

# SUMARIO

## Fibra dietética en cerveza: contenido, composición y evaluación nutricional

<b>1</b>	<b>FIBRA DIETÉTICA EN NUTRICIÓN Y SALUD</b> .....	4
	1.1. Fermentación colónica y salud gastrointestinal .....	7
	1.2. Fibra dietética: un concepto en evolución .....	11
	1.3. Fibra dietética en la cerveza: antecedentes .....	13
	1.4. Objetivos del estudio .....	14
<b>2</b>	<b>CONTENIDO Y COMPOSICIÓN DE LA FIBRA DE LA CERVEZA</b> .....	15
	2.1. Materiales y métodos .....	15
	2.1.1. Muestras .....	15
	2.1.2. Métodos .....	16
	2.2. Resultados y discusión .....	18
	2.2.1. Métodos.....	18
	2.2.2. Contenidos de fibra dietética .....	20
	2.2.3. Composición de la fibra dietética .....	21
<b>3</b>	<b>EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE LA FIBRA DE LA CERVEZA</b> .....	25
	3.1. Fermentación colónica .....	25
	3.1.1. Preparación de la muestra .....	25
	3.1.2. Procedimiento .....	25
	3.1.3. Resultados y discusión.....	27
	3.2. Evaluación de la capacidad antioxidante .....	30
	3.2.1. Materiales y métodos.....	30
	3.2.1.1. Muestras .....	30
	3.2.1.2. Métodos .....	30
	3.2.2. Resultados y discusión.....	31
	3.2.2.1. Determinación del contenido en polifenoles de las cervezas estudiadas.....	31
	3.2.2.2. Comparación del contenido en polifenoles con el de otras bebidas.....	32
	3.2.2.3. Evaluación de la capacidad antioxidante de las cervezas en estudio.....	33
	3.2.2.4. Comparación de la capacidad antioxidante con la de otras bebidas .....	34
	3.2.2.5. Estudio de la correlación entre el contenido en polifenoles y la capacidad antioxidante determinada por dos métodos diferentes .....	35
<b>4</b>	<b>PREPARACIÓN DE NUEVOS TIPOS DE CERVEZA SALUDABLE</b> .....	37
	4.1. Materiales y métodos .....	37
	4.1.1. Muestras .....	37
	4.1.2. Métodos.....	37
	4.2. Resultados y discusión .....	37
	4.2.1. Enriquecimiento de las cervezas en fibra.....	37
	4.2.2. Enriquecimiento de las cervezas con antioxidantes naturales .....	38
<b>5</b>	<b>FIBRA, CERVEZA Y CONSUMO</b> .....	43
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	48
	6.1. Relacionadas con la salud .....	48
	6.2. Técnicas.....	49
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	50

Este trabajo ha sido realizado por el siguiente grupo de investigación:

- Prof. Dr. F. D. Saura Calixto
- Dra. I. Goñi Cambrodón
- C. Martín Albarrán
- R. Pulido Ferrer

1

El progresivo interés de los consumidores por la influencia de la dieta en la salud ha conducido a la industria agroalimentaria al diseño de nuevos productos e ingredientes con propiedades específicas. Es un área en expansión, científica y tecnológicamente prioritaria y esencial para aumentar la competitividad de las industrias del sector.

Es necesario ofrecer una gama amplia de productos que contribuyan a mejorar la salud, dirigidos a la población general y/o a grupos específicos. Ello ha dado lugar a nuevos términos (*functional foods, pharmafoods, nutraceuticals, foods with health promoting capacity*) cuyo uso se está generalizando. En este contexto se sitúa la fibra dietética, que es el ingrediente más usado en la preparación de alimentos funcionales (Mazza, 1998, Goldberg, 1994).

La fibra dietética, o fracción no digerible de los alimentos vegetales, es un constituyente que tiene efectos muy positivos en la salud. No obstante, las dietas de todos los países desarrollados son deficitarias en fibra, lo cual es un factor importante en el desarrollo de numerosas enfermedades.

La fibra dietética está constituida por polisacáridos (celulosa, hemicelulosas y sustancias pécticas) y lignina de los alimentos vegetales. Contrariamente a lo que ocurre con el resto de los componentes de los alimentos, la fibra no es atacada por los enzimas del estómago y del intestino delgado, por lo que llega al colon sin degradar. Allí sufre en mayor o menor grado, según su composición, un proceso de fermentación por las bacterias intestinales y la parte no fermentada es excretada. (Cherbut y col., 1995; Lajolo y col., 2001).

Figura 1.1. Tránsito intestinal de los alimentos



La fibra consta de dos fracciones (insoluble y soluble en fluidos intestinales) y sus propiedades vienen determinadas principalmente por los porcentajes de estas dos fracciones. La fibra insoluble es escasamente fermentada y tiene un marcado efecto laxante y regulador intestinal, mientras que la fibra soluble es fermentada en alta proporción y sus principales propiedades se relacionan con disminución de colesterol y glucosa en sangre y desarrollo de la flora intestinal (Kritchevsky y Bonfield, 1995; Cho y Drehar, 2001).

Tradicionalmente se ha considerado que la fibra tiene valor energético nulo. No obstante, su fermentación en el colon produce energía. Una parte de esta energía se pierde en producción de gases y masa bacteriana fecal, pero una cantidad importante procedente de la absorción de los ácidos de cadena corta producidos en el proceso, es energía asimilable metabólicamente por las células epiteliales. El valor neto de energía de la fibra depende de su grado de fermentabilidad y oscila entre 1 y 2,5 Kcal/g (Livesey et al., 1995).

El paso de la fibra a lo largo del aparato digestivo puede tener diversos efectos, que se resumen en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Efectos atribuidos a la fibra dietética

Sensación de saciedad	Menor ingesta de alimentos
Disminución del tiempo de tránsito intestinal de los alimentos	Regulación intestinal
Aumento de excreción	Control de estreñimiento
Mayor excreción de grasa y proteína	Menor contenido calórico de la dieta
Retraso de la absorción de glucosa	Menor índice glicémico
Mantenimiento y desarrollo de la flora bacteriana intestinal	Factor preventivo de cáncer intestinal
Acción hipocolesterolémica	

No obstante, hemos de tener en cuenta que una fibra concreta no tiene todos estos efectos, sino que solamente en alguno de ellos puede mostrar una acción significativa, por lo que es necesario para una ingesta cualitativamente óptima, utilizar diversos tipos de fibra y especialmente alimentos con alta proporción de fibra soluble. Los cereales tienen mayoritariamente fibra insoluble (con efecto en regulación intestinal), mientras que en las frutas y leguminosas la proporción de fibra soluble es alta, con mayores efectos sistémicos y meta-

bólicos preventivos de enfermedades. Por ejemplo, el efecto hipocolesterolémico de la fibra solamente se ha evidenciado con el consumo prolongado de alguna fibra soluble.

El primer efecto de la fibra, conocido desde hace décadas, es la relación directa entre su ingesta y un correcto funcionamiento gastrointestinal. Ello fundamenta su uso como agente terapéutico en el tratamiento del estreñimiento. El salvado de trigo ha sido el producto más comúnmente utilizado, aunque posteriormente se han empleado con éxito otros tipos de fibra. En general, cualquier fibra con alta proporción de fibra insoluble y elevada capacidad de retención de agua será adecuada para este fin.

La diverticulosis también se ha asociado con dietas bajas en fibra y con alta presión intracolónica. La fibra aumenta la excreción y disminuye la presión colónica, por lo que tiene una acción terapéutica sobre esta dolencia.

En tratamientos de obesidad se han evidenciado los efectos beneficiosos de la ingesta de alimentos ricos en fibra. Los mecanismos de acción de la fibra para producir pérdida de peso son múltiples (sensación de saciedad, aumento de excreción de grasa y proteína, menor índice glicémico, disminución del contenido calórico de la dieta).

Si bien la fibra insoluble no ha mostrado ningún efecto en el metabolismo del colesterol, numerosos experimentos con animales y estudios clínicos con voluntarios han demostrado que el consumo prolongado de fibra soluble disminuye los niveles de colesterol en sangre. Pectinas, galactomananos (gomas),  $\beta$ -glucanos y concentrados de cítricos son fibras con propiedades hipocolesterolémicas. Los mecanismos de esta acción son varios: aumento de viscosidad del contenido gastrointestinal que interfiere con la formación de micelas y absorción de lípidos, aumento de excreción de esteroides y ácidos biliares, inhibición de síntesis de colesterol hepático debida a la absorción del ácido propiónico formado en la fermentación, etc.

Las fibras solubles, pectinas y gommas tienden a reducir la velocidad con que la glucosa llega a la sangre y la secreción de insulina. En esta propiedad se basa la recomendación a diabéticos de consumir alimentos con bajo índice glicémico y ricos en fibra soluble como legumbres, frutas y verduras. En tratamientos terapéuticos se consiguen efectos significativos con la adición de 5 a 15 g de fibra soluble viscosa a una comida.

La mayor parte de los estudios sobre la posible asociación entre consumo de fibra y cáncer de colon y recto revelan un efecto preventivo de la misma.

Es decir, una ingesta alta de fibra se asocia con un menor riesgo de cáncer colon-rectal. No obstante, la asociación no tiene necesariamente que ser directa. Por ejemplo, parece existir una asociación recíproca entre fibra y grasa (las personas con dietas altas en fibra reducen la ingesta de grasa) y también un alto consumo de grasa se ha relacionado con incidencia de los tipos de cáncer anteriormente indicados.

Una de las hipótesis sobre el desarrollo de cáncer de colon y recto indica que a partir de ácidos biliares en el intestino se pueden formar sustancias cancerígenas. Algunas fibras pueden reducir la secreción de ácidos biliares y/o incrementar su excreción en heces. Por otra parte, la alta capacidad de retención de agua de la fibra puede diluir la concentración de cancerígenos y también adsorberlos en su superficie. El movimiento rápido de las sustancias a través del intestino, provocado por la fibra, reduce el tiempo de contacto de los compuestos cancerígenos con las paredes intestinales. Además, el ácido butírico formado en la fermentación puede inhibir el desarrollo de tumores y esta inhibición se ve potenciada por los bajos pH que resultan como consecuencia de la fermentación colónica de la fibra.

## 1.1. FERMENTACIÓN COLÓNICA Y SALUD GASTROINTESTINAL

El tracto gastrointestinal humano constituye un complejo ecosistema microbiano de intensa actividad metabólica que puede impactar positiva o negativamente en la salud. Microorganismos beneficiosos y potencialmente patógenos cohabitan en un ecosistema dinámico que puede ser alterado por diversos factores, entre ellos, la dieta (Gibson y Roberfroid, 1995).

Los componentes de la dieta no digeridos por los enzimas intestinales o digeridos pero no absorbidos en el intestino delgado, pueden ser metabolizados por las bacterias del intestino grueso mediante un proceso anaerobio denominado *fermentación colónica*. La diversidad de especies bacterianas presentes, variedad de los productos de fermentación formados y proximidad de la superficie absorptiva de la mucosa, confieren al ecosistema intestinal un enorme potencial metabólico activo y versátil, capaz de ser modulado a través de la dieta, puesto que los alimentos son la principal fuente de sustratos para la microbiota.

## ■ Bacterias

La mayor parte de las bacterias intestinales son sacarolíticas, es decir, utilizan carbohidratos complejos como principal fuente energética, originando como principales productos finales ácidos grasos de cadena corta (AGCC), gases y un incremento de la masa bacteriana. El género *Bifidobacterium* es el mayoritario. Su población supone el 25% del total de la flora en el adulto y el 95% en el recién nacido (Yoshiota y col., 1991). Una de las áreas más prometedoras para el desarrollo de nuevos *alimentos funcionales* se centra en la capacidad de algunos ingredientes alimentarios (probióticos, prebióticos y simbióticos) para incrementar el porcentaje de Bifidobacterias y tratar de conseguir así un sistema gastrointestinal más saludable (Salminen, S. y col., 1998).

Las bacterias pueden desarrollar una gran variedad de actividades enzimáticas, muchas de ellas implicadas en la generación de toxinas, mutágenos, carcinógenos y promotores tumorales (Szylił y Andrieux, 1993). Es interesante destacar la capacidad de adaptación de la flora al tipo de sustrato presente en el medio, ya que éste determina la formación de los enzimas bacterianos adecuados para su degradación (Goñi y Gudiel-Urbano, 2001; Gudiel-Urbano y Goñi, 2002). Por ello, la dieta puede modificar la composición de la microflora, afectando no sólo al recuento total de bacterias, sino también a los géneros y especies predominantes (Edwards, 1993; Maciorowski y col., 1997). Estos cambios influyen en el tipo y cantidad de productos originados en el metabolismo bacteriano y, por tanto, repercuten en los efectos sobre la salud del huésped (Parret y Edwards, 1997).

## ■ Substratos de fermentación

Todos aquellos compuestos que llegan al colon son sustratos potenciales de fermentación. En su mayor parte son componentes de la dieta (almidón, fibra, proteínas, lípidos, polifenoles, oligosacáridos, etc.), aunque una proporción considerable tiene procedencia endógena (mucina, células epiteliales, enzimas, etc.) (Cummings y Macfarlane, 1991).

Los sustratos se pueden clasificar de acuerdo a:

- 1 *Grado de fermentabilidad (no fermentable, parcial y completamente fermentable)*
- 2 *Velocidad de fermentación (rápido, intermedio y lento)*

## 3 *Cantidad total y proporciones de los AGCC producidos (acetato, propionato y butirato).*

La mayor fracción de carbohidratos indigeribles que llega al colon está constituida por almidón resistente a la digestión en el intestino delgado (Asp y col., 1996) y fibra dietética, principalmente la fracción soluble (Cummings y Macfarlane, 1991; Bingham y col., 1990). Su fermentación está determinada por sus propiedades fisicoquímicas (Guillon y col., 1992), grado de lignificación de la pared celular (Adiotomre y col., 1990; Olesen y Gudmand-Hoyer, 1997; Bourquin y col., 1996), solubilidad en agua (Titgemeyer y col., 1991; Mortensen y Nordgaard-Andersen, 1993; Bourquin y col., 1996; Campbell y Fahey, 1997), tamaño de partícula (Heller y col., 1980), y presencia de otros componentes vegetales capaces de inhibir la actividad bacteriana (Chesson y col., 1982; Barry y col., 1986; Bravo y col., 1994).

