por otros autores (Wolter A et al., 2013, Matos Segura ME

and Rosell CM, 2011; Colla C et al., 2014; Wolter A, et al., 2014; Vujic, L et, al., 2014). No obstante, se observan diferencias en los valores obtenidos, probablemente asociadas a diferencias metodológicas. Concretamente, el trabajo de Wolter A et al. 2013, muestra valores de índice glucémico para panes de quinoa mucho más elevados que los obtenidos en nuestro estudio.

Cuando se reemplaza la harina de trigo por harina de pseudocereales en un 100% (Wolter A et al., 2013); ó cuando se reemplaza la harina de trigo por una combinación ternaria entre un 22.5% y 45% de harinas de pseudocereales o legumbres (Colla C, et al., 2014); ó la adición de masa fermentada para cada tipo de harinas sin gluten de alforfón, quinoa, sorgo y teff en la elaboración de pan sin gluten (Wolter A, et al., 2014); ó la adición de almidón de maíz, de patata, ó harina de arroz, enriquecidos con leche y proteínas de distintas fuentes (Matos Segura ME and Rosell CM, 2011); ó la utilización de un porcentaje entre el 30 y 70% de harina de alforfón para la elaboración de panes; dan lugar a alimentos con valores de IG más bajos que el pan de referencia.

En relación a la determinación *in vivo* o *in vitro*, nuestros resultados de IG obtenidos mediante metodología *in vitro* se correlaciona adecuadamente con los resultados obtenidos por otros autores mediante metodología *in vivo* (Skrabanja, V et al., 2001; Berti et al., 2004; Skrabanja et al., 2001; Kim, Kim, Cho, Kim, y Shin, 2006).

La sustitución de harina de trigo en su totalidad o en parte, así como la mezcla de harinas de pseudocereales o legumbres y la adición de almidones o masa fermentada en la elaboración de productos de panadería dan lugar a alimentos con IG relativamente bajos en comparación con el pan de referencia, pan de trigo. Los alimentos con IG bajos dan lugar a una digestión lenta de los carbohidratos y causa un lento y bajo incremento de los niveles de glucosa en sangre (Brand-Miller et al., 2009). La respuesta glucémica ha sido relacionada con la tasa de digestión y absorción de hidratos de carbono contenidos en los alimentos con ayuda de métodos *in vitro*, el cual imitan los procesos de digestión *in vivo*.

Este bajo IG es debido a la propiedad hipoglucemiante que aporta los pseudocereales, debido a la presencia de varios componentes como son los aminoácidos (elevada calidad proteica), los hidratos de carbono complejos y la fibra dietética soluble, así como la presencia de minerales y de compuestos bioactivos (fitoesteroles, polifenoles, saponinas y escualeno), que influyen de manera positiva en los lípidos plasmáticos, tanto en los animales como en los seres humanos hipercolesterolémicos (Czerwinski et al., 2004; Escudero et al., 2004). Varios estudios realizados hasta la fecha han demostrado que el grano de amaranto, la proteína concentrada de amaranto o el aceite de amaranto puede disminuir el colesterol sanguíneo y el colesterol hepático, así como los triglicéridos (Czerwinski et al., 2004; Escudero et al., 2006; Gamel et al., 2004; Qureshi et al., 1996). El extracto de la proteína de alforfón también ha demostrado fuertes efectos en la disminución del colesterol en un experimento en ratas (Kayashita, Shimaoka, Nakajoh, Yamazaki, y Kato, 1997; Tomotake et al., 2006).

Los autores señalan que el patrón de aminoácidos en la proteína de alforfón y la baja digestibilidad de esta proteína son los factores responsables efecto reductor del colesterol.

Expertos recomiendan que la mayor parte de los alimentos consumidos que contienen hidratos de carbono sean de índice glucémico bajo (IG), (FAO/WHO, 1997). Las dietas de bajo índice glucémico pueden tener implicaciones en la prevención y en la gestión de enfermedades coronarias como la diabetes tipo 2, enfermedades coronarias y algunos cánceres. El material publicado sugiere que las recomendaciones de dietas bajas en grasa y altas en hidratos de carbono pueden ser implementadas con elecciones de alimentos de bajo IG (Agustin et al., 2002). Por esta razón, la información en respuestas glucémicas a alimentos puede ser utilizada en el ajuste de precisión del control glucémico.

