

	<p>Instituto de Fermentaciones Industriales</p> <p>c/Juan de la Cierva, 3 Madrid-28006 (España) Teléfono: +34-915622900 Fax: +34-915644853</p>	
---	---	---

**MEMORIA DE LA LABOR REALIZADA
DURANTE EL AÑO 2004**

ÍNDICE	Pág. 2
I.- INTRODUCCIÓN	4
II.- ESTRUCTURA Y PERSONAL	
Presentación	6
Organigrama	7
Personal	8
Líneas de Investigación	10
Técnicas instrumentales de investigación	11
Departamentos y unidades de apoyo:	
Departamento de Caracterización de Alimentos	12
Departamento de Microbiología	18
Departamento de Tecnologías Sectoriales	22
Gerencia y Unidad Asociada	27
III.- ACTIVIDAD INVESTIGADORA	
Proyectos financiados por la Unión Europea	29
Proyectos financiados por Programas Nacionales	30
Proyectos financiados por la Comunidad de Madrid	43
Proyectos financiados por el CSIC	45
Proyectos financiados por el Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA)	46
Acciones concertadas	48
Acciones integradas	49
Cooperación con Iberoamérica	49
Colaboración en otros Proyectos de otros Centros	49
Investigación contratada	51
Informes técnicos	52
Publicaciones	53
IV.- FORMACIÓN ACADÉMICA	
Tesis Doctorales	96
Diplomas de Estudios Avanzados	97
Cursos impartidos	99
Seminarios del Instituto	102
V.- OTRAS ACTIVIDADES	
Conferencias invitadas	105
Participación en Congresos Internacionales	108
Participación en Congresos Nacionales	115
Patentes	119
Premios	121
Estancias de personas de otros Centros	122
Participación en Comités Científicos	125

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

Esta Memoria recoge la actividad científica realizada en el Instituto de Fermentaciones Industriales (IFI) en el año 2004 en sus principales facetas de investigación, formación, divulgación y asistencia científica y técnica a empresas del sector de la alimentación.

La actividad investigadora se refleja en los más de cuarenta Proyectos y Contratos de investigación, activos durante este ejercicio, con organismos públicos y privados y la publicación de más de un centenar de artículos científicos, la inmensa mayoría, en revistas de alto índice de impacto. Estos datos consolidan la tendencia de los últimos años de un elevado incremento en la actividad científica.

No podemos olvidar la labor docente que se realiza en el IFI, la cual queda reflejada no sólo en las diversas Tesis Doctorales realizadas, los trabajos de investigación para la obtención del Diploma de Estudios Avanzados que dirigen sus Investigadores sino en la impartición de numerosos Cursos de Doctorado, Especialización para postgraduados y de personal técnico. Este año cabe destacar la colaboración en la organización del Curso Análisis Sensorial de Alimentos del Plan de Formación del CSIC.

Durante el año 2004 se ha producido la jubilación de M^a Africa Fernández González, el traslado en Comisión de Servicio de M^a Luisa Mulas Bóveda al Instituto de Química Médica y la incorporación de Antonio Chueca Edo. Felicitar a Dolores del Castillo Bilbao, la nueva Científica Titular que se incorporó al IFI en el año 2004, así como a Antonia Montilla Corredera, que superó la oposición de Titulado Superior. Asimismo, se concedieron varios premios a Investigadores de nuestro Instituto.

Por último, señalar que la realización de las actividades descritas en esta memoria han sido posibles gracias al esfuerzo y dedicación de todo el personal que forma parte del Instituto.

Lourdes Amigo Garrido
Directora

II.- ESTRUCTURA Y PERSONAL

PRESENTACIÓN

El Instituto de Fermentaciones Industriales (IFI) es un Centro de Investigación que pertenece al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Organismo público de investigación adscrito al Ministerio de Educación y Ciencia.

Sus orígenes se remontan al año 1939 como Sección de Fermentaciones Industriales del Instituto Santiago Ramón y Cajal de Investigaciones Biológicas del CSIC y en 1967 alcanzó la categoría de Instituto. Se ubica en el Centro de Química Orgánica "Manuel Lora Tamayo", C/ Juan de la Cierva, 3, 28006 Madrid.

El Instituto de Fermentaciones Industriales pertenece al Área de Ciencia y Tecnología de Alimentos del CSIC, y se estructura en tres Departamentos de Investigación:

Departamento de Caracterización de Alimentos
Departamento de Microbiología
Departamento de Tecnologías Sectoriales

y una Unidad Administrativa, la Gerencia

Órganos de Gobierno:

Unipersonales:

<u>Director:</u>	Dra. Lourdes Amigo Garrido
<u>Vicedirector:</u>	Dra. Juana Frías Arevalillo
<u>Gerente:</u>	D. José Luis Andreu Martín

Colegiados:

Junta de Instituto, formada por Director, Vicedirector, Gerente, Jefes de Departamento y 3 representantes del Personal.

Claustro, formado por todo el personal investigador en plantilla. Lo preside el Director y es Secretario uno de sus miembros, la Dra. Gracia P. Blanch Manzano.

ORGANIGRAMA



PERSONAL

Personal Científico. Funcionarios:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>	<u>Departamento</u>
Amigo Garrido, Lourdes	IC	Caracterización de Alimentos
Bartolomé Sualdea, Begoña	CT	Tecnologías Sectoriales
Belloque Muñoz, Josefina	CT	Caracterización de Alimentos
Blanch Manzano, Gracia P.	CT	Tecnologías Sectoriales
Calvo Rodríguez, Marta M.	CT	Tecnologías Sectoriales
Carrascosa Santiago, Alfonso V.	CT	Microbiología
Cifuentes Gallego, Alejandro	IC	Caracterización de Alimentos
Corzo Sánchez, M. Nieves	IC	Caracterización de Alimentos
Del Castillo Bilbao, Dolores	CT	Caracterización de Alimentos (ingreso 26/05/2004)
Estrella Pedrola, M. Isabel	IC	Tecnologías Sectoriales
Frías Arevalillo, Juana	CT	Tecnologías Sectoriales
Gómez-Cordovés, M. Carmen	IC	Tecnologías Sectoriales
González García, Ramón	CT	Microbiología
Hernández García, M. Teresa	CT	Tecnologías Sectoriales
Herraiz Carasa, Marta	PI	Tecnologías Sectoriales
Herraiz Tomico, Tomás	CT	Caracterización de Alimentos
Ibáñez Ezequiel, Elena	CT	Caracterización de Alimentos
López-Alonso Fandiño, Rosina	IC	Caracterización de Alimentos
Martín Álvarez, Pedro J.	IC	Caracterización de Alimentos
Molina Hernández, Elena	CT	Caracterización de Alimentos
Moreno Arribas, M. Victoria	CT	Caracterización de Alimentos
Muñoz Moreno, Rosario	CT	Microbiología
Nieto Rodríguez-Brochero, F. Javier	CT	Caracterización de Alimentos
Olano Villén, Agustín	PI	Caracterización de Alimentos
Polo Sánchez, M. Carmen	PI	Caracterización de Alimentos
Recio Sánchez, M. Isidra	CT	Caracterización de Alimentos
Ramos González, Mercedes	PI	Caracterización de Alimentos
Santa-María Blanco, J. Guillermo	IC	Tecnologías Sectoriales
Vidal Casero, Concepción	PI	Tecnologías Sectoriales
Villamiel Guerra, M. del Mar	CT	Caracterización de Alimentos

PI=Profesor de Investigación, IC=Investigador Científico, CT=Científico Titular

Personal Científico. Contratados:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>	<u>Departamento</u>
Del Castillo Bilbao, M ^a Dolores	DC	Caracterización de Alimentos (hasta 25/05/2004)
Gómez Ruiz, José Angel	DC	Caracterización de Alimentos (hasta 31/03/2004)
Martínez Rodríguez, Adolfo J.	DC	Caracterización de Alimentos
Ruiz del Castillo, M ^a Luisa	DC	Tecnologías Sectoriales