## ■ Productos de fermentación

Como resultado del proceso de fermentación se genera ATP, se producen gases (dióxido de carbono, hidrógeno y metano), agua, ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico y butírico), pequeñas proporciones de otros ácidos orgánicos, (isobutírico, valérico, isovalérico, láctico y succínico) y se incrementa el número total de bacterias. El crecimiento de la biomasa bacteriana es considerado como un producto de fermentación, del que a su vez depende un gran número de reacciones metabólicas. El incremento selectivo de la población de bifidobacterias se conoce como Efecto Bífido.

## ■ Efectos fisiológicos y repercusiones sanitarias de la fermentación colónica

Los efectos fisiológicos de los compuestos indigeribles dependen de la interacción de las bacterias con los propios compuestos y con sus productos de degradación. La mayor parte de los efectos se relacionan directa o indirectamente con la producción de los AGCC y con los cambios en la composición de la microbiota (Tabla 1.2.).

**Tabla 1.2.** Efectos fisiológicos derivados de la fermentación colónica (I. Goñi & N. Martín-Carrón, 2001)

1 Efectos en la composición de la flora bacteriana	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Aumento de la masa bacteriana</b></li> <li>• <b>Crecimiento selectivo de especies</b></li> <li>• <b>Cambio en actividad enzimática</b> Menor producción de carcinógenos Menor catabolismo de ácidos biliares secundarios</li> </ul>
2 Efectos en las condiciones ambientales del intestino	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Cambios de pH:</b> Cambios en población bacteriana Inhibición de la formación de ácidos biliares secundarios Mayor reabsorción de agua y sales</li> <li>• <b>Cambios en volumen:</b> Dilución contenido intestinal Mayor motilidad</li> </ul>
3 Efectos en el huésped Positivos:          Negativos:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Aumento de excreción fecal y cambio en consistencia de heces (incremento de bacterias y retención de agua y otros compuestos)</b></li> <li>• <b>Efectos directos e indirectos de los AGCC:</b> Contribución al balance energético Butirato es la principal fuente de energía para el metabolismo de los colonocitos Aumento de la resistencia a la colonización intestinal de bacterias patógenas Efecto hipocolesterolemico</li> <li>• <b>Efecto sobre el balance nitrogenado (aumenta la utilización del amonio liberado de la urea para generar nueva masa bacteriana)</b></li> <li>• <b>Aumento del volumen de gas (flatulencia)</b></li> <li>• <b>Aumento de la producción de gases con sulfuros (mal olor)</b></li> </ul>

Los AGCC hacen disminuir el pH intestinal y ejercen un efecto vasodilatador local (Rombeau y col., 1990), por lo que se incrementa la absorción de agua y sales en el intestino grueso (Lutz y Scharrer, 1991).

Los AGCC también constituyen estímulos químicos de la motilidad intestinal, que junto con los estímulos mecánicos producidos por el incremento de gases y la masa bacteriana, estimulan la velocidad de tránsito (Richardson y col., 1991).

Además, cada uno de los 3 ácidos mayoritarios ejerce algunos efectos específicos:

- El ácido acético es utilizado mínimamente por los colonocitos, se absorbe y transporta al hígado, y tejidos periféricos. En el hígado es utilizado como un substrato lipogénico y gluconeogénico en ausencia de un consumo adecuado de carbohidratos. En otros tejidos periféricos tales como tejido adiposo, glándula mamaria, músculo, riñón y corazón, aportan energía y participan en la lipogénesis.
- El propiónico es utilizado parcialmente por los colonocitos, pero su principal órgano de metabolización es el hígado, donde parece estar implicado en la inhibición de la síntesis de colesterol. Se ha observado una relación inversa entre los niveles de propiónico y los valores plasmáticos de colesterol total y LDL-colesterol (Illman y col., 1991).
- El butírico es la principal fuente de energía para los colonocitos y es activamente metabolizado a cuerpos cetónicos, dióxido de carbono y agua. Su presencia es fundamental para el crecimiento y proliferación de las células sanas del epitelio colónico y retarda o inhibe el crecimiento de algunas líneas celulares neoplásicas (Van Munster y Nagengast, 1993; Scheppach y col., 1992; McIntyre y col., 1993).

## 1.2. FIBRA DIETÉTICA: UN CONCEPTO EN EVOLUCIÓN

El concepto original de fibra (paredes celulares vegetales o polisacáridos excepto almidón y lignina) ha evolucionado científicamente y hoy existe tendencia a considerarlo de una forma más amplia, incluyendo otras sustancias que tampoco son atacadas por los enzimas digestivos y llegan al colon sin degradar (almidón resistente, oligosacáridos, compuestos polifenólicos, etc.).

Tras el estudio de las propiedades fisiológicas y nutricionales de algunos tipos de fibras con compuestos polifenólicos asociados, (Saura-Calixto y Bravo., 1996; Saura-Calixto y col., 2000), nuestro grupo propuso por primera vez la medida de la capacidad antioxidante para evaluar los efectos potenciales de las fibras en la

salud (Larrauri y col, 1996a). En una primera fase se obtuvieron concentrados de fibra con valores apreciables de capacidad antioxidante *in vitro* a partir de diversas frutas tropicales tales como mango, piña, lima, pomelo o guayaba (Larrauri y col, 1996b, 1996c; 1997a, 1997b; Jiménez-Escrig y col., 2001).

Los valores de actividad antioxidante referidos en estos primeros trabajos indican que estas fibras usadas como ingredientes alimentarios pueden prevenir la oxidación de alimentos. Ello sería un rasgo diferencial respecto a las existentes en el mercado que carecen de poder antioxidante. En nuestro laboratorio se hicieron pruebas con numerosas fibras comerciales o productos ricos en fibra, incluyendo las más difundidas de Kellogg's y Quaker Oats, y no se encontró actividad antioxidante significativa en ningún caso (Larrauri y col., 1997a). Posteriormente seleccionamos materias primas adecuadas a partir de las cuales se obtuvieron por primera vez fibras dietéticas de alta capacidad antioxidante, derivada de compuestos bioactivos asociados a la matriz de fibra (Saura Calixto, 1998).

Por otra parte, existe un mercado muy amplio en desarrollo para los antioxidantes naturales, que se basa en sus efectos positivos en la salud y en el rechazo de los consumidores a los antioxidantes sintéticos. Los compuestos polifenólicos de vegetales (taninos, flavonoides, ácidos fenólicos, antocianinas, hidroxiestilbenos, resveratrol, etc.) tienen actividad antioxidante y han mostrado diversas propiedades biológicas tales como inhibición de agregación de plaquetas, acción antimicrobiana y antiinflamatoria (Shahidi y Nacz, 1995; Nychas, 1995; Larson, 1997; Bidlack y col., 1998; Papas, 1999; Packer y col., 1999; Ransley y col., 2001).

La fibra dietética antioxidante combina en un sólo producto los efectos beneficiosos de la fibra y los antioxidantes naturales. Polifenoles, carotenos y fitoesteroides son tres de los principales grupos de estas sustancias bioactivas. Estos no nutrientes pueden tener un papel importante en el desarrollo de nuevos tipos de fibra de alta calidad debido a sus efectos potenciales en la salud. Diversos estudios epidemiológicos han mostrado que estos compuestos bioactivos son un factor importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y en general de enfermedades degenerativas relacionadas con el envejecimiento (Frei, 1994).

Paralelamente a la evolución del concepto de fibra se está produciendo un desarrollo de nuevas materias primas y tecnologías para la producción de fibras de mayor calidad.

Hace dos décadas, el salvado de trigo era casi la única fuente de fibra que se utilizaba. A partir de la década de los ochenta comienza a evidenciarse cientifi-

camente la importancia de la fibra soluble y comienza a extenderse el uso de otros salvados de cereales más ricos en esta fracción soluble, como es el caso de la avena. Paralelamente comienzan a desarrollarse las fibras de frutas y semillas de leguminosas, por su mayor proporción de fibra soluble y su mayor calidad nutricional. Por último, la presencia de compuestos bioactivos de acción antioxidante/secuestrante de radicales libres asociados a algunos tipos de fibras de frutas esta actualmente abriendo nuevas posibilidades de fibras de especial valor biológico-nutricional (Saura Calixto, 2000).

Nos encontramos en pleno desarrollo de productos para dietas saludables. Las nuevas tendencias de consumo presionan a todo el sector alimentario tradicional (cárnicos, lácteos, bollería, bebidas, etc.) a elaborar productos más sanos, dando lugar al desarrollo de un nuevo sector dedicado a la fabricación de complementos dietéticos, nutracéuticos y alimentos funcionales. Disminuir los contenidos de azúcares y grasas y aumentar los de fibra dietética y antioxidantes naturales son aspectos fundamentales en el desarrollo de estos productos.

### 1.3. FIBRA DIETÉTICA EN LA CERVEZA: ANTECEDENTES

Son escasos en la literatura científica los estudios que determinan el contenido de fibra dietética en bebidas y particularmente en cerveza.

De la revisión bibliográfica sobre este tema, incluyendo una publicación anterior de Cerveza y Salud muy exhaustiva (Sendra y Carbonell, 1999), se deduce que no existe información sobre contenidos y composición de fibra en las cervezas españolas.

Los contenidos publicados para otras cervezas son escasos y muy dispares (oscilan de 0 a 6,3 g/l) y los datos de composición resultan incompletos, puesto que unas veces se refieren a  $\beta$ -glucanos o arabinosilanos y otras a fibra soluble, sin especificar constituyentes (Edney y col, 1998; Jee-Yup-Han y Schward, 1996; Jee-Yup-Han, 2000; Vis and Lorenz, 1998) o con referencias a la fibra de forma sólo cualitativa (Guldborg, M, 2001; Thalacker, R, 2001). Gromes y col., (1997) estudiaron los contenidos de fibra en cervezas alemanas refiriendo un rango de 0,4 a 6 g/l y no encontraron correlación significativa entre los contenidos de fibra y alcohol.

En general estos escasos datos están publicados en revistas secundarias y de escaso impacto, por lo que es difícil evaluar las metodologías y los resultados. No



obstante, a la disparidad y aparente dispersión de los valores de fibra, contribuye la problemática relacionada con el análisis, derivada del hecho de que los métodos usuales de análisis de fibra (AOAC y otros) conllevan diversos errores cualitativos y cuantitativos asociados, que son especialmente significativos en el caso de fibras solubles en medio hidroalcohólico.

#### 1.4. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

En base a estos antecedentes se planteó este proyecto con los siguientes objetivos:

1. Determinar la cantidad y composición de fibra dietética en los distintos tipos de cervezas españolas.
2. Evaluar nutricionalmente la fibra dietética de la cerveza, especialmente las propiedades derivadas de su fermentabilidad colónica.
3. Estudiar la posibilidad de preparar un nuevo tipo de cerveza saludable, potenciada en fibra y actividad antioxidante biológica.

## CONTENIDO Y COMPOSICIÓN DE LA FIBRA DE LA CERVEZA

# 2

### 2.1. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1.1. MUESTRAS

- a. En primer lugar se seleccionaron seis tipos de cerveza del mercado, en base a su contenido en alcohol, color y consumo:
  - Cervezas n°1 y n°2, cervezas rubias de alto consumo, con contenidos alcohólicos del 5% y 4,8% respectivamente.
  - Cerveza n°3, cerveza negra con un contenido alcohólico del 5,4%.
  - Cerveza n°4, cerveza rubia de alto contenido en alcohol (7,2%).
  - Cervezas n°5 y n°6, cervezas con bajo (<1%) y nulo (0%) contenido en alcohol respectivamente.

Las principales diferencias entre las cervezas rubia y negra son consecuencia del distinto tratamiento llevado a cabo durante algunas de las etapas de su elaboración. Para la fabricación de la cerveza negra se utiliza un tipo de malta denominada oscura o malta Múnich que procede de un tostado final a 105° C, lo que produce un oscurecimiento en el interior del grano del cereal, desarrollando materias aromáticas. Los factores aroma y color están unidos a la presencia de materias nitrogenadas y de azúcares, que por efecto de la temperatura se caramelizan. Sin embargo, para la fabricación de una cerveza rubia es utilizada una malta pálida o malta Pilsen, obtenida a partir de una tostación a una temperatura entre 75 y 85° C que es la de formación del color en la malta. Por otro lado, la fabricación del mosto, que posteriormente sufrirá un proceso de fermentación en presencia de levaduras para dar lugar a la cerveza, consiste en extraer de la malta molida (harina), la mayor cantidad de extracto y de la mejor calidad. La extracción se hace con agua a distintas temperaturas. Las cantidades de agua varían entre 1,5 HI/100 kg de harina (maceración espesa) hasta 3 HI/100 kg de harina (maceración diluida). La primera se emplea para la elaboración de cervezas negras y la segunda para las rubias.

- b. En segundo lugar se seleccionaron las dos bebidas de mayor consumo tras la cerveza, vino tinto y zumo de naranja comercial (una alcohólica y otra no), con el fin de comparar el contenido de fibra dietética soluble de estas bebidas con el de los distintos tipos de cerveza.

2.1.2. MÉTODOS

A. Determinación del contenido de fibra dietética.

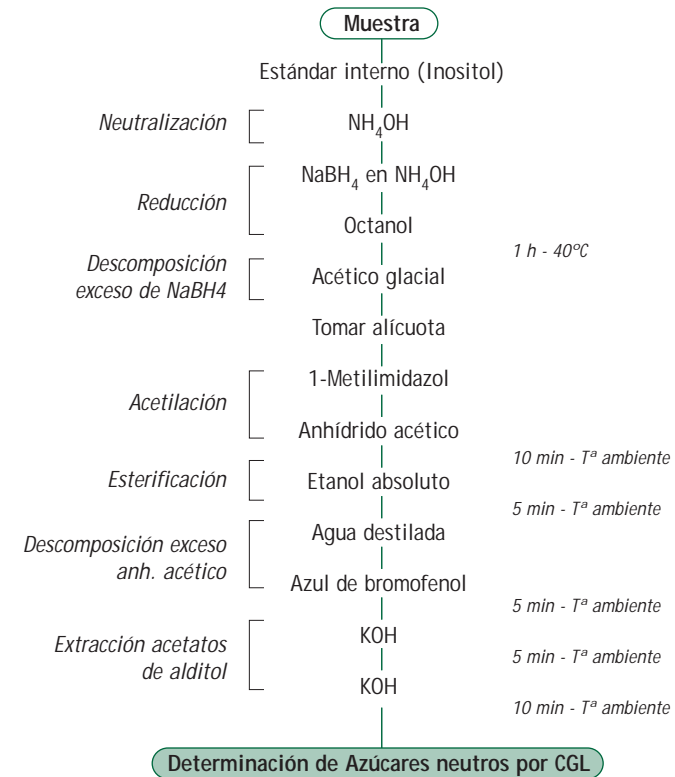
Tras diversos ensayos, necesarios para su puesta a punto, se utilizó el siguiente procedimiento para la determinación de fibra dietética en bebidas:

1. Concentración por evaporación en rotavapor de la cerveza (de 250 ml a 100 ml).
2. Tratamientos enzimáticos con *α*-amilasa (37°C, 3 h) y amiloglucosidasa (60°C, 45 min) a pH 6.9 y 4.75, respectivamente, para hidrolizar las dextrinas y carbohidratos digestibles en general.
3. Diálisis con membranas Medicell (punto de corte para Peso Molecular entre 12000 y 14000), en baño termostatzado durante 48 h, con flujo continuo de agua de 7 L/h, para eliminación de azúcares.
4. Hidrólisis ácida (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1M, 90 min, 100° C) y determinación espectrofotométrica del contenido de fibra dietética utilizando el ácido 3,5-dinitrosalicílico como reactivo colorimétrico y glucosa como patrón (Englyst y Hudson, 1987).