En resumen, los pseudocereales que no contienen gluten, son unos ingredientes aptos para la elaboración de productos destinados a la población celiaca. Las harinas de pseudocereales aportan calidad sensorial, tecnológica y nutricional a los panes sin gluten, y tal y como muestran los resultados de este estudio, reducen el índice glucémico de los panes sin gluten de modo significativo con respecto a los panes convencionales que están presentes en los mercados.

5. CONCLUSIONES

1. El índice glucémico de los alimentos es un parámetro útil para valorar la calidad nutricional de los alimentos de la dieta, ya que existe evidencia sobre la asociación positiva entre dietas de alto Índice Glucémico y un aumento significativo de riesgo de desarrollo de diabetes tipo 2, así como de síndrome metabólico.

2. La metodología *in vitro* es una herramienta de utilidad para la determinación del índice glucémico de los alimentos, especialmente en el proceso de desarrollo de los mismos. No obstante, resulta necesario estandarizar la metodología de estos ensayos ya que son muchas las variables que intervienen en estos ensayos.

3. Los pseudocereales son granos de excelente calidad nutricional por su aporte de fibra, minerales, proteínas de alto valor biológico, ácidos grasos insaturados y compuestos bioactivos, y que además, poseen adecuadas propiedades de panificación.

4. Los pseudocereales son ingredientes aptos para la elaboración de productos a base de cereales sin gluten, ya que mejoran su perfil nutricional, reducen su índice glucémico y presentan una calidad sensorial adecuada.

5. Ha sido posible determinar el índice glicémico de panes elaborados con pseudocereales mediante metodología *in vitro*. Los valores de índice glucémico obtenidos para el pan de harina arroz y almidón de maíz, para el pan de harina de alforfón y pan de harina de quinoa son 91.23, 58.00 y 78.67, respectivamente. Los valores más bajos de índice glucémico se han obtenido en los panes elaborados con harina de alforfón.

6. Los resultados de índice glucémico obtenidos se correlacionan adecuadamente con los resultados de otros autores, obtenidos tanto mediante metodología *in vivo* como *in vitro*.

6. BIBLIOGRAFIA

- About Glycemic Index. Glycemicindex.com [portal en internet]. [actualizado 12 Octubre 2015]. Disponible en: <http://www.glycemicindex.com/>.<
- Abugoch, J. L. E. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, Chemistry, Nutritional, and Functional Properties. *Advances in Food and Nutrition Research*. 2009.(58); 1-31.
- Ajala O, English P, Pinkney J. Systematic review and metaanalysis of different dietary approaches to the management of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* Mar. 2013(97); 505-16.
- Alvarez-Jubete L, Arendt EK, Gallagher E. Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *Int J Food Sci Nutr* 60. 2009 (4):240–257.
- Alvarez-Jubete L, Holse M, Hansen A, Arendt EK, Gallagher E. Impact of baking on the vitamin E content of the pseudocereals amaranth, quinoa and buckwheat. *Cereal Chem*. 2009; 86(5):511-515.
- Alvarez-Jubete L, Wijngaard HH, Arendt EK, Gallagher E. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa and buckwheat as affected by sprouting and bread baking. *Food Chem*. 2010; 119:770–778.
- Alvarez-Jubete L., Arendt EK. and Gallagher E. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional glutenfree ingredients. *Trends in Food Science & Technology*. 2010; 106-113.
- Atkinson, FS., Foster-Powell, K., Brand-Miller, JC., 2008. International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008. *Diabetes Care* 31, 2281e2283.
- Augustin LSA., Kendall CWC, Jenkins DJA, Willett WC, Astrup A, Barclay AW, Björck I, Brand-Miller JC, Brighenti F, Buyken AE, Ceriello A, LaVecchia C, Livesey G, Riccardi G, Rizkalla SW, Sievenpiper JL, Trichopoulou A, Wolever TMS, Baer-Sinnott S, Poli A. Glycemic index, glycemic load and glycemic response: An International Scientific Consensus Summit from the International Carbohydrate Quality Consortium (ICQC). *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2015; 25, 795-815.
- Ball SD, Keller KR, Moyer-Mileur LJ, Ding YW, Donaldson D, Jackson WD. Prolongation of satiety after low versus moderately high glycemic index meals in obese adolescents. *Pediatrics* Mar. 2003;111:488-94.
- Barclay AW, Petocz P, McMillan-Price J, Flood VM, Prvan T, Mitchell P, et al. Glycemic index, glycemic load, and chronic disease risk: a meta-analysis of observational studies. *Am J Clin Nutr* Mar. 2008; 87:627-37.
- Bastos GM, Soares, Soares J, Calíaria M, De Araujo Pereira AL, De Moraes CC, Campos HMR. Physical and sensory quality of gluten-free spaghetti processed from amaranth flour and potato pulp. *LWT Food Science and Technology* 2015; 65:128-136.