Vian Herrero, Alejandro DC Microbiología (hasta 21/06/2004)

DC=Doctor Contratado

Personal de Apoyo a la Investigación. Funcionarios:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>	<u>Departamento-Unidad de Apoyo</u>
Andréu Martín, José L.	Ayl	Gerencia
Barcenilla Moraleda, José M.	TEGM	Microbiología
Chueca Edo. Antonio	Ayl	Gerencia (a partir de 1/08/2004)
Craus Hernández, Joaquín	Ayl	Caracterización de Alimentos
Fernández González, M. África	Ayl	Gerencia (jubilación 15/10/2004)
González Fernández, M. Ángeles	Adm.	Gerencia
Izquierdo Insúa, M. Isabel	TEGM	Tecnologías Sectoriales
Jorganes Urquijo, Felisa A.	TEGM	Caracterización de Alimentos
López Marugán, Antonio	Aux. Adm.	Gerencia
Luque Sánchez, José	Lab	Gerencia
Martín Sánchez, M. Jesús	TEGM	Tecnologías Sectoriales
Medina Martínez, Ricardo	Lab	Tecnologías Sectoriales
Montilla Corredera, Antonia	TSE	Caracterización de Alimentos
Mulas Bóveda, M. Luisa	Aux. Adm.	Gerencia (hasta 31/01/2004)
Pastor Pastor, Julián	Ayl	Caracterización de Alimentos
Piñal Gómez, Luis	Ayl	Tecnologías Sectoriales
Prado Gracia, J. Antonio del	Ayl	Caracterización de Alimentos
Pueyo Pérez, Encarnación	TSE	Caracterización de Alimentos
Rodríguez Castillo, M. José	Ayl	Tecnologías Sectoriales
Santamaría Barceló, M. Victoria	Ayl	Microbiología
Talavera Arboleda, Constanza	Ayl	Caracterización de Alimentos

TSE=Titulado Superior Especializado, TEGM=Técnico Especialista de Grado Medio, Ayl=Ayudante de Investigación, Adm=Administrativo, Aux. Adm=Auxiliar Administrativo, Lab=Laboral

Personal de Apoyo a la Investigación. Contratados:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>	<u>Departamento</u>
Chaparro Ronda, Carolina	TS	Caracterización de Alimentos
Gómez Sanz, Alicia	TT	Microbiología
Fernández Martínez, Dolores	TT	Tecnologías Sectoriales (hasta 15/12/2004)
Larranz Zatarain, Elena	TS	Microbiología (a partir de 16/12/2004)

TS=Titulado Superior, TT=Titulado Técnico

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

- Estudio de las modificaciones e interacciones de los constituyentes de los alimentos durante los procesos tecnológicos
- Caracterización y control de la calidad de alimentos
- Ingredientes y alimentos funcionales
- Biotecnología enzimática y microbiológica de alimentos
- Seguridad alimentaria
- Desarrollo de nuevos procesos y productos

TÉCNICAS INSTRUMENTALES DE INVESTIGACIÓN

Atomización.
Centrifugación.
Concentración a vacío.
Cromatografía de Fluidos Supercríticos (SFC).
Cromatografía de Gases (GC).
Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS).
Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia (HPLC).
Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia-Cromatografía de Gases (HPLC-GC).
Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia-Espectrometría de Masas (HPLC-MS).
Electroforesis automatizada.
Electroforesis Capilar (CE).
Electroforesis Capilar-Espectrometría de Masas (CE-MS).
Electroforesis convencional.
Electroporación.
Espectrofotometría UV-VIS.
Esterilización.
Extracción Acelerada con Disolvente (ASE).
Extracción con Fluidos Supercríticos (SFE).
Hibridación de ácidos nucleicos.
Liofilización.
Microscopía óptica.
Pasterización.
Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR.
Sonicación.
Ultracentrifugación.
Ultrafiltración.
Cromatografía Rápida de Proteínas (FPLC)

Espectrometría de Masas, Microanálisis y Resonancia Magnética Nuclear (RMN) a través de la Infraestructura General del Centro de Química Orgánica "Manuel Lora Tamayo"

DEPARTAMENTO DE CARACTERIZACIÓN DE ALIMENTOS

Jefe del Departamento: Mercedes Ramos González (PI)

Personal Científico. Funcionarios:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Amigo Garrido, Lourdes	IC
Belloque Muñoz, Josefina	CT
Cifuentes Gallego, Alejandro	IC
Corzo Sánchez, M. Nieves	IC
Del Castillo Bilbao, Dolores (alta 26/5/2004)	CT
Herraiz Tomico, Tomás	CT
Ibáñez Ezequiel, Elena	CT
López-Alonso Fandiño, Rosina	IC
Martín Álvarez, Pedro J.	IC
Molina Hernández, Elena	CT
Moreno Arribas, M. Victoria	CT
Nieto Rodríguez-Brochero, F. Javier	CT
Olano Villén, Agustín	PI
Polo Sánchez, M. Carmen	PI
Recio Sánchez, M. Isidra	CT
Ramos González, Mercedes	PI
Villamiel Guerra, M. del Mar	CT

Personal Científico. Contratados:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Gómez Ruiz, José Angel (hasta 31/3/2004)	DC
Martínez Rodríguez, Adolfo J.	DC

Personal de Apoyo a la Investigación. Contratados:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Chaparro Ronda, Carolina	TS

Personal de Apoyo a la Investigación. Funcionarios:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Craus Hernández, Joaquín	Ayl
Jorganes Urquijo, Felisa A.	TEGM
Montilla Corredera, Antonia	TSE
Pastor Pastor, Julián	Ayl
Prado Gracia, J. Antonio del	Ayl
Pueyo Pérez, Encarnación	TSE
Talavera Arboleda, Constanza	Ayl

Personal Becario. Postdoctoral:

Apellidos y Nombre

Hernández Ledesma, Blanca
Van de Lagemaat, Jurgan

Personal Becario. Predoctoral:

Apellidos y Nombre

Alcaide Hidalgo, Juan María
Cardelle Cobas, Alejandra
Carlavilla Martínez, Davinia
Casal Banciella, Enriqueta
Chicón Arias, Rosa María
Fernández Lázaro, Diego
Galisteo Ochaita, Juan
García Cañas, Virginia
Herrero Calleja, Miguel
Iglesias Cristóbal, Teresa
Jiménez Castaño, Laura M.
López Expósito, Iván
Mendiola León, José Antonio
Miguel Castro, Marta
Morales Ruiz, M. del Valle
Quirós del Bosque, Ana
Rada Mendoza, Maite Pilar
Ramírez Calvo, Pilar
Rodríguez Plaza, Pablo
Sánchez Luna, Violeta
Simó Ruiz, Carolina

Personal Becario. Técnicos (FINNOVA):

Apellidos y Nombre

Rozados Alonso, Amaia

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Selección de indicadores químicos para el control de procesos.

Investigadores Responsables: A. Olano, N. Corzo, M.Villamiel, D. del Castillo.

En esta línea de investigación se estudian las transformaciones que tienen lugar durante los procesos de elaboración y conservación de alimentos con el objeto de identificar aquellos compuestos más adecuados para el control del proceso. En base al conocimiento adquirido en las modificaciones de los constituyentes durante el tratamiento de la leche líquida, actualmente se está abordando el estudio de caracterización de mieles y el control de pardeamiento no enzimático en alimentos de origen vegetal (derivados de cereales, frutas y hortalizas).

Caracterización varietal de mostos y vinos.