B. Determinación de la composición de la fibra dietética mediante cromatografía gas-líquido.

El contenido en azúcares constituyentes de los polisacáridos que pertenecen a la fracción fibra dietética, se determinó por cromatografía gas-líquido (CGL) en los hidrolizados descritos en el apartado 4 del punto anterior, previa derivatización a sus correspondientes acetatos de alditol. Se siguió, básicamente, el método de Englyst y Cummings (1988), con ligeras modificaciones. El esquema del proceso de derivatización de azúcares neutros se muestra en la Figura 2.1. Una vez obtenidos los acetatos de alditol correspondientes, éstos fueron identificados y cuantificados mediante CGL por comparación con patrones conocidos. Se utilizó un cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14 A, con detector de ionización de llama y columna capilar con fase estacionaria polar SP-2330 (30m x 0,32 mm x 0,2 µm) (2-4073 Supelco).

Figura 2.1. Esquema del proceso de derivatización de azúcares neutros para su determinación por cromatografía gas-líquido (CGL)



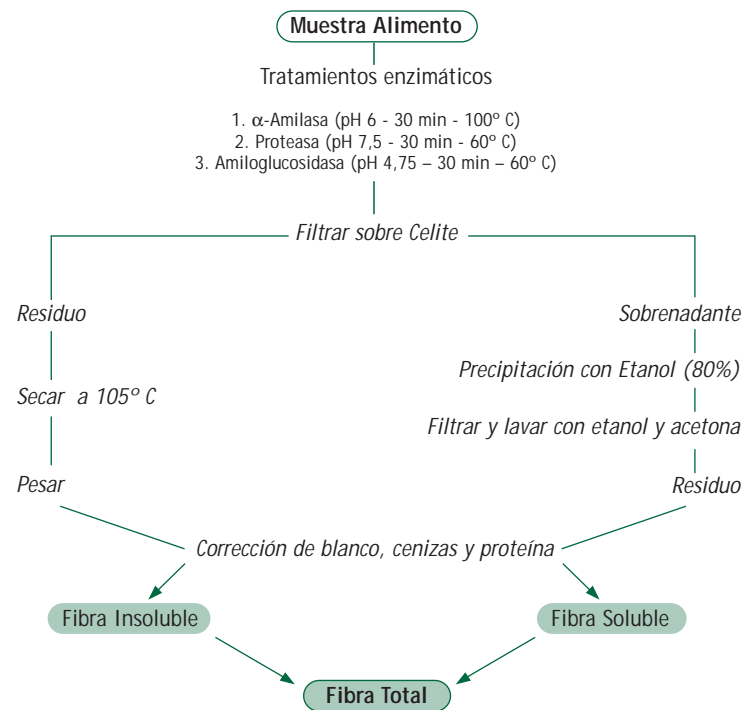


## 2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.2.1. MÉTODOS

Para determinar el contenido de fibra se han propuesto diversos métodos, siendo el procedimiento enzimático-gravimétrico de la AOAC el más extendido y comúnmente usado para etiquetado de alimentos (Prosky y col., 1992). Se basa en la eliminación de los macronutrientes y separación de la fibra que se cuantifica gravimétricamente.

**Figura 2.2.** Esquema del método de determinación de fibra dietética de la AOAC (Prosky y col., 1992)



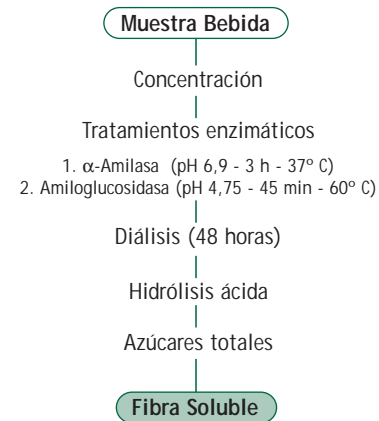
Para ello, las muestras se tratan enzimáticamente con proteasas y amilasas para eliminar proteína y almidón (en el caso de que la grasa sea un constituyente mayoritario, se extrae previamente con disolvente orgánico). Los residuos de los tratamientos enzimáticos se cuantifican como fibra insoluble, tras corregir cenizas y proteína residual y en los sobrenadantes se adiciona etanol hasta conseguir una concentración del 80% para precipitar la fibra soluble. El contenido de fibra total será la suma de la fibra insoluble y soluble.

Este método general y oficial en diversos países, aunque tiene algunas fuentes de error que es preciso tener en cuenta (Mañas y Saura Calixto, 1995), está concebido y se utiliza sin mayores problemas en alimentos sólidos. No obstante, su aplicación a bebidas presenta dificultades insalvables, por lo que es preciso usar o desarrollar métodos específicos para analizar fibra en bebidas o alimentos líquidos.

En este proyecto se ha desarrollado un método para determinar fibra en cerveza, que evita las dificultades e imprecisiones de los métodos generales que producen una gran variabilidad y dispersión en los datos referidos a esta bebida en la bibliografía. El procedimiento descrito en el apartado anterior, tiene las siguientes características y etapas:

1. Para poder llevar a cabo la hidrólisis enzimática de proteínas y dextrinas de la cerveza es preciso, previamente, concentrar y desalcoholizar la cerveza por destilación a vacío.
2. Para la degradación enzimática completa de dextrinas y polisacáridos amiláceos es preciso tratar con  $\alpha$ -amilasa y amiloglucosidasa.
3. La separación de la fibra por precipitación en medio etanólico, como en el método de la AOAC, lleva consigo pérdidas importantes de fibra parcialmente soluble en ese medio y es inviable desde un punto de vista cuantitativo. Por ello, el aislamiento de la fibra soluble se lleva a cabo por diálisis en condiciones termostatizadas, con lo que se eliminan todos los productos de hidrólisis enzimática junto con otros constituyentes de la cerveza. La fibra queda retenida en las bolsas de diálisis.
4. El análisis cuantitativo y cualitativo de la fibra en la disolución retenida en las bolsas de diálisis se puede realizar con precisión por métodos químicos, espectrofotométricos o cromatográficos, e incluso gravimétricamente.

Figura 2.3. Esquema de la determinación de fibra dietética (aplicación a bebidas)



### 2.2.2. CONTENIDO DE FIBRA DIETÉTICA

Como se observa en la Tabla 2.1, el contenido de fibra en las cervezas españolas es del orden de 2 gramos de fibra por litro. Las cervezas con alcohol, las más consumidas, presentan los contenidos más altos mientras que las cervezas sin alcohol presentan un contenido inferior (1,1 – 1,6 g/l). No se observan diferencias significativas entre las cervezas rubias con alcohol y la negra, en lo referente al contenido en fibra dietética, ni tampoco entre cervezas rubias con alcohol de distinta graduación.

En las revistas científicas y bases de datos no existe información válida sobre contenido de fibra en cerveza. Solamente se puede encontrar alguna referencia correspondiente a revistas secundarias y de escasa difusión. En las mismas se dan valores muy dispares de contenidos de fibra, de 0 a 6 g/l y, sobre todo, no se informa claramente sobre la metodología analítica seguida, por lo que no se puede evaluar si es o no correcta u homologable. Seguramente, estos valores tan variables sean consecuencia de no utilizar un método estandarizado, adecuado a las características de la muestra.

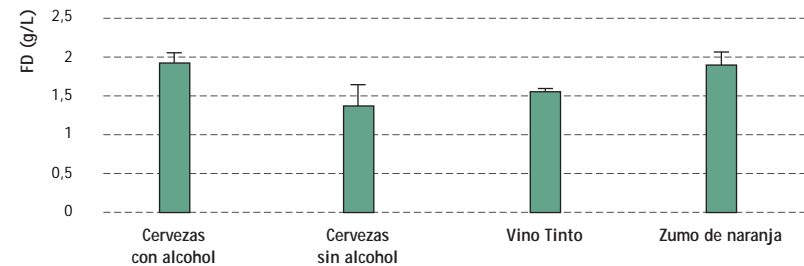
Tabla 2.1. Contenido en fibra dietética soluble de distintos tipos de cerveza

Cerveza nº	% Alcohol	Color	FD (g/L)
1	5	Rubia	1,98 <sup>a</sup> ± 0,11
2	4,8	Rubia	1,87 <sup>b</sup> ± 0,07
3	5,4	Negra	1,91 <sup>ab</sup> ± 0,09
4	7,2	Rubia	2,02 <sup>a</sup> ± 0,01
5	< 1	Rubia	1,12 <sup>c</sup> ± 0,05
6	0	Rubia	1,64 <sup>d</sup> ± 0,05

Cada valor es la media ± desviación estándar (n=3). Los valores seguidos por distintas letras superíndices son significativamente diferentes (p<0.05).

Dada la escasa y contradictoria información bibliográfica disponible sobre el contenido de fibra dietética de bebidas, se llevó a cabo la determinación del mismo en dos bebidas de gran consumo, vino tinto y zumo de naranja comercial, con el fin de establecer una comparación con las cervezas estudiadas. En la Figura 2.4 podemos observar cómo las cervezas con alcohol tienen un contenido medio de fibra dietética soluble similar al del zumo de naranja (1,91 ± 0,15 g/l) mientras que las cervezas sin alcohol se asemejan al vino tinto (1,56 ± 0,02 g/l).

Figura 2.4. Contenido en fibra dietética soluble. Comparación entre cervezas con alcohol, cervezas sin alcohol, vino tinto y zumo de naranja comercial



### 2.2.3. COMPOSICIÓN DE LA FIBRA DIETÉTICA

En la Tabla 2.2 podemos observar la composición porcentual de los azúcares constituyentes de los polisacáridos de la fibra dietética soluble de los distintos tipos de cerveza. La composición de la fibra se ha determinado por cromatografía de gases, a partir de los acetatos de alditol de los azúcares constituyentes (Figura 2.5).

Los resultados reflejan que los constituyentes mayoritarios son xilosa, arabinosa, y glucosa, correspondientes a estructuras de polisacáridos arabinoxilanos y β-glucanos, junto con pequeños porcentajes de manosa y galactosa.

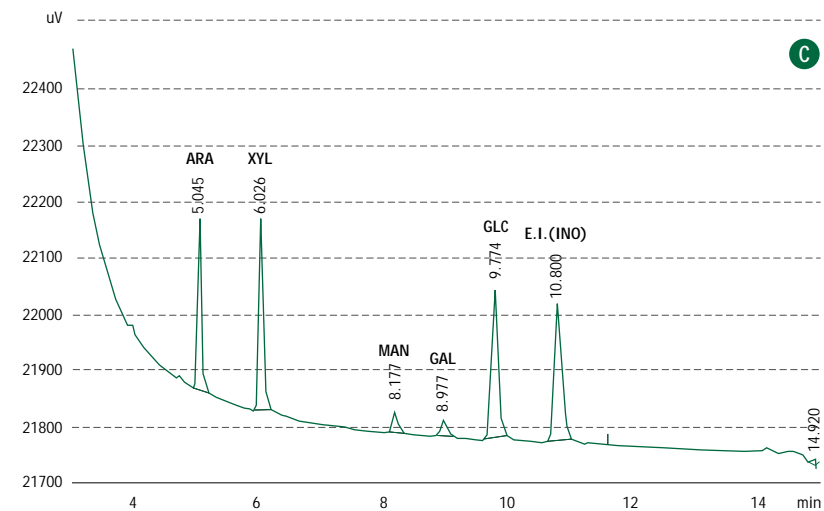
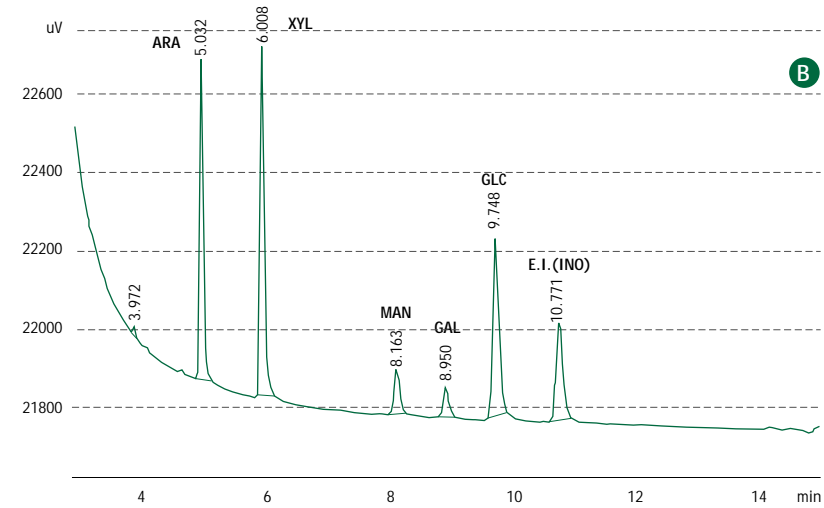
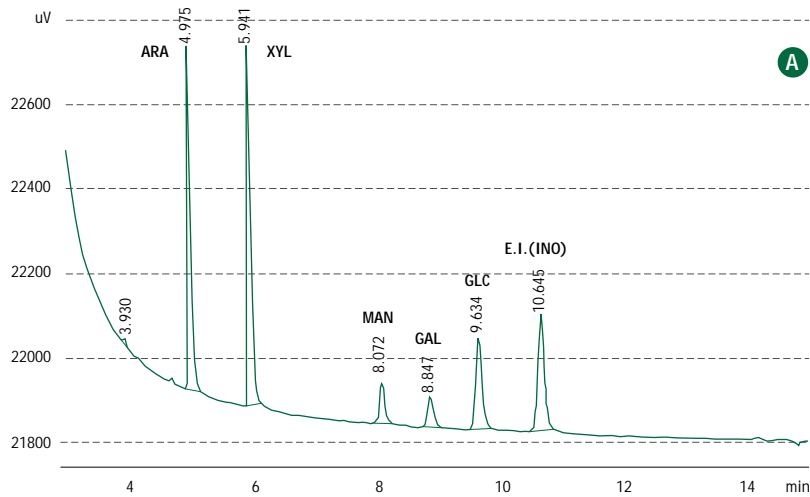
**Tabla 2.2** Composición de la fibra dietética soluble de los distintos tipos de cerveza. Porcentaje de azúcares neutros

	Negra	Rubia	Sin alcohol
Xilosa	40,1 <sup>a</sup> , α ± 0,6	34,0 <sup>a</sup> , β ± 0,7	30,6 <sup>a</sup> , γ ± 0,6
Arabinosa	30,1 <sup>b</sup> , α ± 0,4	24,5 <sup>b</sup> , β ± 0,4	21,8 <sup>b</sup> , γ ± 0,4
Glucosa	17,7 <sup>c</sup> , α ± 0,5	30,5 <sup>c</sup> , β ± 0,5	38,7 <sup>c</sup> , γ ± 0,7
Manosa	6,9 <sup>d</sup> , α ± 0,1	6,6 <sup>d</sup> , β ± 0,1	4,8 <sup>d</sup> , γ ± 0,1
Galactosa	5,2 <sup>e</sup> , α ± 0,1	4,4 <sup>e</sup> , β ± 0,1	4,1 <sup>e</sup> , γ ± 0,2

Cada valor es la media ± desviación estándar (n=3). Dentro de una columna, valores seguidos por diferentes letras latinas superíndices son significativamente diferentes (p<0.05). Dentro de una fila, valores seguidos por diferentes letras griegas superíndices son significativamente diferentes (p<0.05).