- Berghofer E, Schoenlechner R. Grain Amaranth. In Belton P, Taylor J (eds), Pseudocereals and less common cereals, grain properties and utilization potential. Springer. Verlag, pp.219-60, 2002.
- Berti C, Riso P, Brusamolino A & Porrini M. In vitro starch digestibility and *in vivo* glucose response of gluten-free foods and their gluten counterparts. European Journal of Nutrition. 2004; 43, 198-204.
- Brand-Miller J, Hayne S, Petocz P, Colagiuri S. Low-glycemic index diets in the management of diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials. Diabetes Care Aug. 2003; 26:2261-7.
- Brand-Miller, JC, Stockmann, K, Atkinson, F, Petocz, P, Denyer, G., Glycemic index, postprandial glycemia, and the shape of the curve in healthy subjects: analysis of a database of more than 1000 foods. Am. J. Clin. Nutr. 2009 (89); 97-105.
- Brennan CS, Tudorica CM. Evaluation of potential mechanisms by which dietary fibre additions reduce the predicted glycaemic index of fresh pastas. Int. J. Food Sci. Technol. 2008; 43, 2151-2162.
- Bressani R. Amaranth. En B. Caballero, editores. Encyclopedia of food sciences and nutrition. Oxford: Academic Press, pp.166-173, 2003.
- Brouns F, Björck I, Frayn KN, Gibbs AL, Lang V, Slama G et al Glycaemic index methodology. Nutr. Res Rev 18. 2005 (1);145–171.
- Brouns F, Björck I, Frayn KN, Gibbs AL, Lang V., Slama G, Wolever, TMS. Glycaemic index methodology. Nutrition Research Reviews. 2005; 18,145-171.
- Champ, M, Langkilde, AM, Brouns, F, Kettlitz B & Le Bail-Collet Y. Advances in dietary fibre characterisation. I. Definition of dietary fibre, physiological relevance, health benefits and analytical aspects. Nutrition Research Reviews. 2003; 16(1); 71-82.
- Concha Collar, Jiménez Teresa, Conte Paola, Fadda Costantino. Impact of ancient cereals, pseudocereals and legumes on starch hydrolysis and antiradical activity of technologically viable blended breads. Carbohydrate Polymers 113. 2014; 149–158.
- Drzewiecki, J, Delgado-Licon E., Haruenkit R, Pawelzik E., Martin Belloso O, Park YS, et al. Identification and differences of total proteins and their soluble fractions in some pseudocereals based on electrophoretic patterns. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003; 51(26), 7798-7804.
- Elke K., Arendt, Andrew Morrissey, Michelle M, Moore and Fabio Dal Bello. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. A volume in Food Science and Technology. ISBN: 978-0-12-373739-7.
- Englysh HN., Kingman SM. y Cummings JH.. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. European Journal of Clinical Nutrition. 1992; 46, S33-S50.