Investigadores responsables: M.C. Polo, M.V. Moreno-Arribas, A. Cifuentes, R. González (Departamento de Microbiología).

Existe una tendencia en la actualidad a poner en las etiquetas de los vinos la variedad de uva con la que se han elaborado. Por otra parte diferentes Organismos de la Administración legislan sobre cuales son las variedades de uva con las que se pueden elaborar determinados vinos. Por ello es necesario disponer de métodos de análisis que permitan conocer con que variedad de uva con la que se ha elaborado un vino. Con este objetivo se están realizando investigaciones en el IFI desde hace varios años pero en la que es necesario continuar porque no está totalmente resuelto. Entre los métodos que estamos desarrollando se encuentra el de utilizar marcadores moleculares basados en el ADN.

Péptidos del vino con actividad biológica.

Investigadores responsables: M.C. Polo, E. Pueyo

Esta línea está muy poco explorada ya que apenas existen datos en bibliografía sobre los péptidos de vino en general y especialmente sobre sus propiedades biológicas. Entre las potenciales actividades biológicas de los péptidos se está estudiando la actividad antihipertensiva y se va a iniciar próximamente el estudio de las actividades antioxidantes y antimicrobianas. Si se obtienen los resultados esperados se podrían proponer estrategias para favorecer la formación de este tipo de compuestos en el vino. Esto redundaría en la mayor apreciación de este alimento por los consumidores y el incremento de las ventas.

Biología de bacterias lácticas de interés enológico.

Investigadores responsables: M.V. Moreno-Arribas, M.C. Polo.

En esta tema se está trabajando en la actualidad en colaboración con distintas Empresas del sector. Por un lado, se está estudiando la formación de aminas biógenas por bacterias lácticas, abordando aspectos fisiológicos, bioquímicos y moleculares. Por otro, se está evaluando el efecto de las bacterias lácticas en las características sensoriales (positivas o negativas) del vino. En los próximos años, se pretende continuar esta línea con un enfoque similar aunque es previsible que se amplíe el estudio a otras rutas metabólicas de interés tecnológico, como son las implicadas en el catabolismo de compuestos nitrogenados, aminoácidos, péptidos y proteínas. Se prestará especial énfasis en la elucidación de las funciones de las enzimas bacterianas implicadas y de su expresión en condiciones enológicas. Para ello, se explorarán nuevas estrategias como es la aplicación de técnicas de proteómica.

Manoproteínas de levaduras y sus propiedades tecnológicas y biológicas.

Investigadores responsables: M.C. Polo, A. Martínez-Rodríguez (Investigador contratado)

Esta línea que se lleva a cabo en estrecha colaboración con los investigadores del Departamento de Microbiología, tiene dos objetivos principales: la obtención de manoproteínas con utilidad en seguridad alimentaria y como aditivo en la industria enológica. Estas manoproteínas pueden eliminar patógenos presentes en la cadena alimentaria sirviendo de alternativa al empleo de antibióticos en el ganado y contribuyendo por tanto a la obtención de alimentos más saludables. En cuanto a su aplicación como aditivo o coadyuvante enológico se está estudiando su capacidad de retener compuestos del aroma, de inhibir la precipitación del bitartrato potásico y de inhibir la precipitación de las proteínas del vino.

Extracción y fraccionamiento de compuestos de alto valor añadido y potencialmente bioactivos mediante el empleo de tecnologías de fluidos sub- y supercríticos. Investigadores Responsables: A. Cifuentes, E. Ibáñez.

El objetivo de esta línea de investigación es contribuir al desarrollo de tecnologías limpias para la producción de nuevos ingredientes alimentarios funcionales a partir de fuentes naturales. Para ello se emplean diferentes procesos basados en la tecnología de fluidos sub- y supercríticos (SFE, SFC, ASE) para el aislamiento de compuestos fitoquímicos de interés alimentario a partir de microalgas, plantas, etc. La caracterización química de los productos con interés funcional (antioxidantes, antimicrobianos, antivirales) se realiza mediante el empleo de técnicas instrumentales avanzadas (p.ej. cromatografía de líquidos de alta eficacia-espectrometría de masas (LC-MS), electroforesis capilar-espectrometría de masas (CE-MS), etc.).

Obtención de proteínas glicosiladas. Investigadores Responsables: A. Olano, N. Corzo, R. López-Fandiño, M. Villamiel, D. del Castillo.

El presente estudio tiene como objeto explorar las posibilidades que tiene la aplicación de las altas presiones, los fluidos supercríticos y condiciones de baja actividad de agua en la obtención de proteínas glicosiladas a partir de diferentes substratos tales como concentrados de proteína de suero, proteínas de huevo y beta-lactoglobulina. Se pretende caracterizar los productos obtenidos en los diferentes procesos ensayados así como determinar las modificaciones en las propiedades funcionales debidas a la glicosilación.

Tratamiento de productos lácteos con altas presiones hidrostáticas para la prolongación de su vida útil y mejora de las propiedades funcionales. Investigadores Responsables: R. López-Fandiño, A. Olano, M. Villamiel, E. Molina.

Se estudian las modificaciones inducidas por la aplicación de altas presiones hidrostáticas en las proteínas lácteas (actividad de enzimas nativas, distribución de proteínas, balance mineral, tamaño micelar y desnaturalización proteica), así como las condiciones de procesado que permiten aumentar el periodo de conservación de la leche y mejorar su aptitud tecnológica para quesería.

Alimentos funcionales: Caracterización y propiedades de interés tecnológico y biológico de compuestos procedentes de hidrólisis enzimática y/o procesos fermentativos de proteínas alimentarias. Investigadores Responsables: I. Recio, L. Amigo, R. López-Fandiño, M. Ramos.

En esta línea de investigación se pretende aislar y caracterizar pépticos derivados de proteínas alimentarias lácteas y de huevo o productos fermentados, como leche, queso y vino, con actividad antihipertensiva, antioxidante y antimicrobiana. También se intentan obtener nuevas secuencias activas a partir de proteínas presentes en subproductos de la industria alimentaria mediante el empleo de procesos fermentativos y de hidrólisis. Se hace hincapié en el desarrollo de nuevos métodos de producción de péptidos bioactivos para su uso como ingredientes funcionales, así como en la investigación de relaciones estructura-actividad.

Desarrollo de técnicas analíticas de vanguardia para la caracterización y control de calidad de alimentos e ingredientes alimentarios. Investigadores Responsables: M. Ramos, I. Recio, L. Amigo, R. López-Fandiño, A. Cifuentes, N. Corzo, M. Villamiel, E. Ibáñez, E. Molina, D. del Castillo.

Detección de adulteraciones en leche y productos lácteos con leche en polvo de diferentes especies, proteínas vegetales, suero de quesería, caseinatos, etc.

Estudio de la composición enantiomérica de marcadores quirales mediante técnicas electroforéticas capilares.

Desarrollo de técnicas moleculares y electroforéticas capilares para la cuantificación de organismos modificados genéticamente (OGM) en alimentos (detección de alimentos transgénicos).

Desarrollo de métodos basados en LC-MS y CE-MS para la caracterización y control de la calidad de alimentos e ingredientes alimentarios.

Estudio de alcaloides bioactivos, tetrahidro- β -carbolinas y β -carbolinas en alimentos. Investigador Responsable: T. Herraiz.

Investigación química y bioquímica que aborda la identificación, cuantificación y estudio de los mecanismos de formación y modificación estructural de estos heterociclos en alimentos. Asimismo se estudian sus actividades químico-biológicas potenciales como secuestradores/generadores de radicales y/o de posibles sustancias tóxicas.

Estudio de la alergenicidad de hidrolizados de proteínas. Investigadores Responsables: R. López-Fandiño, J. Belloque, E. Molina.