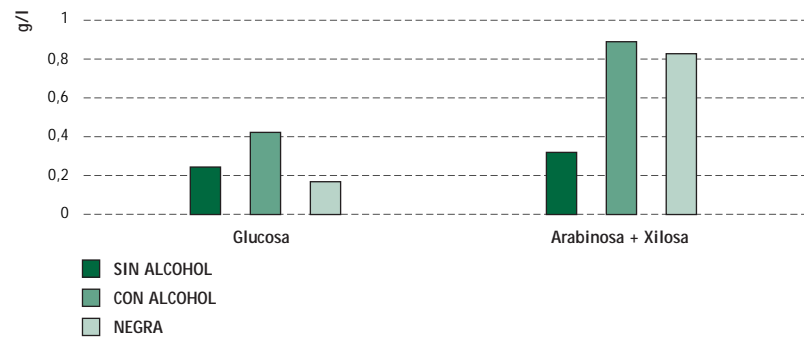
**Figura 2.5** Constituyentes de los polisacáridos de la fibra dietética de los distintos tipos de cervezas (CGL). A. Cerveza negra; B. Cerveza rubia con alcohol; C. Cerveza rubia sin alcohol

ARA: arabinosa; XYL: xilosa; MAN: manosa; GAL: galactosa; GLC: glucosa; E.I. (INO): estándar interno (inositol).



En todos los casos resultó el contenido en  $\beta$ -glucanos inferior al de arabinosilanos como se puede apreciar gráficamente en la Figura 2.6. Estos resultados concuerdan con datos bibliográficos en los que se establecen rangos de concentración notablemente superiores de arabinosilanos frente a  $\beta$ -glucanos aunque el contenido varía mucho de unos tipos de cerveza a otros. Así podemos encontrar contenidos de  $\beta$ -glucanos entre 0,2 y 0,8 g/l (Brudzynski, 1993; Schwarz y Jee-Yup-Han, 1995), y arabinosilanos entre 0,5 y 4,2 g/l (Schwarz y Jee-Yup-Han, 1995; Jee-Yup-Han, 2000), dependiendo del tipo de cerveza.

**Figura 2.6** Contenido de glucosa (beta-glucanos) y arabinosa + xilosa (arabinosilanos) en la fibra dietética de los distintos tipos de cervezas analizadas



## EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE LA FIBRA DE LA CERVEZA

### 3.1. FERMENTACIÓN COLÓNICA

#### 3.1.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Teniendo en cuenta el bajo contenido en fibra de la cerveza (2 g/litro) y siendo necesario como paso previo al proceso de fermentación, el aislamiento de los componentes indigestibles presentes en la muestra, se procedió a la concentración en rotavapor de aproximadamente 5 litros de la muestra 1.

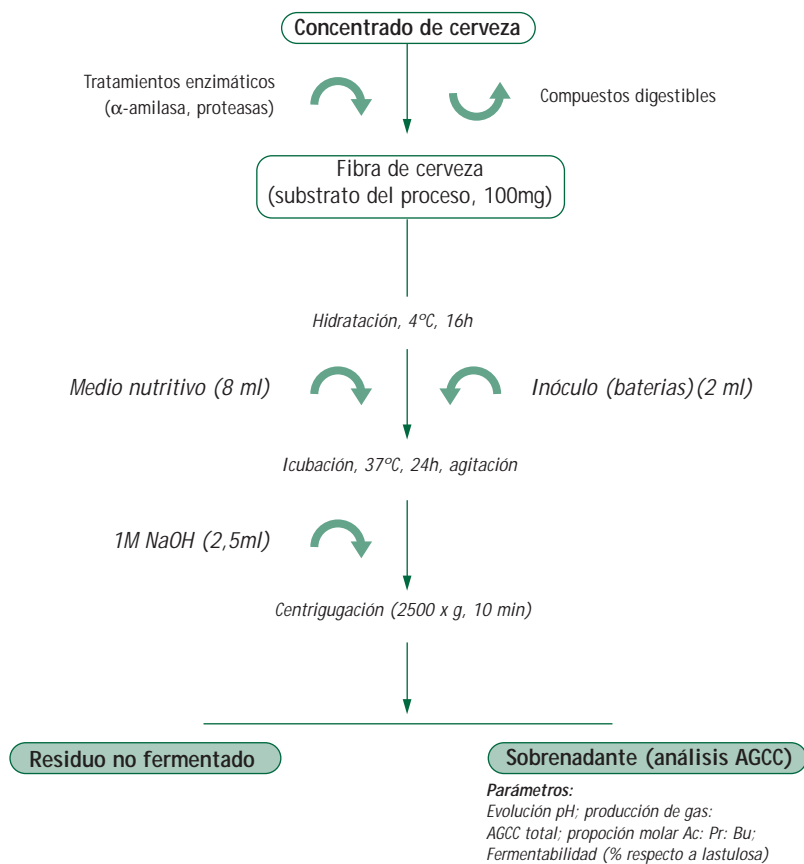
El concentrado resultante se incubó con enzimas digestivos (a-amilasa y amiloglucosidasa), con el fin de digerir las dextrinas y azúcares presentes en la muestra. La eliminación de dichos azúcares se realizó mediante un proceso de diálisis (flujo de renovación de 7 l/h; 25 – 27°C; 48 h). Posteriormente se concentró el líquido no dializado, (fibra soluble), se congeló, liofilizó y molió a un tamaño de partícula de  $q < 0,5$  mm. La muestra obtenida se utilizó como sustrato en el proceso de fermentación colónica que se describe a continuación.

#### 3.1.2. PROCEDIMIENTO

El método utilizado está basado en las conclusiones de un estudio europeo interlaboratorio y ha sido adaptado a las condiciones de un laboratorio de Nutrición Humana Experimental. Como inóculo se ha utilizado el contenido cecal de ratas Wistar adultas. Los resultados obtenidos según las condiciones experimentales indicadas tienen una buena correlación con los obtenidos con inóculos de procedencia humana (Barry y col., 1995).

La técnica consiste en la suspensión del sustrato (concentrado de fibra soluble de la cerveza, preparado previamente) en una solución nutritiva que aporta los elementos necesarios para el crecimiento y mantenimiento de las bacterias. Esta mezcla se inocula con el homogeneizado de los contenidos cecales de ratas Wistar (Goñi y Martín-Carrón, 2001) (Figura 3.1).

Figura 3.1 Fermentación colónica *in vitro* (Goñi y Martín-Carrión, 2001)



El medio de fermentación, sustrato e inóculo se incuban en condiciones estrictas de anaerobiosis durante 24 h. Finalmente, el proceso de fermentación se detiene y en el medio resultante se determina la variación de pH y la presión ejercida por los gases originados durante el proceso. Los AGCC producidos en la fermentación del sustrato se cuantifican por cromatografía de gases y el sustrato no fermentado se valora gravimétricamente (Guillon y col., 1995).

En cada proceso de fermentación se procesan triplicados de la muestra de fibra de cerveza, blancos de reactivos e inóculo y un patrón totalmente fermentable (lactulosa).

La fermentabilidad de la muestra se expresa de dos formas:

1. Como porcentaje de AGCC producidos por la fibra de cerveza respecto al patrón lactulosa (valor 100).
2. Como porcentaje de sustrato desaparecido durante el proceso, respecto al mismo patrón de lactulosa (valor 100).

Así mismo, se calcula el porcentaje de cada uno de los 3 principales ácidos grasos producidos (acético, propiónico y butírico), respecto al total de AGCC.

### 3.1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fibra de la cerveza es un sustrato altamente fermentable. Las bacterias cecales degradan prácticamente en su totalidad (98,8 %) los compuestos indigeribles de la muestra (Tabla 3.1).

Tabla 3.1 Residuo no fermentado (RNF) y porcentaje de desaparición de materia seca inicial (DMS) después de 24 horas de fermentación<sup>1</sup>

	Lactulosa	Cerveza
RNF(mg) <sup>2</sup>	0 ± 1,41 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,28 <sup>b</sup>
DMS (%) <sup>3</sup>	100 ± 1,41 <sup>a</sup>	98,78 ± 0,24 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Media ± desviación estándar. n=3.

<sup>2</sup> RNF (mg) = Peso residuo Muestra - Peso residuo blanco

<sup>3</sup> Desaparición de materia seca (DMS) (%) = [(Materia seca inicial - RNF) x Materia seca inicial<sup>-1</sup>] x 100

Así mismo, se observa que la mayor parte de los sustratos fermentados son convertidos en AGCC, ya que el porcentaje de fermentabilidad calculado a partir del valor total de AGCC producidos, (Lactulosa: 19,94 μmol/mg de sustrato; fibra de cerveza: 17,10 μmol/mg de sustrato), indica una fermentabilidad del 85,5% (Tabla 3.2).

**Tabla 3.2** Fermentación *in vitro* de la fibra de cerveza. Producción de AGCC (hmoles/mg sustrato seco) y porcentaje de fermentabilidad con respecto a un patrón totalmente fermentable (lactulosa)<sup>1,2</sup>

	Lactulosa	Cerveza
Acético	12,37 ± 0,52 <sup>a</sup>	10,47 ± 0,57 <sup>b</sup>
Propiónico	5,69 ± 0,32 <sup>a</sup>	5,08 ± 0,21 <sup>b</sup>
Butírico	1,88 ± 0,18 <sup>a</sup>	1,55 ± 0,14 <sup>b</sup>
AGCC Totales	19,94 ± 1,01 <sup>a</sup>	17,10 ± 0,88 <sup>b</sup>
Fermentabilidad(%) <sup>3</sup>	100 <sup>a</sup>	85,47 ± 4,40 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Media ± desviación estándar. n=3.

<sup>2</sup> Diferentes superíndices en una fila indican diferencias significativas según ANOVA de una vía (p < 0.05).

<sup>3</sup> Fermentabilidad (%) = (AGCC Totales Muestra x AGCC totales<sup>1</sup> Lactulosa 24 Horas) x 100.

La gran producción de ácidos y gases origina una bajada significativa del pH del medio y un aumento de la presión ejercida por los productos de fermentación de 7.5 psi (Tabla 3.3).

**Tabla 3.3** Cambios en los valores de pH y presión ejercida por los gases producidos después de 24 horas de fermentación<sup>1</sup>

	Lactulosa	Cerveza
pH 0 horas	6,84 ± 0,04 <sup>a</sup>	6,86 ± 0,01 <sup>a</sup>
pH 24 horas	6,54 ± 0,04 <sup>a</sup>	6,61 ± 0,08 <sup>a</sup>
Presión 0 horas	1 ± 1 <sup>a</sup>	1 ± 0 <sup>a</sup>
Presión 24 horas	9 ± 0,1	8,50 ± 0,71

<sup>1</sup> Media ± desviación estándar. n=3.

El ácido producido en mayor cantidad es el acético, tal y como es habitual para la mayoría de los compuestos fermentados (Tabla 3.4).

**Tabla 3.4** Fermentación *in vitro* de la fibra de la cerveza. Proporciones molares (%) de acético, propiónico y butírico<sup>1,2</sup>

	Lactulosa	Cerveza
Acético	62 ± 0,6 <sup>a</sup>	61 ± 0,5 <sup>a</sup>
Propiónico	29 ± 0,3 <sup>a</sup>	30 ± 0,4 <sup>b</sup>
Butírico	9 ± 0,4 <sup>a</sup>	9 ± 0,4 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Media ± desviación estándar. n=3.

<sup>2</sup> Diferentes superíndices en una fila indican diferencias significativas según ANOVA de una vía (p < 0.05).

En el caso de la fibra de la cerveza, es interesante subrayar el alto porcentaje de ácido propiónico producido (30%), ya que la información bibliográfica relaciona este compuesto con un posible efecto hipocolesterémico. Los resultados son similares a los obtenidos por otros autores en la fermentación de β-glucanos, principales componentes de la fracción indigerible de la cerveza (Tabla 3.5).