- Föste Maïke, Sebastian D, Nordlohne, Elgeti Dana, Linden HM, Heinz V, Jekle M, Becker T. Impact of quinoa bran on gluten-free dough and bread characteristics. *Eur Food Res Technol*. 2014; 239:767–775.
- Fosano A, Catassi C. Celiac disease. *N. Engl. J. Med*. 2012; 367:2419-2426.
- Gallager E, Gormley TR, Arendt EK. Recent advances in the formulation of gluten free based products. *Trend Food Sci Technol*. 2004; 15:143-152.
- Geneva. Diet, nutrition, and prevention of chronic diseases (1998). Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. World Health Organization. 2003.
- Geneva. Standardization IOF. Food products-Determination of the glycemic index (GI) and relevant classification. International Organization for Standardization. 2008.
- Germaine KA., Samman S, Fryirs C, Griffiths PJ, Johnson SK y Quail KJ. Comparison of in vitro starch digestibility methods for prediccting the glycaemic index of grain foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2008; 88:652-658.
- Giacco R, Parillo M, Rivellesse AA, Lasorella G, Giacco A, D'Episcopo L, et al. Long-term dietary treatment with increased amounts of fiber rich low glycemic index natural foods improves blood glucose control and reduces the number of hypoglycemic events in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* Oct. 2000; 23:1461-6.
- Goff LM, Cowland DE, Hooper L, Frost GS. Low glycaemic index diets and blood lipids: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *NutrMetabCardiovasc Dis* Jan. 2013; 23:1-10.
- Gorinstein S, Pawelzik E, Delgado LE, Haruenkit R, Weisz M. y Trakhtenberg S. Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2002; 82:886-891.
- Granfeldt Y, Wu X., Bjorck I. Determination of glycaemic index; some methodological aspects related to the analysis of carbohydrate load and characteristics of the previous evening meal. *Eur J ClinNutr*. 2006; 60(1); 104–112.
- Green PH1, Cellier C. Celiac disease. *N Engl J Med*. 2007; 25:357(17):1731-43.
- Grobelnik MS, Turinek M, Jakop M, Bavec M, Bavec F. Nutrition value and use of grain amaranth: potential future application in bread making. *Agricultura* 2009; 6: 43-53.
- Hager AS, Wolter A, Czerny M, Bez J, Zannini E, Arendt EK., Czerny M. Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of comercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts. *Eur Food Res Technol*. 2012; 235:333–344.

- Hu J, La Vecchia C, Augustin LS, Negri E, De Groh M, Morrison H, et al. Glycemic index, glycemic load and cancer risk. *Ann Oncol* Jan. 2013;24:245-51.
- Hu J, La Vecchia C., Augustin LS, Negri E, De Groh M, Morrison H, Mery L. Glycemic index, glycemic load and cancer risk. The Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. *Annals of Oncology*. 2013; 24:245–251.
- Islas RAR, Calderón de la Barca AM, Chávez FC , Cota GAG, Trust B. Effect of semolina replacement with a raw: poppedamaranthflour blend on cooking quality and texture of pasta. *Food Science and Technology*. 2014;57:217-222.
- ISO (International Organization for Standardization). Iso.org. [Portal en internet] ISO/DIS 26642:2010. Disponible en:
http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=43633.
- Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, Mitchell S, Sahye PS, Blanco MS, et al. Effect of legumes as part of a low glycemic index diet on glycemic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med*. 2012; 172:1653-60.
- Jenkins DJ, Kendall CW, McKeown Eyssen G, Josse RG, Silverberg J, Booth GL, et al. Effect of a low glycemic index or a high-cereal fiber diet on type 2 diabetes: a randomized trial. *JAMA*. 2008; 300:2742-53.
- Jenkins DJ, Kendall CW, Vuksan V, Faulkner D, Augustin LS, Mitchell S, et al. Effect of lowering the glycemic load with canola oil on glycemic control and cardiovascular risk factors: a randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 2014; 37:1806 -14.
- Jenkins DJA, Thorne MJ, Wolever TMS, Jenkins AL, Venketschwer R and Thompson LU, The effect of starch protein interaction in wheat on the glycemic response and rate of in vitro digestion. *Am J Clin Nutr*. 1987;45:946–951.
- Jenkins DJA, Wolever TMS, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM, Bowling AC, Newman HC, Jenkins AL, Goff DV. Glycemic index of foods: a physiological-basis for carbohydrate exchange. *Am. J. Clin. Nutr*. 1981; 34:362-366.
- Kim HK, Kim MJ, Cho HY, Kim EK, Shin DH. Antioxidative and anti-diabetic effects of Amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochemistry and Function*. 2006; 24:195-199.
- Koziol M. Quinoa: A potential new oil crop. En: Janick J and Simon JE, editors. Wiley, New York; 1993. p.328-36.