El objetivo consiste en desarrollar nuevos procesos de hidrólisis enzimática para reducir la alergenicidad de proteínas alimentarias, tales como seroproteínas lácteas o proteínas de huevo, prestando especial atención a las propiedades funcionales de los hidrolizados obtenidos.

Aplicación de las técnicas estadísticas multivariantes para comprobar la autenticidad de los alimentos. Investigador Responsable: P.J. Martín-Álvarez.

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

Jefe del Departamento: Dra. Rosario Muñoz Moreno (CT)

Personal Científico. Funcionarios:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Carrascosa Santiago, Alfonso V.	CT
González García, Ramón	CT
Muñoz Moreno, Rosario	CT

Personal Científico. Contratado:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Vian Herrero, Alejandro (hasta 21/6/2004)	DC

Personal de Apoyo a la Investigación. Funcionarios:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Barcenilla Moraleda, José M.	TEGM
Santamaría Barceló, M. Victoria	Ayl

Personal de Apoyo a la Investigación. Contratados:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Gómez Sanz, Alicia	TT
Larranz Zatarain, Elena	TS

Personal Becario. Postdoctoral:

Apellidos y Nombre

Rivas González del Rey, Blanca de las

Personal Becario. Predoctoral:

Apellidos y Nombre

Almeida Joao, Francisca Branca
Cebollero Presmanes, Eduardo
Filho, Miguel Joao Manuel
Gonzalez Ramos, Daniel
Grazú Bonavia, Maria Valeria
Marcobal Barranco, Angela
Muñoz Rodríguez, Alberto
Nuñez Gutiérrez, Yolanda
Tabera Moreno, Laura

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Desarrollo de fermentos autóctonos para la Industria Alimentaria.

Investigador Responsable: A.V. Carrascosa.

Se cuenta con una colección de 600 cepas de microorganismos aisladas de diversos sustratos alimentarios, parte de las cuales reúnen las características necesarias para ser utilizadas como fermentos autóctonos para la elaboración de vino, jamón curado y embutidos. Así mismo se están desarrollando en la actualidad estudios de selección de cepas de levadura para la elaboración del cava, y la puesta a punto de técnicas de microbiología molecular para la caracterización de las cepas de levaduras enológicas.

Desarrollo de sistemas de Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos para la Industria Alimentaria.

Investigador responsable: A.V. Carrascosa.

Se definen grupos de riesgo microbiológico (higiénico sanitario y alterante), se estudia su evolución y los parámetros de control de crecimiento, y se plantean los puntos críticos del proceso de elaboración en productos cárnicos y vino. Además se está realizando el estudio de optimización de la elaboración natural de jamón ibérico de Guijuelo en base a este tipo de sistemas de calidad microbiológica.

Producción biotecnológica de enzimas termorresistentes de interés agroalimentario.

Investigador responsable: A.V. Carrascosa.

Mediante técnicas de ingeniería genética se ha clonado un posible operón de azúcares de la especie termófila *Thermus sp.* (Cepa T2). Se ha clonado y secuenciado la beta-galactosidasa, que ya se produce activa a homogeneidad electroforética mediante una purificación en un sólo paso cromatográfico (Patente de Invención nº 9701759). Se pretende hacer lo mismo con la alfa-galactosidasa.

Producción biotecnológica de aditivos y enzimas de interés alimentario.

Investigadores responsables: R. González, R. Muñoz, A.V. Carrascosa.

Se pretende clonar genes de la ruta de síntesis de aditivos o enzimas de interés alimentario y producirlos en bacterias, levaduras y hongos filamentosos mediante sistemas GRAS. Esto incluye la producción de proteasas para la industria láctea y la ingeniería metabólica de microorganismos para la producción de aromas y otros aditivos.

Mejora genética de levaduras para acelerar el proceso de autólisis en la elaboración de vinos espumosos.

Investigadores responsables: R. González, A.V. Carrascosa, R. Muñoz.

Se trata de obtener cultivos iniciadores que permitan la elaboración de vinos espumosos de calidad utilizando tiempos de envejecimiento menores que los empleados actualmente, tanto en la elaboración tradicional como en grandes envases. Para ello se estudiará cómo obtener cepas de *Saccharomyces cerevisiae* capaces de experimentar el proceso de autólisis de una manera acelerada, ya que los compuestos producidos durante la autólisis de levadura constituyen un factor determinante en la calidad de este tipo de vinos. Las cepas de partida serán previamente seleccionadas en el departamento para la elaboración de vinos espumosos. La mejora se aborda tanto mediante mutagénesis al azar como mediante Ingeniería Genética, evaluando previamente, en cepas no industriales la utilidad de las modificaciones. También forma parte de esta línea el desarrollo de métodos de transformación de grado alimentario de las cepas industriales receptoras. Finalmente, se aborda el desarrollo a escala de laboratorio de métodos de vinificación para la utilización posterior de las cepas obtenidas. Se estudia además las interacciones entre los genes de resistencia a estrés y la autólisis.

Soluciones alternativas al problema de la quiebra proteica en vinos blancos.

Investigadores responsables: R. González, A.V. Carrascosa.

Se trata de identificar nuevos aditivos y métodos de aplicación de los mismos que eviten la precipitación en la botella de proteínas procedentes de la uva, Dado que estas proteínas son especialmente resistentes a la acción de enzimas proteolíticas una parte del trabajo se centra en la identificación de nuevas proteasas, principalmente de origen microbiano, que sean activas frente a este sustrato. Otra parte del trabajo consiste en la identificación de manoproteínas capaces de estabilizar el vino, sin necesidad de eliminar las proteínas responsables de la quiebra proteica, y en la obtención mediante métodos genéticos de cepas de levadura capaces de superproducir dichas manoproteínas durante la fermentación.

Caracterización molecular de bacterias lácticas implicadas en el proceso de vinificación.

Investigadores responsables: R. Muñoz, A.V. Carrascosa, R. González.

Mediante técnicas de Biología Molecular se pretenden caracterizar las cepas de bacterias lácticas aisladas durante la vinificación. Esta caracterización nos permite hacer seguimientos de la población bacteriana en todo el proceso y estudios sobre la imposición de cepas.

Desarrollo de métodos moleculares para la detección de bacterias lácticas productoras de aminas biógenas.

Investigadores responsables: R. Muñoz, A.V. Carrascosa, R. González.

A partir de bacterias lácticas productoras de aminas biógenas se pretende clonar los genes que codifican las proteínas responsables de la síntesis de histamina, tiramina y putrescina (histidina-, tirosina- y ornitina-descarboxilasas, respectivamente). La identificación de estos genes permitirá el diseño de sondas DNA y de oligonucleótidos utilizables en PCR que puedan ser aplicados fácilmente para la detección de bacterias aminobiogénicas. El desarrollo de estos métodos es especialmente útil para la selección de cultivos iniciadores apropiados en la industria alimentaria.

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍAS SECTORIALES

Jefe del Departamento: Carmen Gómez-Cordovés de la Vega (IC)

Personal Científico. Funcionarios:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Bartolomé Sualdea, Begoña	CT
Blanch Manzano, Gracia P.	CT
Calvo Rodríguez, Marta M.	CT
Estrella Pedrola, M. Isabel	IC
Frías Arevalillo, Juana	CT
Gómez-Cordovés de la Vega, M. Carmen	IC
Hernández García, M. Teresa	CT
Herraíz Carasa, Marta	PI
Santa-María Blanco, J. Guillermo	IC
Vidal Casero, Concepción	PI

Personal Científico. Contratado:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Ruiz del Castillo, M. Luisa	DC

Personal de Apoyo a la Investigación. Funcionarios-Laborales:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Izquierdo Insúa, M. Isabel	TEGM
Martín Sánchez, M. Jesús	TEGM
Medina Martínez, Ricardo	Lab
Piñal Gómez, Luis	Ayl
Rodríguez Castillo, M. José	Ayl

Personal de Apoyo a la Investigación. Contratados:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Fernández Martínez, Dolores	TT

Personal Becario. Predoctoral:

<u>Apellidos y Nombre</u>
Dado Ortiz, Diana
Doblado Ortas, Rosa
Fernández Orozco, Rebeca
Flores Monreal, Gema
Gómez Prieto, M ^a Salud

Martínez Villaluenga, Cristina
Monagas Juan, María J.
Núñez Morales, Verónica
Suárez Colomo, Rafael
Torres de Ramirez, Alexia

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Quiralidad en alimentos y su repercusión en el control de productos y procesos tecnológicos.