**Tabla 3.5** Producción de ácidos grasos de cadena corta de diversas fuentes de fibra soluble. Fermentabilidad y proporciones molares. (Ac: acético; Pro: propiónico; But: butírico)

	Fermentabilidad (%)	Ac	% Pr	Bu	Referencia
TIPOS DE FIBRA DIETÉTICA					
Lactulosa	100	81	12	7	Wang y col., 1993
b-glucanos	100 <sup>*</sup>	67	15	15	Berggren y col., 1993
Arabinogalactanos	65	68	24	8	Wang y col., 1993
Goma guar	71 <sup>*</sup>	52	34	14	Bourquin y col., 1996
Goma arábica	77 <sup>*</sup>	66	21	13	Bourquin y col., 1996
Pectina de cítrico	93 <sup>*</sup>	90	7	3	Tigermeyer y col., 1991
Psyllium	27 <sup>*</sup>	48	38	14	Campbell y Fahey 1997
Inulina	97	72	19	8	Wang y col., 1993
Oligofructosa	88	78	14	8	Wang y col., 1993
Salvado de trigo	25	61	13	26	Bourquin y col., 1996
Avena	57	59	19	22	Bourquin y col., 1996
Soja	58	62	20	18	Bourquin y col., 1996

<sup>\*</sup> Cálculo a partir del residuo no fermentado

Otras fibras solubles de fermentabilidad similar a la de cerveza, producen una menor cantidad de este ácido (pectinas de cítricos: 7 %; inulina: 19 %).

Los altos valores de fermentabilidad de la muestra, así como la cantidad total de AGCC y el perfil de los mismos, nos permite considerar que la fibra de cerveza es beneficiosa para la salud gastrointestinal, aunque no es esperable que el consumidor de cerveza se beneficie de forma significativa de los efectos de su fermentación colónica debido a que el contenido en fibra es excesivamente bajo.



## 3.2. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

### 3.2.1. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.2.1.1. Muestras

- Cervezas caracterizadas en el Capítulo 2.
- Vino blanco
- Vino rosado
- Vino tinto

#### 3.2.1.2. Métodos

##### ■ Contenido en Polifenoles Totales de cada una de las seis cervezas en estudio:

Se determinó mediante la reacción de Folin-Ciocalteu (Montreau, 1972) interpolando en la recta de calibrado de ácido gálico. Los resultados se expresan como mg/l de ácido gálico.

##### ■ Capacidad Antioxidante de las muestras, medida en función de dos parámetros diferentes:

#### 1. Capacidad de reducción férrica: FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant power)

El método FRAP (Benzie y Strain, 1996), que se lleva a cabo con algunas modificaciones (Pulido y col., 2000), determina la capacidad de reducción férrica que tiene una muestra. A pH bajo y en presencia de un reductor (antioxidante), el complejo de tripiridiltriiazina (TPTZ) con Fe (III) se reduce a la forma ferrosa, desarrollando un intenso color azul con una absorción máxima a 595 nm, que permite ser cuantificado espectrofotométricamente por interpolación en una recta de calibrado de un patrón, en este caso Trolox (análogo hidrosoluble de la Vitamina E). Se mide el incremento de absorbancia a los 30 minutos de comenzar la reacción.

#### 2. Capacidad de secuestrar el radical libre 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS<sup>+</sup>).

Se aplicará la estrategia de decoloración recientemente mejorada (Re y col., 1999). En ella, este radical catión libre, que tiene un máximo de absorción a 658 nm, es pre-formado por oxidación de ABTS con persulfato potásico. En presencia de antioxidantes es retirado del medio de reacción lo que provoca una disminución de la absorbancia a esta longitud de onda. Este descenso es monitorizado espectro-

fotométricamente, y permite la cuantificación del contenido en antioxidantes presentes en la muestra, utilizando la técnica del área bajo la curva.

### 3.2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.2.2.1. Determinación del contenido en polifenoles de las cervezas estudiadas

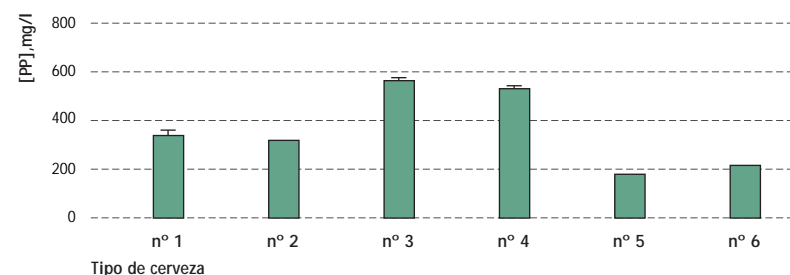
Los resultados obtenidos de la determinación del contenido en polifenoles totales oscilan entre 550 mg/l para las de mayor contenido alcohólico o mayor coloración, 300 mg/l para las cervezas clásicas, y 200 mg/l para las cervezas sin alcohol (Tabla 3.6 y Figura 3.2).

Tabla 3.6 Determinación del contenido en polifenoles de las cervezas

Cerveza nº	Contenido en Polifenoles, mg/l
1	336 ± 8 <sup>d</sup>
2	312 ± 1 <sup>c</sup>
3	572 ± 11 <sup>f</sup>
4	549 ± 5 <sup>e</sup>
5	189 ± 1 <sup>a</sup>
6	218 ± 2 <sup>b</sup>

Valores con igual letra no presentan diferencias estadísticamente significativas para  $P=0,05$

Figura 3.2 Determinación del contenido en polifenoles de las cervezas



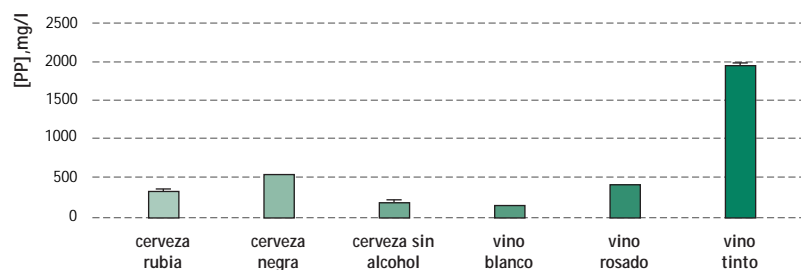
Para cada una de las cervezas analizadas se encontraron valores diferentes, pero que pueden agruparse en tres grupos principales: aquellas cervezas con mayor contenido alcohólico (cerveza nº4) o con una mayor coloración (cerveza nº3) muestran un con-

tenido en polifenoles superior al resto y muy semejante entre sí. Por otro lado las cervezas más ampliamente consumidas (contenido alcohólico medio y coloración "rubia") (cervezas nº1 y nº2) presentan un contenido en polifenoles medio y muy semejante entre ambas. Por último, las cervezas con menor graduación, habitualmente conocidas como "cervezas sin alcohol" (cervezas nº5 y nº6) tienen un contenido en polifenoles sensiblemente inferior a las anteriores y también podemos ver que existen pocas diferencias entre las dos evaluadas. Estos resultados están, aunque por debajo del valor medio, dentro de los rangos referidos por González y col., (2001).

### 3.2.2.2. Comparación del contenido en polifenoles con el de otras bebidas

Existe en la bibliografía una gran cantidad de estudios que relacionan directamente el beneficio en la salud del consumo moderado de vino tinto con su contenido en antioxidantes, especialmente compuestos polifenólicos (Shrikhande y col., 2000; Teissedre y col., 2000). Puede ser por ello de gran interés comparar el contenido en polifenoles de las cervezas evaluadas con el que presentan los tres grupos de vino más consumidos (vino blanco, vino rosado y vino tinto) cuyos resultados también han sido obtenidos durante este trabajo. Esta comparación permite dar sentido de una manera más objetiva a los resultados anteriores (Figura 3.3).

**Figura 3.3** Comparación del contenido en polifenoles de las cervezas con los tres tipos principales de vino



Puede concluirse que el contenido en polifenoles totales de las cervezas es superior al del vino blanco y, en general, del mismo orden que el del vino rosado, siendo éste notablemente inferior al del vino tinto.

### 3.2.2.3. Evaluación de la capacidad antioxidante de las cervezas en estudio

La actividad antioxidante de las cervezas ha sido evaluada a través de una metodología bifuncional, lo que permite considerar dos mecanismos diferentes de actuación de los antioxidantes de la muestra. Así, la medida de la capacidad antioxidante mediante FRAP nos da una idea de la capacidad redox de la muestra. Por otro lado, la medida de la capacidad antioxidante por ABTS permite evaluar la capacidad de la muestra para la captura de radicales libres. El análisis de los dos resultados para cada muestra nos proporciona una amplia información sobre la capacidad antioxidante global de la muestra en estudio.

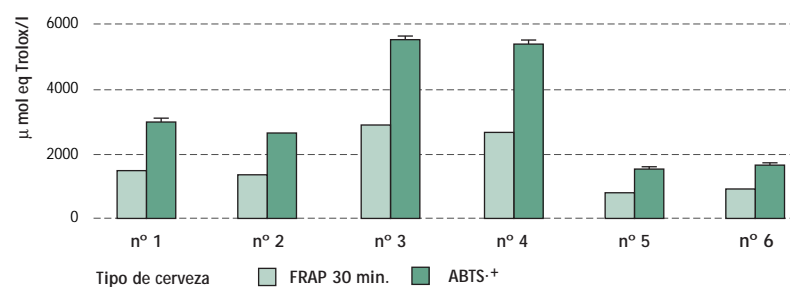
Los resultados obtenidos (Tabla 3.7 y Figura 3.4) son expresados como  $\mu\text{mol eq Trolox/L}$ , es decir,  $\mu\text{mol}$  de Trolox que muestran una capacidad antioxidante equivalente a 1l de cerveza. El Trolox (equivalente hidrosoluble de la vitamina E) es ampliamente utilizado como patrón para la evaluación de la capacidad antioxidante de muestras de naturaleza acuosa.

**Tabla 3.7** Evaluación de la capacidad antioxidante de las cervezas por FRAP y ABTS, resultados expresados como  $\mu\text{mol eq Trolox/l}$

Cerveza nº	FRAP <sub>30min.</sub>	ABTS <sup>+</sup>
1	1485 ± 70 <sup>c</sup>	3056 ± 50 <sup>d</sup>
2	1396 ± 32 <sup>c</sup>	2510 ± 30 <sup>c</sup>
3	2788 ± 79 <sup>e</sup>	5365 ± 219 <sup>f</sup>
4	2631 ± 108 <sup>d</sup>	5110 ± 144 <sup>e</sup>
5	756 ± 36 <sup>a</sup>	1558 ± 80 <sup>a</sup>
6	912 ± 28 <sup>b</sup>	1735 ± 13 <sup>b</sup>

Valores con igual letra no presentan diferencias estadísticamente significativas para  $P=0,05$

**Figura 3.4** Evaluación de la capacidad antioxidante de las cervezas por FRAP y ABTS

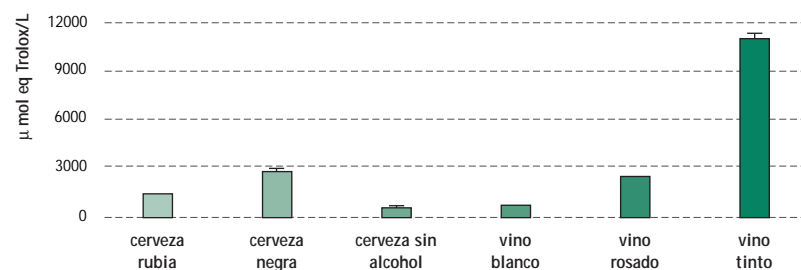


Los resultados anteriores varían entre 800 y 2800  $\mu\text{mol eq Trolox/l}$  por FRAP y entre 1600 y 5400  $\mu\text{mol eq Trolox/l}$  por ABTS. Puede destacarse como, en todos los casos, la capacidad antioxidante procedente de la medida por ABTS proporciona un resultado superior a la medida por FRAP. Esto indica que las especies antioxidantes de la cerveza presentan mayor capacidad para la captura de radicales que para actuar como reductores frente a diferentes oxidantes que puedan alterar la muestra. Además se observa la misma tendencia que ya ha sido comentada para el caso del contenido en polifenoles totales. Las cervezas con mayor capacidad antioxidante son aquellas con mayor contenido alcohólico (cerveza n°4) o con mayor coloración (cerveza n°3). Éstas son seguidas por las cervezas de contenido alcohólico medio y coloración "rubia" (cervezas n°1 y n°2) y, por último, las cervezas con menor graduación ("cervezas sin alcohol") (cervezas n°5 y n°6) son las que también presentan menor capacidad antioxidante por ambos métodos.

#### 3.2.2.4. Comparación de la capacidad antioxidante con la de otras bebidas

Realizando una comparación de la capacidad antioxidante por FRAP de las seis cervezas estudiadas con la que presentan tres tipos diferentes de vinos se observa lo siguiente (Figura 3.5):

**Figura 3.5** Comparación entre la capacidad antioxidante por FRAP de las cervezas y la de los tres tipos principales de vino



A la vista de los resultados anteriores, se deduce como, de manera semejante al contenido en polifenoles, la capacidad media antioxidante de las cervezas es superior a la del vino blanco, similar a la del vino rosado, pero sensiblemente inferior a la del

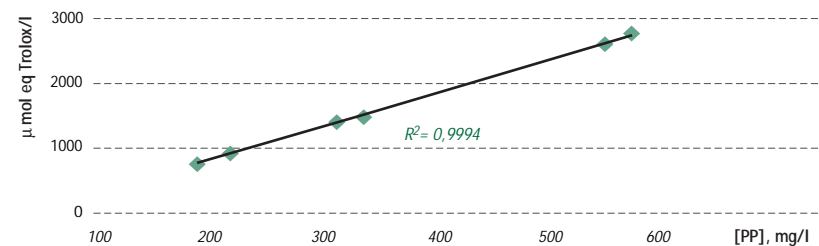
vino tinto. Esto no coincide con lo referido en un estudio previo (González y col., 2001), donde se concluye que la cerveza tiene una capacidad antioxidante similar a la de los vinos. Nuestros datos indican que el vino de mayor consumo (tinto) tiene una capacidad antioxidante muy superior a la de la cerveza.

#### 3.2.2.5. Estudio de la correlación entre el contenido en polifenoles y la capacidad antioxidante determinada por dos métodos diferentes

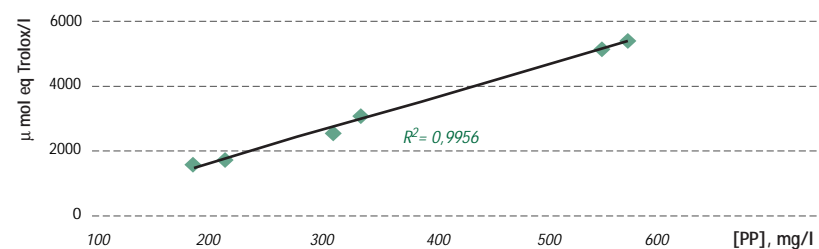
Los resultados obtenidos del análisis del contenido en polifenoles totales y la capacidad antioxidante de las seis cervezas, medida por dos métodos diferentes, han sido evaluados para analizar las posibles correlaciones lineales entre ellos.