- Larsen TM, Dalskov SM, Van Baak M, Jebb SA, Papadaki A, Pfeiffer AF. Diets with high or low protein content and glycemic index for weight-loss maintenance. *N Engl J Med*. 2010; 363:2102-13.
- Lazaridou A, Duta D, Ppageorgiou M, Belc N, Biliaderis CG. Effects of hidrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *J. Food Eng.* 2007; 79:1033-1047.
- Liu SM. Intake of refined carbohydrates and whole grain foods in relation to risk of type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *J Am Coll Nutr.* 2002; 21:298–306.
- Lorenz K, Coulter L. Quinoa flour in baked products. *Plan. Foods for Human Nutrition*. 1991; 41:213-223.
- Ludwig DS. Dietary glycemic index and obesity. *J Nutr.* 2000;130(Suppl):S280–S283.
- Ludwig DDS. The glycemic index. Physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease. *Jama*. 2002; 287:2414–2423.
- Ma XY, Liu JP, Song ZY. Glycemic load, glycemic index and risk of cardiovascular diseases: meta-analyses of prospective studies. *Atherosclerosis*. 2012; 223:491-6.
- Machado Alencara MN, Joy Steela C, Alvimb ID, Carvalho de Moraisa E, Helena Bolini MA. Addition of quinoa and amaranth flour in gluten-free breads: Temporal profile and instrumental analysis. *LWT - Food Science and Technology*. 2015; 62:1011-1018.
- Marti A, Ambrogina Pagan M. What can play the role of gluten in gluten free pasta?. *Trends in Food Science & Technology*. 2013; 31:63-71.
- Matos Segura M.E, Rosell CM. Chemical composition and starch digestibility of different gluten-free breads. *Plan Food Huma Nutr.* 2011; 66:224-230.
- McCarthy DF, Gallagher E, Gormley TR, Schober TJ, Arendt EK. Application of response surface methodology in the development of gluten free bread. *Cereal Chem*. 2005; 82:609-615.
- Moore MM, Schober TJ, Dockery P, Arendt EK. Textural comparison of gluten free and wheat based doughs, batters, and breads. *Cereal Chem*. 2004; 81:567-575.
- Nubiola Andreu, Ferrer Marga y Remolins Imma. La asociación de hiperinsulinemia con riesgo cardiovascular y cáncer plantea nuevos retos en el abordaje del paciente con diabetes tipo 2, insulinoresistente. *Hipertensión Riesgo Vascular*. 2015; 32(1):21-26.
- Parillo M, Annuzzi G, Rivellese AA, Bozzetto L, Alessandrini R, Riccardi G. Effects of meals with different glycaemic index on postprandial blood glucose response in patients with type 1 diabetes treated with continuous subcutaneous insulin infusion. *Diabet Med*. 2011; 28:227-9.