Investigadores responsables: M. Herraíz, G.P. Blanch.

Desarrollo de nuevos métodos rápidos y fiables para el análisis de compuestos minoritarios de alimentos utilizando el acoplamiento directo de diversas técnicas extractivas y cromatográficas.

Estudio de procesos y productos mediante la determinación de la composición enantiomérica de marcadores quirales de alimentos, empleando fases estacionarias enantioselectivas y sistemas multidimensionales.

Extracción con Fluidos Supercríticos (SFE) y Cromatografía de Fluidos Supercríticos (SFC).

Investigadores responsables: M. Herraíz, G. Santa-María.

Obtención enantioselectiva de compuestos de alto valor añadido empleando extracción y cromatografía de fluidos supercríticos preparativa. Determinación de la pureza enantiomérica.

Aprovechamiento de subproductos y excedentes agroalimentarios mediante la extracción con fluidos supercríticos de productos de alto valor añadido con propiedades funcionales.

Estabilización de compuestos extraídos con fluidos supercríticos mediante procesos de encapsulamiento.

Estudio de la alergenicidad de hidrolizados de proteínas y de leche de cabra.

Investigador Responsable: M. Calvo.

Estudio de la influencia de distintos agentes gelificantes en las características reológicas del yogur.

Investigador Responsable: M. Calvo.

Desarrollo de nuevos alimentos funcionales.

Investigadores Responsables: C. Vidal, J. Frías.

Las leguminosas son un tipo de alimento de gran interés por su elevado contenido en nutrientes, sin embargo contienen una serie de compuestos de carácter tóxico o antinutricional que obligan a que dichos alimentos sean tratados antes de su consumo. Mediante la aplicación de distintos tipos de procesos se obtiene un nuevo tipo de alimento que se encuentra enriquecido en determinados nutrientes así como en capacidad antioxidante y con un contenido inferior o nulo en factores tóxicos y antinutritivos: Alimento funcional. Mediante los procesos biotecnológicos de fermentación y germinación se están obteniendo derivados de soja, altramuz y garbanzos con elevado contenido en compuestos antioxidantes. También se está llevando a cabo mediante extracción selectiva la obtención de derivados del altramuz con

elevado contenido proteico y sin alfa-galactósidos. Estos compuestos se están utilizando como prebióticos para obtener alimentos probióticos.

Los nuevos alimentos puede utilizarse bien para consumo directo o bien en forma de harinas para su inmediata aplicación en la industria alimentaria, como tal o mezclado con cereales para la fabricación de pastas, pan, bollería, etc. Estos alimentos obtenidos con leguminosas procesadas son de un indudable interés para la población normal, dados los efectos beneficiosos que se atribuyen a sus componentes en relación con la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer, retinopatías, osteoporosis, etc, así como entre las personas que padecen déficits enzimáticos (intolerantes a lactosa, enfermos celíacos, etc) donde el consumo de leguminosas resulta esencial en su dieta.

Composición fenólica de leguminosas. Variación por procesos de fermentación y de adición de enzimas.

Investigadores responsables: M.I. Estrella, M.T. Hernández.

Los objetivos de los trabajos que se llevan a cabo en esta línea de investigación son fundamentalmente dos:

Caracterizar la composición fenólica de distintas legumbres, determinando por una parte la estructura de los constituyentes fenólicos, y por otra, las modificaciones de estos componentes como consecuencia de los procesos de germinación, fermentación y adición de enzimas a que se someten las legumbres.

Determinar la incidencia de los compuestos fenólicos como compuestos bioactivos, en la actividad antioxidante de las legumbres sometidas a procesos, con el fin de utilizarlas como ingredientes de alimentos funcionales.

Vinos tintos. Influencia de factores internos y externos post-elaboración y envejecimiento. Color.

Investigadores responsables: C. Gómez-Cordovés, B. Bartolomé.

A partir de la composición antociánica se estudian factores como: variedad de uva, clones, zona de cultivo, envejecimiento en botella y en roble, tipo y edad del roble para el envejecimiento, y su influencia en las características sensoriales: sabor y color. El objetivo principal consiste en la mejora de ambas características, en especial del color, por reacciones de copigmentación.

Evaluación de propiedades antioxidantes y obtención de ingredientes antioxidantes.

Investigadores responsables: B. Bartolomé, C. Gómez-Cordovés.

Puesta a punto de diversos métodos para la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* de compuestos puros, de fracciones aisladas de alimentos/vegetales, de subproductos de la industria

alimentaria, y de alimentos y bebidas en su conjunto. Se propone la obtención por diversos procedimientos (extracción con diversos solventes de uso alimentario e hidrólisis enzimática) de compuestos de naturaleza fenólica (ácidos hidroxicinámicos, flavonoles, catequinas) a utilizar como antioxidantes naturales o como ingredientes en alimentos funcionales.

Estudio de la bioactividad y biodisponibilidad de los Polifenoles.

Investigadores responsables: C. Gómez-Cordovés, B. Bartolomé.

Se lleva a cabo la puesta a punto de diversos métodos para la evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* de compuestos puros, de fracciones aisladas de alimentos/vegetales, de subproductos de la industria alimentaria, y de alimentos y bebidas en su conjunto. De igual forma, se diseñan ensayos con voluntarios sanos para conocer la biodisponibilidad de constituyentes fenólicos de alimentos de origen vegetal, y se evalúa su presencia en fluidos biológicos.

Estudio del origen de la madera utilizada en el envejecimiento de vinos.

Investigador responsable: M.T. Hernández.

Se estudian las modificaciones que se producen en la composición polifenólica del vino durante su envejecimiento en barricas de roble español fabricadas con distintos grados de tostado. Se persigue la búsqueda de nuevas fuentes de suministro de roble de calidad, como factor económico importante.

Aprovechamiento de subproductos vegetales industriales.

Investigadores responsables: M.T. Hernández, M.I. Estrella.

Purificación y caracterización de compuestos bioactivos a partir de orujos de uva. Se pretende obtener extractos enriquecidos en compuestos fenólicos, mediante el empleo de técnicas de ultrafiltración y nanofiltración, con la finalidad de revalorizar este subproducto de gran excedencia en el sector alimentario.

GERENCIA

Gerente: José L. Andreu Martín

Personal:

<u>Apellidos y Nombre</u>	<u>Categoría</u>
Chueca Edo, Antonio	Ayl (a partir de 1/08/2004)
Fernández González, M. África	Ayl (jubilación 15/10/2004)
González Fernández, M. Ángeles	Adm
López Marugán, Antonio	Aux. Adm.
Luque Sánchez, José	Lab
Mulas Bóbeda, M. Luisa	Aux. Adm. (hasta 31/01/2004)

Ayl=Ayudante de Investigación, Adm=Administrativo, Aux. Adm=Auxiliar Administrativo, Lab=Laboral

UNIDAD ASOCIADA DE I+D AL CSIC

Nombre de la Unidad: Grupo de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Institución: Universidad Autónoma de Madrid.

Institutos: Fermentaciones Industriales y del Frío.