Las rectas de regresión lineal obtenidas y los coeficientes cuadrados de correlación, se muestran a continuación (Figuras 3.6, 3.7 y 3.8).

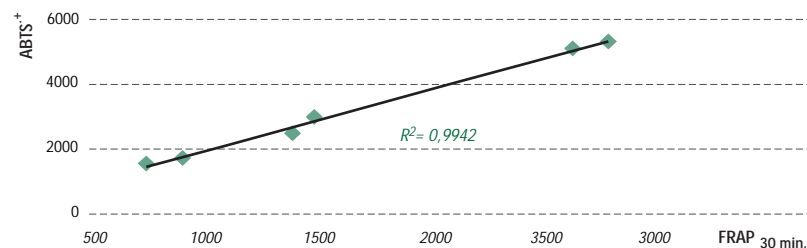
**Figura 3.6** Correlación entre el contenido en polifenoles y la capacidad antioxidante (FRAP<sub>30min</sub>)



**Figura 3.7** Correlación entre el contenido en polifenoles y la capacidad antioxidante (ABTS +)



**Figura 3.8** Correlación entre la medida de la capacidad antioxidante por FRAP<sub>30 min.</sub> y por ABTS<sup>+</sup>, expresada como  $\mu\text{mol eq Trolox/l}$



Los resultados obtenidos muestran correlaciones lineales estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre los tres parámetros estudiados (contenido en polifenoles, capacidad antioxidante: FRAP y ABTS), lo que permite establecer una relación directa entre ellos y justifica el paralelismo encontrado al analizar los resultados de contenido en polifenoles y capacidad antioxidante para las muestras de cerveza analizadas. Es decir, la capacidad antioxidante evaluada por ambos métodos es una propiedad relacionada proporcionalmente con el contenido en compuestos polifenólicos. No ocurre lo mismo con el estudio previo ya referido (González y col., 2001) donde se evalúa la capacidad antioxidante por el método de Fogliano y col., (1999), no siendo la correlación encontrada entre capacidad antioxidante y el contenido en polifenoles estadísticamente significativa.

## PREPARACIÓN DE NUEVOS TIPOS DE CERVEZA SALUDABLE

### 4.1. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1.1. MUESTRAS

- Cervezas caracterizadas en el Capítulo 2
- Fibras solubles
- Extractos de productos vegetales
- Concentrado de polifenoles de uva
- Patrones
  - Polifenoles: rutina, ácido gálico, catequina
  - Proteína: albúmina de suero bovino
  - Azúcares: inulina, ácido D-galactourónico, lactulosa
  - Ágar
  - Pectina de manzana

#### 4.1.2. MÉTODOS (ya descrito en el capítulo 3)

- **Determinación del contenido en Polifenoles Totales (reacción de Folin-Ciocalteu).**
- **Determinación de la Capacidad Antioxidante:**
  1. Capacidad de reducción férrica: FRAP (The Ferric Reducing Ability of Plasma)
  2. Capacidad de secuestrar el radical libre 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS<sup>+</sup>)

### 4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.2.1. ENRIQUECIMIENTO DE LAS CERVEZAS EN FIBRA

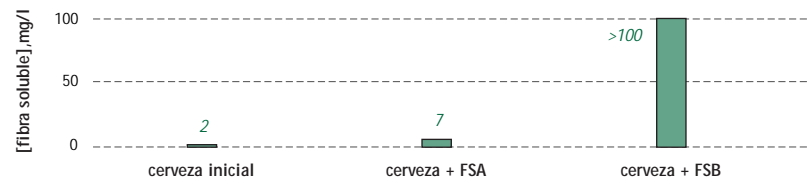
Como se ha descrito en capítulos anteriores, aunque la fibra de la cerveza es fibra soluble de alta calidad nutricional, su contenido (2g/l) es relativamente bajo. Puesto que en general, la fibra aportada en la dieta procedente de alimentos sólidos es mayoritariamente de naturaleza insoluble y existe un importante déficit de fibra soluble (Goñi, 2001).

Por ello, obtener una cerveza saludable enriquecida en fibra dietética (soluble) puede ser de interés para mantener una dieta equilibrada.

Con el objetivo de enriquecer la cerveza, se eligió una cerveza sin alcohol (cerveza n°5) debido al mayor interés que pudiera tener como producto saludable.

Para el enriquecimiento se utilizaron dos tipos de fibras solubles (A y B). Los resultados relativos al enriquecimiento alcanzado con cada una de las fibras sin modificar las características físicas de la cerveza se muestran en la Figura 4.1.

**Figura 4.1** Enriquecimiento de cerveza sin alcohol con oligosacáridos



De los resultados anteriores se deduce que sería posible alcanzar la cantidad diaria recomendada de fibra soluble con un consumo razonable de cerveza enriquecida.

#### 4.2.2. ENRIQUECIMIENTO DE LAS CERVEZAS CON ANTIOXIDANTES NATURALES

Teniendo en cuenta los resultados del Capítulo 3, donde se compara el contenido en polifenoles totales y la capacidad antioxidante de las cervezas estudiadas con los tres tipos principales de vino (blanco, rosado y tinto), podría ser de interés obtener una o varias cervezas que presenten un contenido en polifenoles y, por tanto, una capacidad antioxidante similar a la del vino tinto, cuyo consumo moderado es reconocido como cardiosaludable.

Después de varios estudios de enriquecimiento de la cerveza n°1 con:

- a. Patrones (compuestos polifenólicos y proteína)
- b. Extractos procedentes de fibras naturales de origen vegetal y con alto contenido en polifenoles

La conclusión más destacada a la que pudo llegarse fue que el parámetro limitante para el posible enriquecimiento de las cervezas con antioxidantes procedentes de un

producto vegetal es la interacción existente entre dichos polifenoles y las proteínas presentes en este medio, ya sean de la propia cerveza o incluidas en el extracto concentrado de polifenoles. Esta interacción está bien documentada en bibliografía (Siebert, 1999; McMurrough y col., 1999; Lermusieau, y col., 2001) y tiene como consecuencia la aparición de un precipitado que impide su utilización con fines comerciales.

Como resultado de los experimentos realizados, sólo el extracto que denominamos CPN dio resultados positivos. Este concentrado de polifenoles, permite enriquecer las cervezas en su contenido en polifenoles, lo que conlleva un aumento significativo de su capacidad antioxidante sin producir precipitados ni enturbiamientos.

Con el objetivo de enriquecer la cerveza hasta un contenido de polifenoles parecido al del vino tinto, se eligieron tres muestras:

- *cerveza n°1 ("rubia" graduación alcohólica media)*
- *cerveza n°3 (coloración negra)*
- *Cerveza n°5 ("rubia" sin contenido alcohólico)*

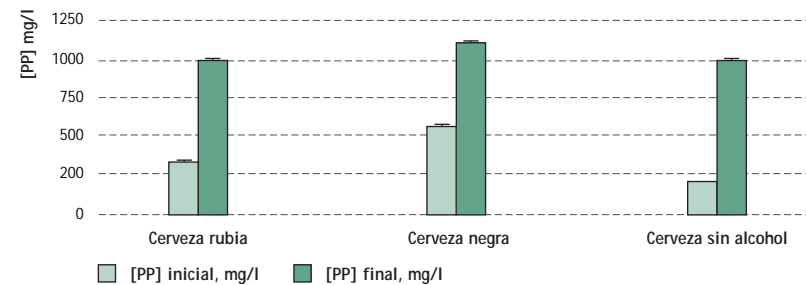
A continuación (Tabla 4.1 y Figura 4.2) se muestran los resultados obtenidos en cuanto a contenido en polifenoles de las cervezas enriquecidas con CPN.

**Tabla 4.1** Determinación del contenido en polifenoles de las cervezas antes y después del enriquecimiento

Tipo de cerveza	[PP] inicial, mg/L	[PP] final, mg/L
Rubia	336 ± 8 <sup>b</sup>	1000 ± 20 <sup>d</sup>
Negra	570 ± 10 <sup>c</sup>	1120 ± 5 <sup>e</sup>
Sin alcohol	189 ± 1 <sup>a</sup>	1008 ± 9 <sup>d</sup>

Valores con igual letra no presentan diferencias estadísticamente significativas para P=0,05

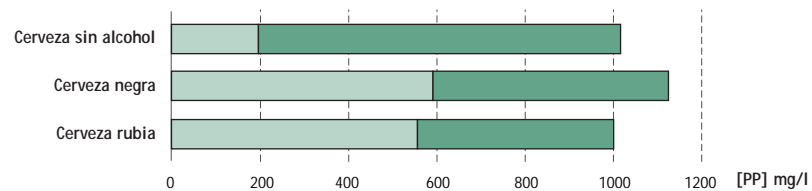
**Figura 4.2** Contenido en polifenoles de las cervezas antes y después del enriquecimiento



El contenido final en polifenoles de cada una de las "nuevas cervezas" es muy superior al inicial en todos los casos, lo que puede suponer ofrecer productos enriquecidos en polifenoles y, por tanto, saludables en un amplio rango de cervezas (rubia, sin alcohol o negra).

Gráficamente, en la Figura 4.3 se muestra el aumento en la proporción del contenido en polifenoles después del enriquecimiento con el CPN respecto a la cantidad inicial para las tres cervezas estudiadas.

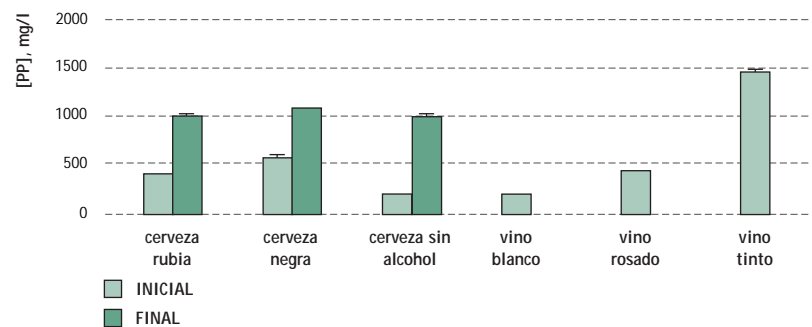
**Figura 4.3** Aumento del contenido en polifenoles con el enriquecimiento



Lógicamente y como puede observarse en la figura anterior, el máximo enriquecimiento se produce con la cerveza nº5, puesto que era la que presentaba un menor contenido en polifenoles inicialmente.

Comparando gráficamente el contenido en polifenoles que presentan las cervezas antes y después del enriquecimiento con los tres tipos de vino, los resultados son los mostrados en la Figura 4.4.

**Figura 4.4** Comparación del contenido final de polifenoles de las cervezas con el de vinos



Así, de la comparación que muestra la figura anterior, podemos destacar el importante incremento producido en las cervezas: han pasado de un contenido similar al del vino rosado a un contenido comparable con el del vino tinto.

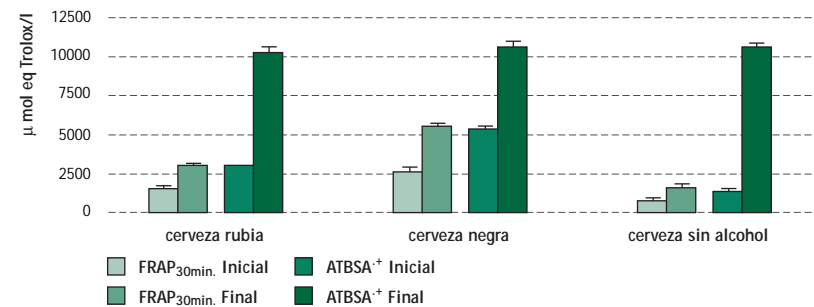
Con respecto al estudio de la capacidad antioxidante de estas nuevas cervezas, se ha realizado un análisis bifuncional (FRAP y ABTS) cuyos resultados son mostrados en la Tabla 4.2 y Figura 4.5 donde se compara la actividad antioxidante de las cervezas enriquecidas con la que presentaban inicialmente:

**Tabla 4.2** Evaluación de la capacidad antioxidante de las cervezas antes y después del enriquecimiento

Tipo de cerveza	FRAP <sub>30min.</sub> inicial	FRAP <sub>30min.</sub> final	ABTS+ inicial	ABTS+ final
Rubia	1485 ± 120 <sup>b</sup>	3056 ± 90 <sup>e</sup>	3056 ± 50 <sup>h</sup>	10250 ± 240 <sup>j</sup>
Negra	2788 ± 130 <sup>d</sup>	5779 ± 170 <sup>f</sup>	5365 ± 90 <sup>i</sup>	10910 ± 270 <sup>j</sup>
Sin alcohol	756 ± 80 <sup>a</sup>	1914 ± 80 <sup>c</sup>	1558 ± 80 <sup>g</sup>	10780 ± 230 <sup>j</sup>

Valores con igual letra no presentan diferencias estadísticamente significativas para P=0,05

**Figura 4.5** Evaluación de la capacidad antioxidante de las cervezas antes y después del enriquecimiento

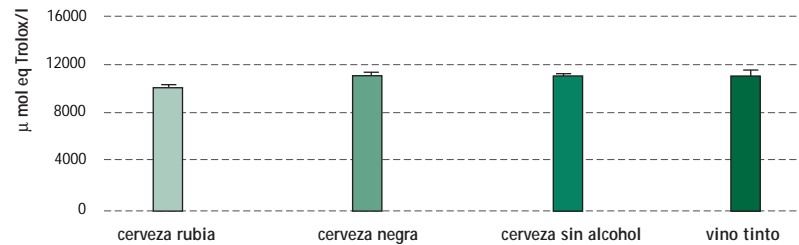


Lo más significativo de estos resultados es el importante aumento en la capacidad antioxidante que se produce medida con el método de ABTS+. Como ya ha sido comentado, este valor está relacionado con la capacidad que muestran los compuestos con acción antioxidante para la captación de radicales libres.



Si se realiza una comparación de la capacidad antioxidante mostrada por las nuevas cervezas enriquecidas con CPN y la de los vinos, los resultados obtenidos se reflejan en la Figura 4.6.

**Figura 4.6** Comparación de la capacidad antioxidante final (ABTS<sup>+</sup>) de las cervezas con la de los vinos



El resultado final tras el enriquecimiento con CPN, es la posibilidad de tres nuevas cervezas que presentan un contenido en polifenoles y una capacidad antioxidante comparable a la que presenta el vino tinto.