- Pellegrini N, Agostoni C. Nutritional aspects of gluten-free products. Published online in Wiley Online Library 2015.(wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/jsfa.7101.
- Ruales J, Nair BM. Content of fat, vitamins and minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) seeds. *Food Chemistry*. 1993; 48:131-136,
- Sauer JD. The grain amaranth and their relatives: A revised taxonomic and geographic survey. *Ann. Missouri Bot. Gard*. 1967; 54:103-37.
- Scazzina F, Dall'Asta M, Pellegrini N, Brighenti F, Glycemic index of some commercial gluten-free foods.*Eur J Nutr*. 2015.
- Schoenlechner R, Drausinger J, Ottenschlaeger V, Jurackova K, Berghofer E. Functional properties of gluten free pasta produced from amaranth, quinoa and buckwheat. *Plant Foods for Human Nutrition* 2010; 65:339-349.
- Schoenlechner R, Siebenhandl S, Berghofer E. Pseudocereals. *Gluten-Free Cereal Products and Beverages* 2008. ISBN: 9780123737397.
- Schoenlechner R, Siebenhandl S, Berghofer E. Pseudocereals. En: Arendt EK, Bello FD, editores. *Gluten free cereal products and beverages*. Academic Press. Chapter 7. 2008; 149-190.
- Sedej I, Saka M, Mandi A, Misan A, Pestori M, Simurina O, Brunet CJ. Quality assessment of gluten-free crackers based on buckwheat flour. *Food Science and Technology*. 2011; 44:694-699.
- Shikany JM, Tinker LF, Neuhouser ML, Ma Y, Patterson RE, Phillips LS. Association of glycemic load with cardiovascular disease risk factors: the women's health initiative observational study. *Nutrition Jun* 2010; 26:641-7.
- Skrabanja V, LiljebergElmståhl HG, Kreft I, Björck IM. Nutritional properties of starch in buckwheat products: studies *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001; 49: 490-496.
- Souci SW, Fachmann W, Kraut H *Food Composition and Nutrition Tables*. Stuttgart: Wissenschaft Verlags. 2000.
- Taylor JRN, Parker ML. Quinoa. En Belton PS, Taylor JRN, editors. *Pseudocereals and less common cereals: Grain properties and utilization*. Berlin: Springer Verlag. 2002. P.93-122.
- Torbica A, Hadnadev M, Dapčević HT. Rice and buckwheat flour characterisation and its relation to cookie quality.*Food Research International*. 2012; 48:277–283.
- Thompson T. Thiamin, riboflavin, and niacin contents of the gluten free diet: is there cause for concern? *Journal of the American Dietetic Association*. 1999; 99:858.862.

- Thompson T. Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten-free diet. *Journal of the American Dietetic Association* 100. 2000 (11); 1389-1396.
- Valcárcel Yamani Beatriz, Da Silva Lannes Suzana Caetano. Applications of Quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd.) and Amaranth (*Amaranthus* Spp.) and Their Influence in the Nutritional Value of Cereal Based Foods. *Food and Public Health*. 2012; 2(6): 265-275.
- Valencia Chamorro S. A. Quinoa. En: Caballero B. *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*. 2003. P.4895-4902.
- Vega López S, Ausman LM, Griffith JL, Lichtenstein AH). Interindividual variability and intra-individual reproducibility of glycemic index values for commercial white bread. *Diabetes Care* 30. 2007; (6):1412-7.
- Vujic L, Cepo Vitali D, Sebecic B, Dragojevi VI .Effects of pseudocereals, legumes and inulin addition on selected nutritional properties and glycemic index of whole grain wheat-based biscuits. *Journal of Food and Nutrition Research* (ISSN 1336-8672) Vol. 53, 2014, No. 2, pp. 152–161.
- Welever TMS. *The Glycaemic Index. A Physiological Classification of Dietary Carbohydrate*. CABI Publishing- adivisión of CAB INTERNATIONAL Wallingford, Oxon OXO10 8DE, UK. 2006.
- Wolever TMS, Vorster HH, Bjorck I, Brand-Miller J, Brighenti F, Mann JI, Ramdath DD, Granfeldt Y, Holt S, Perry TL, Venter, Wu X. Determination of the glycaemic index of foods: interlaboratory study. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2003; 57: 475–482.
- Wolter A, Hager AS, Zanninia E, Arendt EK "Influence of sourdough on in vitro starch digestibility and predicted glycemic indices of gluten-free breads". *Food Funct*. 2014; 5:564-572.
- Wolter A., Anna-Sophie Hager, Emanuele Zannini, Elke K. Arendt. In vitro starch digestibility and predicted glycaemic indexes of buckwheat, oat, quinoa, sorghum, teff and commercial gluten-free bread. *Journal of Cereal Science* 58 (2013) 431-436.
- Woolnough JW, Monro JA, Charles S, Brennan, Bird AR. Simulating human carbohydrates digestión in vitro: a review of methods and the need for standardisation. *International Journal of Food Science and Technology*. 2008; 43:2245-2256.
- Wronkowska M, Haros M, Śmietana MS. Effect of Starch Substitution by Buckwheat Flour on Gluten-Free Bread Quality. *Food Bioprocess Technol*. 2013; 6:1820–1827.
- Ylimaki G, Hawrysh ZJ, Hardin RT, Thomson ABR. Response surface methodology in the development of rice flour yeasr breads: Sensory evaluation. *J. FoodSci*. 1991; 5:751-759.