Departamentos: Caracterización de alimentos y Microbiología (IFI) y Fitoquímica y procesado mínimo de alimentos vegetales y Grupo de química y biotecnología de productos lácteos (IF).

Investigador responsable de la Unidad Asociada: A. Olano.

III.- ACTIVIDAD INVESTIGADORA

PROYECTOS FINANCIADOS POR LA UNIÓN EUROPEA

Título: “Novel ingredients for healthier foods”.

Referencia: MERG-CT-2004-505596.

Fecha: Enero 2004 - Diciembre 2005.

Investigadores principales: Dr. Agustín Olano, Dra. María Dolores del Castillo

Resumen: La producción de nuevos productos alimenticios requiere de nuevos ingredientes con propiedades funcionales y biológicas específicas. La reacción de Maillard constituye un procedimiento eficaz para lograr la mejora de las propiedades funcionales de las proteínas evitando el empleo de compuestos químicos que podrían ser tóxicos y difíciles de eliminar. La hidrólisis de proteínas también ha sido descrita como un tratamiento efectivo para producir ingredientes destinados a la formulación de alimentos funcionales. Sin embargo, el número de investigaciones relativas al efecto de la reacción de Maillard en las propiedades biológicas de las proteínas es aún limitado y el posible empleo de la glicosilación vía reacción de Maillard seguido de hidrólisis enzimática para obtener péptidos bioactivos no se ha investigado prácticamente y constituye el objetivo fundamental de estas investigaciones.

Se obtendrán nuevos ingredientes vía reacción de Maillard a partir de proteínas de soja y carbohidratos con diferentes pesos moleculares y grado de reactividad seguido de hidrólisis enzimática empleando tres enzimas diferentes. Los procedimientos de glicosilación e hidrólisis se realizarán bajo condiciones controladas. Los péptidos se separarán empleando técnicas cromatográficas. Los péptidos que se obtengan a partir de proteínas glicosiladas y no-glicosiladas serán diferentes debido a la presencia de carbohidratos pudiendo afectar la digestión enzimática. Los glicopéptidos podrían poseer características diferentes, específicas y probablemente mejores que las atribuibles a los péptidos obtenidos a partir de la proteína nativa. Se evaluará los efectos alergénicos de los péptidos obtenidos considerándose el criterio de selección fundamental. Se evaluarán además otras propiedades biológicas tales como las actividades antioxidante, antitrombótica e hipotensora. Se seleccionarán los péptidos bioactivos y se evaluará su aptitud tecnológica (solubilidad y estabilidad térmica). Aquellos péptidos que posean propiedades funcionales deseadas se propondrán como nuevos ingredientes para la formulación de alimentos funcionales y se analizará su estructura. A través del empleo de análisis estadístico se tratará de conocer la relación estructura función de los nuevos ingredientes. Por otra parte, los resultados derivados de este proyecto pueden ser de utilidad en el diseño de otros ingredientes alimentarios empleando la misma o otra fuente de proteínas.

Título: “Mannoproteins in food security”.

Referencia: MERG-CT-2004-513472.

Fecha: Octubre 2004 - Septiembre 2006.

Investigadores principales: Dra. Carmen Polo, Dr. Adolfo Martínez.

Resumen: Las manoproteínas de levadura podrían utilizarse para prevenir o reducir la colonización intestinal por parte de bacterias enteropatógenas. El uso empírico de levaduras o preparaciones de paredes celulares de levaduras ha permitido reducir la capacidad de colonización intestinal de algunos patógenos como *Salmonella*. *Campylobacter jejuni* y otras especies asociadas son en la actualidad la

primera causa de enfermedades diarreicas bacterianas provenientes de los alimentos, y las aves de corral, principalmente el pollo, el reservorio principal de este patógeno. Hasta la fecha, no se ha estudiado si manoproteínas específicas son capaces de reducir la presencia de *Campylobacter* en pollo. Por tanto, proponemos como principal objetivo de esta investigación estudiar el efecto de diferentes manoproteínas sobre la adherencia de *Campylobacter* a células epiteliales de intestino de pollo, identificando fracciones especialmente efectivas.

Las propiedades de las manoproteínas pueden modificarse por el procedimiento usado para su extracción y purificación, por lo que se evaluarán diferentes métodos para realizar estos procedimientos. También se analizará la influencia de variables como la fase de crecimiento de las levaduras, las condiciones de cultivo, o la presencia de diferentes estreses, sobre las manoproteínas obtenidas. Se tratará de establecer una relación entre la composición de la fracción de manoproteínas y su capacidad de inhibir la adherencia de *Campylobacter* a las células epiteliales de intestino de pollo. Esta información puede ser de gran utilidad para establecer nuevos procesos de preparación de manoproteínas y puede influir positivamente en la selección de nuevas cepas de levadura, así como en los experimentos de ingeniería genética diseñados para obtener mutantes superproductores de manoproteínas específicas. Los resultados derivados de este proyecto contribuirán a establecer una relación entre la composición de las manoproteínas y su empleo potencial en seguridad alimentaria.

Título: "Development of diagnosis tools for *Bretanomyces* monitoring (BRETT MONITORING)"

Referencia: MERG-CT-2003-50844J5.

Organismo financiador: Unión Europea.

Fecha: Junio 2004 - Mayo 2006.

Investigador Principal: Dr. M. Antonio Abad (IATA).

Investigador Principal en el IFI: Dr. Ramón González.

PROYECTOS FINANCIADOS POR PROGRAMAS NACIONALES

Título: "Obtención de péptidos bioactivos a partir de subproductos protéicos de la industria alimentaria mediante procesos fermentativos y de hidrólisis".

Referencia: AGL2001-1261.

Fecha: Diciembre 2001 - Diciembre 2004.

Investigador Principal: Dra. Lourdes Amigo.

Resumen: La incorporación de determinados componentes con actividades biológicas, como son los péptidos bioactivos, es una de las estrategias para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales. El objetivo principal de este proyecto es la obtención de nuevos péptidos con actividad antihipertensiva y antimicrobiana a partir de proteínas presentes en subproductos de la industria láctea y del huevo. Para la producción de estos péptidos se utilizarán procesos de hidrólisis enzimática bajo condiciones de calentamiento y alta presión y se desarrollarán procesos fermentativos en combinación con enzimas de grado alimentario. Estos estudios permitirían por una parte, la revalorización de los

subproductos de las industrias lácteas y del huevo y, por otra, el establecimiento de las bases para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales con actividades biológicas.

Título: “Obtención de proteínas glicosiladas para su utilización como ingredientes funcionales en alimentos mediante tecnologías alternativas”.

Referencia: AGL2001-1971.

Fecha: Diciembre 2001 - Diciembre 2004.

Investigador Principal: Dr. Agustín Olano.

Resumen: La unión de polisacáridos y proteínas mediante reacción de Maillard es un procedimiento eficaz para mejorar las propiedades funcionales de las proteínas y no requiere el uso de aditivos químicos que podrían suponer un problema en alimentación. Las propiedades funcionales de la β -lactoglobulina, la ovoalbúmina, la lisozima y las proteínas de soja, pueden ser mejoradas mediante su unión vía reacción de Maillard con dextranos y galactomananos manteniendo e incluso mejorando otras propiedades biológicas y reduciendo la alergenicidad. Dado que las condiciones en las que se lleva a cabo la reacción de Maillard pueden alterar la estructura de la proteína y afectar a las propiedades funcionales del producto originado, es necesario llevar a cabo la reacción en condiciones muy controladas. En el presente proyecto se pretenden utilizar procedimientos alternativos tales como Alta Presión y CO₂-supercrítico para obtener rendimientos razonables en las primeras etapas, sin que se originen productos de etapas posteriores y así conseguir aditivos alimentarios multifuncionales e hipoalergénicos. Se emplearán concentrados de proteínas de suero, proteínas de clara de huevo y proteínas de soja. A continuación se caracterizarán los productos originados de la glicosilación de cada proteína mediante técnicas cromatográficas y electroforéticas. Posteriormente se evaluarán propiedades funcionales tales como solubilidad, estabilidad térmica, actividad emulsificante y estabilidad de la emulsión formada. Asimismo, también se estudiarán diversas propiedades biológicas de los derivados originados como son inmunogenicidad, actividad antimicrobiana, actividad ligante del retinol y digestibilidad. Con los resultados obtenidos se pretende establecer las condiciones óptimas de glicosilación utilizando tecnologías alternativas en la mejora de las propiedades funcionales de las proteínas, con el fin de poder utilizar los compuestos originados como ingredientes funcionales en alimentación.