## FIBRA, CERVEZA Y CONSUMO

Las recomendaciones dietéticas generales de nutriólogos y organizaciones sanitarias, respecto al consumo de fibra, incluyendo la OMS y los códigos europeos contra cáncer y enfermedades cardiovasculares fijan una cantidad mínima de 30 g de fibra por persona al día, de la cual al menos un 30% debe ser fibra soluble.

Sin embargo, la ingesta en los países desarrollados se estima en cantidades sensiblemente inferiores, próximas a 20 g/persona/día (Cumings y Frolich, 1993).

El consumo actual en España de FDT es de 18 g/p/d, de los cuales, tan solo 6 g corresponden a la fracción soluble (33%) (Tabla 5.1).

**Tabla 5.1** Aporte de fibra en la dieta española (2000)

Grupo de alimentos	Consumo (g/p/d)	Aporte de fibra soluble (g)	Aporte de fibra insoluble(g)
Cereales	222	2,16	5,66
Verduras y hortalizas	315	1,82	3,71
Legumbres	15	0,24	0,57
Frutas frescas	225	1,34	2,10
Frutos secos	5	0,04	0,14
Bebidas*	292	0,54	0
<b>TOTAL</b>		<b>6,14</b>	<b>12,18</b>
<b>Fibra dietética total (FI + FS)= 18,32 g</b>			

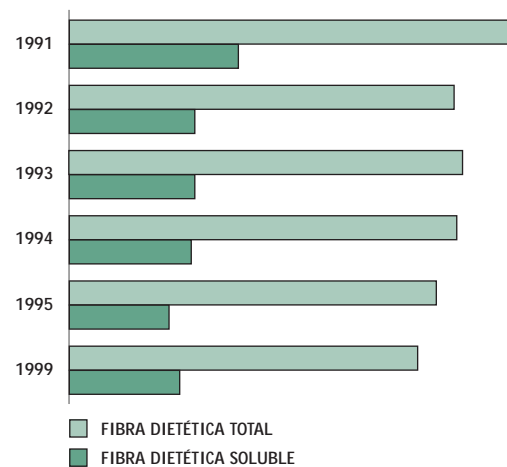
\* cervezas, vinos y zumos (ml).

Aunque el consumo de fibra total es deficitario, al menos la calidad de la ingesta española es la recomendada, dado que un tercio del total corresponde a la fracción soluble.

Esta situación es más favorable que en los países del centro y norte de Europa, donde además del déficit cuantitativo, se evidencia un porcentaje de fibra soluble sensiblemente inferior al 30%. Estas diferencias se deben fundamentalmente a un mayor consumo de fibra de cereales y menor ingesta de frutas y verduras.

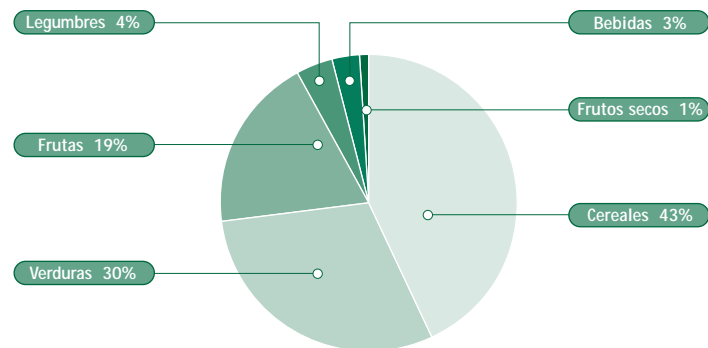
Hasta 1995, se observó una disminución progresiva en el consumo de fibra en la población española (Goñi, 2001). Ahora bien, en los últimos años, parece que se ha conseguido frenar el descenso y estabilizar el consumo, aunque los valores siguen estando por debajo de las recomendaciones dietéticas (Figura 5.1).

**Figura 5.1** Evolución del consumo de fibra dietética en la dieta española (1991-1999)



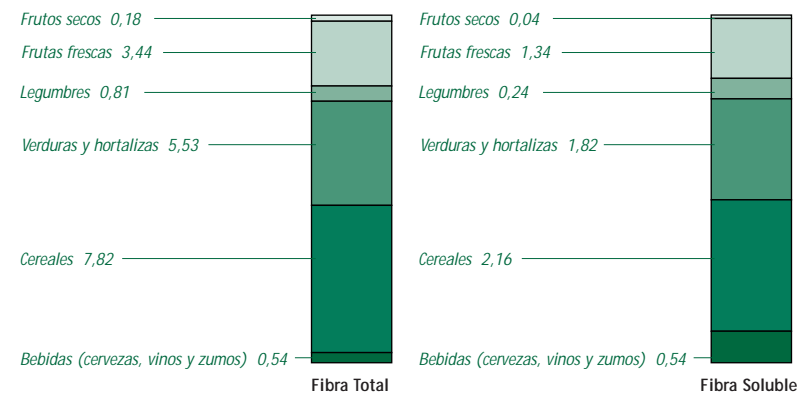
Como puede observarse en la Figura 5.2, los cereales, verduras, hortalizas y frutas frescas aportan más del 90% del total de la fibra, siendo muy pequeña la contribución del grupo de bebidas (3%).

**Figura 5.2** Aporte de fibra dietética en la dieta española por grupo de alimentos (2000)



Sin embargo, el 11% de la ingesta total de fibra soluble es aportado por el consumo de cervezas, vinos y zumos (Figura 5.3), correspondiendo la mayor parte a la cerveza (5%).

**Figura 5.3** Aporte de fibra dietética en la dieta española (g/grupos de alimentos, 2000)



Las bebidas naturales de amplio consumo (zumos de frutas, cervezas y vinos) tienen un contenido bajo pero significativo de fibra dietética. Al proceder del prensado y/o fermentación de frutas o cereales, una parte de la fibra soluble de estos productos vegetales se solubiliza en la bebida correspondiente.

Por el contrario, las bebidas refrescantes (gaseosas, refrescos, tónicas, colas), licores y alimentos líquidos como la leche y el aceite, no tienen cantidad alguna de fibra.

Diariamente consumimos por término medio 1kg de alimentos sólidos (vegetales, carnes, pescados, huevos) y 1kg de líquidos (leche, aceite, cerveza, vino, refrescos, zumos). Nuestra ingesta de fibra procede, casi en su totalidad, de los alimentos sólidos vegetales. No obstante, es lógico pensar que las bebidas puedan ser un buen medio para incrementar la ingesta de fibra, especialmente fibra soluble, actualmente deficitaria.

Para lograr una ingesta adecuada de fibra, la forma más adecuada sería aumentar sensiblemente el consumo de legumbres, frutas y verduras y en general, de productos de origen vegetal. Pero ello supone cambios drásticos en los hábitos alimentarios del consumidor, difíciles de conseguir en la mayoría de los casos. Una alternativa más

sencilla sería consumir alimentos habituales enriquecidos en fibra, lo que ha propiciado la aparición en el mercado de numerosos productos de este tipo. La tendencia de la industria alimentaria a enriquecer en fibra los alimentos para presentarlos al consumidor como alimentos más saludables, ha hecho que además de productos sólidos, hoy se encuentren en el mercado numerosas bebidas enriquecidas en fibra, entre las que no se encuentra la cerveza ni el vino. En la Tabla 5.2 se incluyen los alimentos enriquecidos que habitualmente pueden encontrarse en supermercados.

Tabla 5.2 Alimentos más comunes enriquecidos en fibra

Alimento	Contenido de fibra (g/100g)	Ingredientes usados
Cereales de desayuno	5-29	Salvado de trigo
Panes	5-24	Harinas integrales, salvados de cereales
Galletas	3-10	Harinas integrales, salvados de cereales
Productos cárnicos	2-10	Fibras de cereales, soja, frutas, guisante
Mermelada	3-5	Fibras de frutas y oligosacáridos
Yogur	1-1,5	Fibras de cereales y frutas
Leche	0,5-1	Fructooligosacáridos
Café	0,5-0,7 (g/taza)	Fructooligosacáridos
Zumos de frutas	0,4-1	Fructooligosacáridos

Como se ha referido anteriormente, las dietas de los países desarrollados son deficitarias en fibra, pero el déficit es más acusado en el caso de la fibra soluble. Un objetivo razonable es conseguir la ingesta diaria de 30 g de fibra total, constituida por 20 g de fibra insoluble y 10 g de fibra soluble.

Como se puede observar en la Tabla 5.2, los alimentos sólidos enriquecidos en fibra de mayor consumo (panes, galletas, cereales de desayuno), pueden contribuir fundamentalmente a incrementar la ingesta de fibra insoluble, dado que sus ingredientes son salvados de cereales, pero apenas modifican el consumo de fibra soluble. De ahí la posibilidad de emplear bebidas para lograr una ingesta óptima de fibra soluble.

En esta línea, muy recientemente han aparecido en el mercado bebidas enriquecidas en fibra, como leche, zumos o café. La cerveza también podría contribuir de forma significativa a la ingesta de fibra soluble, dado su amplio consumo, superior

al de zumos de frutas, sector que ya ha iniciado la comercialización de este tipo de productos enriquecidos.

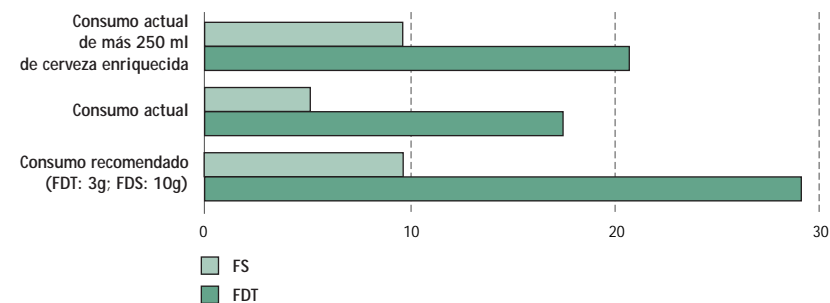
En la Tabla 5.3, se indica la contribución del consumo de cerveza a la ingesta de fibra en nuestra dieta.

Tabla 5.3 Contribución de la cerveza a la ingesta de fibra

Consumo/persona/día	Contenido en fibra	Contribución (%) a la ingesta actual de		Contribución (%) a la ingesta recomendada de
		Fibra Total	Fibra Soluble	Fibra Soluble
Actual (150 mL)	0,3 g	1,6	5	3
Moderado (500 mL)	1,0 g	5,6	16,7	10
Cerveza enriquecida (250 mL)	4,0 g	22,2	66,7	40

Como se ha indicado en el capítulo 4, técnicamente sería posible fabricar cervezas enriquecidas en fibra y/o antioxidantes naturales. El consumo diario de 250 ml de una cerveza enriquecida que contuviera 16 g/l de fibra, supondría elevar la ingesta de fibra soluble hasta los valores recomendados, e incrementar ligeramente el de fibra total (Figura 5.4).

Figura 5.4



## 6

## CONCLUSIONES

## 6.1. RELACIONADAS CON LA SALUD

1. El contenido de fibra dietética en las cervezas con alcohol españolas es de 2 g por litro, siendo algo inferior (1.3g/l) en las cervezas sin alcohol.
2. La fibra de la cerveza, constituida fundamentalmente por b-glucanos y arabinosilanos, presenta una alta calidad nutricional.
3. La elevada fermentabilidad colónica (98%) de la fibra de cerveza, con producción de ácidos propiónico y butírico y disminución de pH, es un aspecto positivo para la salud intestinal.
4. En base a los datos de consumo per capita de alimentos en España, la cerveza sólo aporta un 1,5% en la ingesta de fibra total en nuestra dieta y un 5% de la fibra soluble, cantidades poco significativas desde un punto de vista fisiológico. No obstante, es la bebida que presenta mayor aporte de fibra en nuestra dieta, superior al total de zumos de frutas y el resto de bebidas alcohólicas y no alcohólicas.
5. Un consumo moderado de cerveza del orden de 500 ml/día supondría un 17% de la ingesta actual de fibra soluble en la dieta española.
6. Es posible enriquecer la cerveza con fibra dietética y/o con antioxidantes naturales para preparar nuevos tipos de cerveza saludable. Las cervezas enriquecidas podrían:
  - a. *eleva el consumo de fibra soluble hasta alcanzar las recomendaciones dietéticas establecidas*
  - b. *igualar su capacidad antioxidante a la del vino tinto*

## 6.2. TÉCNICAS

1. El método de análisis de fibra de la AOAC, oficial en numerosos países y utilizado para etiquetado nutricional, no es técnicamente válido para determinación de fibra en cerveza. Ha sido necesario preparar una metodología específica para análisis de fibra en bebidas.
2. La capacidad antioxidante de las cervezas españolas de mayor consumo es equivalente a 70 mg de Trolox (equivalente hidrosoluble de Vitamina E) por 100 ml de cerveza, lo que se correlaciona con su contenido de sustancias polifenólicas. Esta capacidad es equivalente a la del vino rosado, pero sensiblemente inferior a la del vino tinto reconocido como cardiosaludable.
3. Parece viable técnicamente enriquecer la cerveza con fibra soluble en cantidad suficiente para darle un valor dietético significativo y/o compuestos bioactivos para conseguir una capacidad antioxidante similar a la del vino tinto.