Título: “Transformación tecnológica del altramuz. Aplicación a nutrición animal y humana”.

Referencia: AGL2001-2302.

Fecha: Diciembre 2001 - Diciembre 2004.

Investigador Principal: Dra. Juana Frías.

Resumen: La finalidad de este proyecto es doble: a) la sustitución en piensos de la proteína animal por proteína vegetal procedente de leguminosas con elevado contenido proteico, como es el altramuz; y b) obtención de alimentos probióticos. Para ello se pretende obtener, en primer lugar, derivados del altramuz con menor contenido en factores antinutritivos y, en especial, en α -galactósidos, compuestos que impiden incrementar los niveles de inclusión del altramuz en las dietas animales. Los derivados del altramuz serán obtenidos mediante extracción selectiva de los α -galactósidos y serán sometidos a

análisis químicos y biológicos en animales de experimentación (ratas y pollos). En segundo lugar, se pretende obtener concentrados de α -galactósidos de elevada pureza que se conseguirán mediante la purificación de los extractos obtenidos durante la obtención de los derivados del altramuz. Dichos α -galactósidos se utilizarán como probióticos en la elaboración de productos lácteos con características probióticas, los cuales serán sometidos a análisis microbiológicos y evaluación sensorial.

Título del Proyecto: “Procesos biotecnológicos para incrementar la capacidad antioxidante de leguminosas”.

Referencia: AGL2002-02905.

Fecha: Diciembre 2002 - Diciembre 2005.

Investigador Principal: Dra. M^a Concepción Vidal.

Resumen: La finalidad de este proyecto es la obtención, mediante los procesos biotecnológicos de fermentación y germinación de derivados de soja, altramuz y garbanzos con elevado contenido en compuestos antioxidantes así como valorar la capacidad antioxidante y efectos biológicos de los nuevos alimentos. Es bien conocido que los procesos de fermentación y germinación mejoran notablemente la calidad nutritiva de las leguminosas debido a que se obtienen productos que se caracterizan por tener bajo o nulo contenido en antinutrientes, mejor digestibilidad protéica y mayor disponibilidad de minerales. Existen también antecedentes de que durante dichos procesos biotecnológicos se pueden además producir cambios en las sustancias bioactivas (compuestos fenólicos, carotenoides, tocoferoles, vitamina C, etc.) que tienen propiedades antioxidantes, las cuales tienen un indiscutible interés fisiológico. Para la realización de este proyectos se llevarán a cabo, en distintas condiciones, los procesos biotecnológicos de fermentación y germinación con semillas de soja, altramuz y garbanzos con objeto de optimizarlos desde el punto de vista del contenido en compuestos bioactivos antioxidantes. Se valorará la capacidad antioxidante de los derivados de leguminosas, así como su repercusión biológica. Esto último se llevará a cabo mediante la valoración de la peroxidación lipídica de liposomas unilaminares (que nos reflejará las alteraciones que sufre la membrana celular) y el efecto antioxidante en distintas líneas celulares donde se determinará la peroxidación lipídica y protéica, daño celular del ADN, efecto en enzimas antioxidantes y oxidación de LDL.

Título: “Estabilización de licopeno por encapsulación mediante tecnología de fluidos supercríticos para su empleo en la industria alimentaria”.

Referencia: AGL2002-03615.

Fecha: Diciembre 2002 - Diciembre 2005.

Investigador Principal: Dra. Gracia P. Blanch.

Resumen: El presente proyecto se plantea con el objetivo de estabilizar compuestos de alto valor añadido extraídos del tomate y encapsulados mediante fluidos supercríticos. Con ello además, se pretende contribuir a una posible solución del problema que supone el aprovechamiento de residuos procedentes de los subproductos y excedentes de la planta y fruto del tomate. Concretamente, el estudio se centrará en la estabilización del licopeno obtenido a partir de tomate mediante extracción, fraccionamiento y encapsulación en una única etapa, utilizando dióxido de carbono supercrítico. La encapsulación se realizará depositando ciclodextrinas, proteínas de suero o polímeros cristal-

líquido, en la propia celda separadora en la que se recupera el licopeno, en condiciones de presión y temperatura adecuadas, con el objetivo final de alcanzar un producto de gran pureza, natural y estable. Se recurrirá al empleo de distintas técnicas instrumentales como cromatografía de líquidos, cromatografía de gases, técnicas acopladas como cromatografía de líquido-cromatografía de gases, calorimetría diferencial, difracción de rayos X y resonancia magnética nuclear, para evaluar la formación de los encapsulados y su estabilidad.

Título: “Extracción con fluidos sub- y supercríticos de compuestos de interés alimentario procedentes de microalgas. Caracterización y estudio de sus propiedades funcionales *in-vitro* e *in-vivo*”.

Referencia: AGL2002-04621-CO2-02.

Fecha: Diciembre 2002 - Diciembre 2005.

Investigador Principal: Dr. Alejandro Cifuentes.

Resumen: El objetivo del proyecto es contribuir al desarrollo de tecnologías limpias para la producción de nuevos ingredientes alimentarios funcionales a partir de fuentes naturales. Para ello se estudian tres diferentes procesos basados en la tecnología de fluidos sub- y supercríticos para el aislamiento de compuestos fitoquímicos de interés alimentario a partir de microalgas como la *Dunaliella salina* y la *Spirulina platensis*. Los productos obtenidos se caracterizarán química, bioquímica y funcionalmente.

El proyecto contempla los siguientes aspectos:

1. El estudio de los parámetros que rigen: a) la extracción acelerada con agua en condiciones subcríticas (ASE), b) la extracción mediante CO₂ supercrítico (SFE) y c) la separación por cromatografía supercrítica preparativa (Prep-SFC), de los componentes de las fracciones con funcionalidades de interés (por ejemplo carotenoides, tocoferoles, etc) a partir de microalgas.
2. La caracterización química de los productos obtenidos mediante el empleo de técnicas instrumentales avanzadas (p.ej. cromatografía de líquidos de alta eficacia-espectrometría de masas (HPLC-MS), electroforesis capilar (EC), etc.).
3. La evaluación *in vitro* de las actividades funcionales (antioxidantes, antimicrobianas y antivirales) de los distintos extractos obtenidos, de los compuestos individuales y de ciertas combinaciones de los mismos.
4. La valoración *in vivo* de sus características nutracéuticas potenciales utilizando ratas como animales de experimentación. Para ello se desarrollarán y validarán previamente métodos analíticos más simples y/o fiables que los existentes para medir parámetros de estrés oxidativo.

En definitiva se pretende obtener un producto funcional, útil como complemento nutricional de la dieta, y en la prevención de distintas enfermedades, siendo no solo de interés en la industria alimentaria, sino también en la cosmética y farmacéutica.

Título: “Empleo de fluidos supercríticos para la obtención de compuestos enantiopuros de alto valor añadido a partir de fuentes naturales”.