- 1 Adiotomre, J., Eastwood, M.A., Edwards, C.A. & Brydon, W.G. (1990). Dietary fiber: in vitro methods that anticipate nutrition and metabolic activity in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 52: 128-134.
- 2 Asp, N-G., Van Amelsvoort, J.M.M. & Hautvast, J.G.A.J. (1996). Nutritional implications of resistant starch. *Nutr. Res. Rev.* 9: 1-31.
- 3 Barry, T.N., Allsop, T.F. & Redekopp, C. (1986). The role of condensed tannins in the nutritiobal value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 5. Effects of the endocrine system and on adipose tissue metabolism. *Br. J. Nutr.* 56: 607-614.
- 4 Barry, J-L., Hoebler, C., Macfarlane, G.T., Macfarlane, S., Mathers, J.C., Reed, K.A., Mortensen, P.B., Nordgaard, I., Rowland, I.R. & Rumney, C.J. (1995). Estimation of the fermentability of dietary fibre in vitro: a European interlaboratory study. *Br. J. Nutr.* 74: 303-322.
- 5 Benzie, I. F. F. y Strain J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 1996, 239, 70-76.
- 6 Bergren AM, Björck IME, Nyman, ME. Short-chain fatty acid content and pH in cecum of rats given various sources of carbohydrates. *J. Sci. Food Agric.* 1993, 63: 397-406.
- 7 Bingham, S.A., Pett, S. & Day, K.C. (1990). NSP intake of a representative sample of british adults. *J. Human Nutr. Diet.* 3: 339-344.
- 8 Bourquin, L.D. Titgemeyer, E.C. & Fahey, G.C. (1996). Fermentation of various dietary fiber sources by human fecal bacteria. *Nutr. Res.*, 16: 1119-1131.
- 9 Bravo, L., Abia, R., Eastwood, M.A. & Saura-Calixto, F. (1994). Degradation of polyphenols (catechin and tannin acid) in rat intestinal tract. Effect on colonic fermentation and faecal output. *Br. J. Nutr.* 71: 933-946.
- 10 Brudzynski, A. (1993). The role of beta-glucans in brewing. *Przemysl Fermentacyjny i Owocowo Warzywny*, 37, 8-9.
- 11 Campbell, J.M. & Fahey, G.C. (1997). Psyllium and methylcellulose fermentation properties in relation to insoluble and soluble fiber standards. *Nutr. Res.* 17: 619-629.
- 12 Chesson, A., Stewart, C.S. & Wallace, R.J. (1982). Influence of plant phenolic acids on growth and cellulolytic activity of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 597-603.
- 13 Cherbut, C.; Barry, J.L.; Lairon, D. y Durand, M. (Eds.). (1995). Dietary fibre mechanisms of action in human physiology and metabolism. *John Libbey Eurotext, France.*
- 14 Cho, S.S. y Dreher, M.L. (Eds.). (2001). *Handbook of dietary fiber.* Marcel Dekker, Inc. New York.
- 15 Cummings, J.H. & Macfarlane, G.T. (1991). The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J. Appl. Bacteriol.* 70: 443-459.
- 16 Cummings, J. H. y Frolich, W. (Eds). (1993). Dietary fibre intakes in Europe. Commission of the European Communities, Luxembourg.
- 17 Edwards, C.A. (1993). Interactions between nutrition and the intestinal microflora. *Proc. Nutr. Soc.* 52: 375-382.

- 18 Englyst, H. N. & Cummings, J. H. (1988). Improved method for the measurement of dietary fibre as non-starch polysaccharide in plant foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71, 808-814.
- 19 Englyst, H.N. & Hudson, G.J. (1987). Improved method for measurement of dietary fiber as non-starch polysaccharides. A comparison with gas-liquid chromatography. *Food Chemistry*, 24, 63-76.
- 20 Flamm G., Glinsmann W., Kritchevsky, D., Prosky, L., y Roberfroid, M. (2001). Inulin and Oligofructose as Dietary Fiber: A Review of the Evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 41 (5), 353-362.
- 21 Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G., y Ritieni, A. (1999). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *J. Agric. Food Chem.* Vol 47, 3: 1935-1940.
- 22 Frei, B, ed. (1994). *Natural antioxidants in human health and disease.* Academic Press, San Diego.
- 23 Gibson, G.R. & Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiots: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125: 1401-1412.
- 24 González San José, M. L., Muñoz Rodríguez P., Valls Bellés, V. (2001). Actividad Antioxidante de la cerveza: estudios in vitro e in vivo. *Centro de información Cerveza y Salud*, nº8.
- 25 Goñi, M. Gudiel-Urbano, L. Bravo, F. Saura-Calixto (2001). Dietary modulation of bacterial fermentative capacity by edible seaweeds in rats. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 2663-2668.
- 26 Goñi, I & Martín-Carrón, N. (2001). Fermentación colónica de fibra dietética y almidón resistente. En: *Fibra dietética en iberoamérica: Tecnología y salud.* F. M. Lajolo, F. Saura-Calixto, E. Wittig de Penna, E. Wenzel de Menezes (eds) Editorial Livraria Varela Sao Paulo, 311-338.
- 27 Goñi, I. (2001). Ingesta de fibra dietética y almidón resistente en España. En: *Fibra dietética en iberoamérica: Tecnología y salud.* F. M. Lajolo, F. Saura-Calixto, E. Wittig de Penna, E. Wenzel de Menezes (eds) Editorial Livraria Varela Sao Paulo, 445-452.
- 28 Gromes, R., Zeuch, M. & Piendl, A. (1997). Further studies on dietary fibre in beer. *Brauwelt*, 137: 3, 90-93.
- 29 Guldborg, M. (2001). Beer and health, an overview. *Brygmesteren*, 57, 5: 9-10.
- 30 Gudiel-Urbano, M. & Goñi, I. (2002). Effect of edible seaweeds (*Undaria pinnatifida* and *Porphyra tenera*) on the metabolic activities of intestinal microflora in rats. *Nutr Res.*, 22: 323-331.
- 31 Guillon, F., Barry, J-L. & Thibault, J-F. (1992). Effects of autoclaving sugar-beet fibre on its physico-chemical properties and its in vitro degradation by human faecal bacteria. *J. Sci. Food Agric.* 60: 69-79.
- 32 Guillon, F., Renard, C.M.G.C., Hospers, J., Thibault, J-F. & Barry, J-L. (1995). Characterisation of residual fibres from fermentation of pea and apple fibres by human faecal bacteria. *J. Sci. Food Agric.* 68: 521-529.
- 33 Heller, S.N., Hackler, L.R., Rivers, J.M., Van Soest, P.J., Roe, J.A., Lewis, B.A. & Robertson, J. (1980). Dietary fiber: the effects of particle size of wheat bran on colonic function in young adult men. *Am. J. Clin. Nutr.* 33: 1734-1744.

- 34 Illman, R.J., Topping, D.L., Dowling, K., Trimble, R.P., Russell, G.R. & Storer, G.B. (1991). Effects of solvent extraction on the hypocholesterolaemic action of oat bran in the rat. *Br. J. Nutr.* 65: 435-443.
- 35 Jee-Yup Han (2000). Structural characteristics of arabinoxylan in barley, malt, and beer. *Food Chemistry*, 70, 131-138.
- 36 Jiménez-Escrig, A.; Rincón, M; Pulido, R. y Saura-Calixto, F. (2001). Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *J. Agric. Food Chem.* 49, 5489-5493.
- 37 Kritchevsky, D. y Bondfield, C. (Eds.). (1995). *Dietary fiber in health and disease*. Eagan Press, Minnesota.
- 38 Lajolo, F.M.; Saura-Calixto, F.; de Penna, E. W. y de Menezes, E. W. (2001) Fibra dietética en Iberoamérica: Tecnología y salud. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos. *Livraria Varela*, São Paulo.
- 39 Larrauri, J. A., Goñi, I., Martín-Carrón, N., Rúperez, P. y Saura-Calixto, F. (1996a). Measurement of Health-Promoting properties in fruit dietary fibres: antioxidant capacity, fermentability and glucose retardation index. *J. Sci. Food Agric.* 71, 515-519.
- 40 Larrauri, J. A., Rúperez, P. and Saura Calixto, F. (1997b). Pineapple shell as a source of dietary fiber with associated polyphenols. *J.Agric. Food Chem.*, 45, 4028-4031.
- 41 Larrauri, J. A., Rúperez, P. and Saura-Calixto, F. (1997a). Mango peels fibres with antioxidant activity. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 205, 39-42.
- 42 Larrauri, J. A., Rúperez, P., Borroto, B. and Saura-Calixto, F. (1996b). Mango peels as a new tropical fiber: Preparation and characterization. *Lebensm. Wiss. Technol.* 29, 729-733.
- 43 Lermusieau, G., Liegeois, C. y Collin, S. (2001) Reducing power of hop cultivars and beer ageing. *Food Chemistry*; 72 (4) 413-418, 22 ref.
- 44 Lutz, T. & Scharrer, E. (1991). The colonic flora, fermentation, and large bowel digestive function. En: *The large intestine: Physiology, pathophysiology and disease*. Phillips, S.F., Pemberton, J.H. & Shorter, R.G. (Eds). Mayo Foundation, Raven Press, Nueva York, pp. 51-92.
- 45 Maciorowski, K.G., Turner, N.D., Lupton, J.R., Chapkin, R.S., Shermer, C.L., Ha, S.D. & Ricke, S.C. (1997). Diet and carcinogen alter the fecal microbial populations of rats. *J. Nutr.* 127: 449-457.
- 46 Mañas, E. and Saura Calixto (1995) F. Dietary fibre analysis: Methodological error sources. *Eur. J. Clin. Nutr.* 49 , S158-S162.
- 47 Martín-Carrón, N.; Goñi, I.; Larrauri, J.A.; García-Alonso, A. y Saura-Calixto, F. (1999). Reduction in serum total and LDL cholesterol concentrations by a dietary fiber and polyphenol-rich grape product in hypercholesterolemic rats. *Nut. Res.* 19, 1371-1381.
- 48 McIntyre, A., Gibson, P.R. & Young, G.P. (1993). Butyrate production from dietary fiber and protection against large bowel cancer in a rat model. *Gut.* 34: 386-391.

- 49 McMurrough, I., Madigan, D., Kelly, R. y O'Rourke, T. (1999) Haze Formation Shelf-Life Prediction for Lager Beer. *Food Technology*; 53, nº 1.
- 50 Montreau, F. R. (1972). *Conn. Vigne Vin.*, 6, 397.
- 51 Mortensen, P.B. & Nordgaard-Andersen, I. (1993). The dependence of the in vitro fermentation of dietary fibre to short-chain fatty acids on the contents of soluble non-starch polysaccharides. *Scand. J. Gastroenterol.* 28: 418-422.
- 52 Nychas, G. (1995). Natural antimicrobials from plants. En: *New methods of food preservation*. Gould, G. y Blackie (Eds.) Academic and Professional, London.
- 53 Olesen, M. & Gudmand-Hoyer, E. (1997). Maldigestion and colonic fermentation of wheat bread in humans and the influence of dietary fat. *Am. J. Clin. Nutr.* 66: 62-66.
- 54 Packer, L.; Hiramatsu, M. y Yoshikawa, T. (Eds.). (1999). *Antioxidant food supplements in human health*. Academic Press, London.
- 55 Papas A.M. (Ed.). (1999). *Antioxidant status, diet, nutrition and health*. CRC Press, Washinton D.C.
- 56 Parret, A.M. & Edwards, C.A. (1997). In vitro fermentation of carbohydrate by breast fed and formula fed infants. *Arch. Dis. Child.* 76: 249-253.
- 57 Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T.F., Devries, J.W. y Furda, I. (1992). Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: Collaboratory study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 75, 360-367.
- 58 Pulido, R., Bravo, L. y Saura-Calixto, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified Ferric Reducing/Antioxidant Power assay. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 3396-3402.
- 59 Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A, Pannala, A., Yang, M. Y Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 1999, 26, 1231-1237.
- 60 Saura-Calixto F. (1998). Antioxidant dietary fibre product: A new concept and a potential food ingredient. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4303-4306.
- 61 Saura-Calixto, F., García-Alonso, A., Goñi, I. y Bravo, L. (2000). In vitro determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3342-47.
- 62 Saura-Calixto F. (2000). "Phenolic compounds in dietary fibers: Implication in nutrition". In XXth International Conference on Polyphenols" Groupe Polyphenols and The Phytochemical Society of Europe. Freising-Weithenstephan, Germany.
- 63 Sendra, J.M. & Carbonell, J.V. (1998). Evaluación de las propiedades nutritivas funcionales y sanitarias de la cerveza, en comparación con otras bebidas. Centro de información Cerveza y Salud. Madrid.
- 64 Siebert, K. J. (1999) Protein-Polyphenol Haze in Beverages. *Food Technology*. 53, nº 1.
- 65 Richardson, A., Delbridge, A.T., Brown, N.J., Rumsey, R.D.E. & Read, N.M. (1991). Short-chain fatty acids in the terminal ileum accelerate stomach to caecum transit time in the rat. *Gut.* 32: 266-269.



- 66 Rombeau, J.L., Kripke, S.A. & Settle, R.G. (1990). Short-chain fatty acids: production, absorption, metabolism, and intestinal effects. En: *Dietary fiber: Basic and clinical aspects*. Vahouny, G.B. & Kritchevsky, D. (Eds). Plenum Press, Nueva York. pp. 317-339.
- 67 Salminen, S. Bouley, C., Boutron-Ruault, M-C., Cummings, JH., Franck, A., Gibson, GR., Isolauri, E., Moreau, M-C, Roberfroid, M. & Rowland, I. (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function, *Br. J. Nutr.* 80, 147S-171S.
- 68 Scheppach, W., Bartram, P., Richter, A., Richter, F., Dusel, G., Liepold, H., Hofstetter, G., Ruthlein, J. & Kasper, H. (1992). Effect of short chain fatty acids on the human colonic mucosa in vitro. *J. Parenteral Enteral Nutr.* 16: 43-48.
- 69 Schwarz, P. B. & Jee-Yup Han (1995). Arabinoxylan content of commercial beers. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 53, 157-159.
- 70 Shrikhande, A. J. (2000) Wine by-products with health benefits. *Food Research International*. 33, 469-474.
- 71 Szylit, O. & Andrieux, C. (1993). Physiological and pathophysiological effects of carbohydrate fermentation. *World Rev. Nutr. Diet.* 74: 88-122.
- 72 Teissedre, P.-L., Landraut, N. (2000) Wine phenolics: contribution to dietary intake and bioavailability. *Food Research International*. 33, 461-467.
- 73 Thalacker, R. (2001). Beer from the viewpoint of the food chemist. *Brauwelt*, 141, 14: 502-504.
- 74 Titgemeyer, E.C., Bourquin, L.D., Fahey, G.C. & Garleb, K.A. (1991). fermentability of various fiber sources by human fecal bacteria in vitro. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 1418-1424.
- 75 Topping, D.L., Illman, R.J., Clarke, J.M., Trimble, R.P., Kackson, K.A. & Marsono, Y. (1993). Dietary fat and fiber alter large bowel and portal venous volatile fatty acids and plasma cholesterol but not biliary steroids in pigs. *J. Nutr.* 123: 133-143.
- 76 Van Munster, I.P. & Nagengast, F.M. (1993). The role of carbohydrate fermentation in colon cancer prevention. *Scand. J. Gastroenterol.* 28: 80-86.
- 77 Vis, RE.B. & Lorenz, K. (1998). Malting and brewing with a high beta-glucan barley. *Lebensm. Wiss. Und Technol.* 31, 1: 20-26.
- 78 Wang, X & Gibson, G.R. (1993). Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 373-380.
- 79 Yoshiota, M., Fujita, K., Sakata, H., Murono, K. & Iseki, K. (1991). Development of the normal intestinal flora and its clinical significance in infants and children. *Bifidobacteria Microflora*. 10: 11-17.