Referencia: PPQ2002-03641.

Fecha: Noviembre 2002 - Octubre 2005.

Investigador Principal: Dra. Marta Herraiz.

Resumen: El objetivo del proyecto es ampliar el campo de aplicación de procesos extractivos y cromatográficos para la resolución de enantiómeros

estudiando la enantioselectividad de su reparto entre un selector quiral y un medio aquiral en condiciones supercríticas. Con esta finalidad, se considerarán los efectos de algunas de las variables que influyen en la extracción con fluidos supercríticos (por ej., presión y temperatura) en la recuperación y pureza óptica de los enantiómeros obtenidos.

El trabajo a realizar incluye: a) la extracción y fraccionamiento con fluidos supercríticos de componentes de plantas aromáticas y medicinales, utilizando dióxido de carbono, b) la identificación en los extractos obtenidos de compuestos quirales de alto valor añadido, empleando técnicas de separación acopladas en línea y c) la resolución de los compuestos de interés en sus antípodas ópticas, mediante la extracción selectiva de enantiómeros con fluidos supercríticos. Se pretende igualmente evaluar el potencial con fluidos supercríticos en contracorriente (CC-SFE) para la obtención de enantiómeros a escala preparativa.

Título de Proyecto: “Utilización de extractos de almendras en la formulación de suplementos dietéticos antioxidantes”.

Referencia: AGL2003-01088.

Fecha: Diciembre 2003 - Noviembre 2006.

Investigador Principal: Dra. Begoña Bartolomé.

Resumen: En este proyecto se pretende estudiar distintos aspectos relacionados con la producción de los “suplementos dietéticos antioxidantes”: a) búsqueda de nuevos ingredientes de alta capacidad antioxidante a partir de almendras (semilla y envolturas), b) adecuación de un método para la medida de la capacidad antioxidante de ingredientes (extractos de plantas) y de suplementos, y c) evaluación de la estabilidad de las características antioxidantes de los ingredientes y de los suplementos.

Título del Proyecto: “Alcaloides indólicos del tipo beta-carbolina en productos procesados de frutas y hortalizas. Evaluación de su capacidad antioxidante contra radicales libres”.

Referencia: AGL2003-01233.

Fecha: Diciembre 2003 - Noviembre 2006.

Investigador Principal: Dr. Tomás Herraiz.

Resumen: Las frutas, hortalizas y sus productos procesados como zumos y sopas son alimentos habituales en la dieta mediterránea que se relacionan con la prevención de ciertas enfermedades. Esta acción protectora se atribuye a la presencia de numerosos agentes fitoquímicos bioactivos, muchos de ellos seguramente aún desconocidos. Existe gran interés científico y nutricional por conocer tanto los agentes bioactivos como su actividad bioprotectora. En este sentido, se le presta lógica atención a la actividad antioxidante debida, entre otros, a las vitaminas, compuestos fenólicos y carotenoides. Esta investigación aborda la presencia de nuevos compuestos indólicos bioactivos con estructura de alcaloides tetrahydro- β -carbolina y β -carbolina en productos procesados de frutas y hortalizas como zumos de frutas y las sopas de hortalizas comerciales. Se pretende determinar el contenido de estos compuestos indólicos y su significación en los productos objeto de estudio, así como abordar la identificación química y los mecanismos de formación de estas moléculas. Paralelamente se evaluará la actividad de las β -carbolinas presentes en zumos de frutas y las sopas vegetales como protectores antioxidantes contra radicales libres. El objetivo es determinar

la presencia y establecer la posible significación de las β -carbolinas en el conjunto de la actividad protectora antioxidante de estos productos hortofrutícolas.

Título del Proyecto: “Producción biotecnológica de manoproteínas de levadura para uso enológico”.

Referencia: AGL2003-01762.

Fecha: Diciembre 2003 - Noviembre 2006.

Investigador Principal: Dr. Ramón González.

Resumen: Las manoproteínas de levadura poseen una serie de propiedades que las hacen muy interesantes en enología, ya sea para su uso como aditivos o adyuvantes o como consecuencia de su liberación al vino durante la fermentación o en los etapas posteriores cuando se prolonga el contacto del vino con las lías (por ejemplo en vinos criados sobre lías o en vinos espumosos). Entre las mejoras tecnológicas y sensoriales debidas a la presencia de manoproteínas de levadura en el vino destacan la estabilización frente a la quiebra proteica y la precipitación tartárica, la estabilización del color, o la mejora del cuerpo y la redondez en boca de los vinos tintos.

En la actualidad, la utilización enológica de las manoproteínas es fundamentalmente indirecta, y se basa en el enriquecimiento del vino en manoproteínas mediante el uso de prácticas tradicionales, como la crianza sobre lías o, más recientemente, mediante el tratamiento de vinos o lías con enzimas que digieren la pared celular de las levaduras. La adición directa de manoproteínas al vino, con el fin de mejorar sus propiedades tecnológicas y sensoriales, está todavía en fase experimental.

Con este proyecto se pretende introducir mejoras en la aplicación enológica de las manoproteínas mediante dos estrategias complementarias. La primera es la construcción, mediante técnicas de DNA recombinante, de nuevas cepas de levadura capaces de liberar más manoproteínas al vino durante la fermentación o la crianza, o que sirvan como materia prima más apropiada para la obtención de manoproteínas y su posterior adición al vino. La segunda es la caracterización tecnológica y bioquímica de las manoproteínas secretadas al vino por las levaduras o de las que se obtienen a partir de las lías mediante diversos métodos de extracción y fraccionamiento.

En una etapa previa a la construcción de levaduras industriales recombinantes superproductoras de manoproteínas se evaluará sobre cepas de laboratorio y utilizando sistemas modelo el interés de diferentes modificaciones genéticas. Entre las modificaciones que se estudiarán están la delección de algunos genes, como *GPI7*, *GAS1* o *FKS1* implicados en la biosíntesis de la pared celular, o la superexpresión de versiones modificadas de proteínas mayoritarias de la pared celular. Estas versiones modificadas poseerán las secuencias necesarias para su secreción, pero les habrán sido eliminadas las secuencias responsables de su unión covalente a la pared celular.

Una de los objetivos principales de la caracterización y fraccionamiento de las manoproteínas es tratar de atribuir propiedades tecnológicas específicas a algunas de ellas o a fracciones obtenidas mediante diferentes métodos, con el fin de poder diseñar preparados específicos especialmente adecuados para aplicaciones concretas.

Título del Proyecto: “Formación de compuestos heterocíclicos indeseables y de aminos biógenas durante la elaboración del vino”.

Referencia: AGL2003-02436.

Fecha: Diciembre 2003 - Noviembre 2006.

Investigador Principal: Dra. M^a Victoria Moreno.

Resumen: Las bacterias lácticas son importantes para la calidad del vino porque realizan la fermentación maloláctica. Sin embargo, algunas especies y cepas bacterianas pueden desarrollarse y originar como consecuencia de su metabolismo, alteraciones de la calidad sensorial y sanitaria de los vinos. Entre estas alteraciones se encuentran la formación de compuestos heterocíclicos nitrogenados volátiles, causantes de olores y sabores a ‘orina de ratón’, y la formación de aminos biógenas, respectivamente. En este Proyecto se pretende estudiar las condiciones de producción de estos compuestos por acción del metabolismo de las bacterias lácticas, con el fin de establecer estrategias que permitan a los elaboradores controlar estos problemas.

En el caso de la formación de compuestos heterocíclicos, se estudiará la incidencia de cepas bacterianas con capacidad de producción de estos compuestos, el metabolismo implicado en su formación, así como las condiciones enológicas que favorecen esta alteración.

El estudio de la producción de aminos biógenas se enfocará abarcando tanto los aspectos microbiológicos y bioquímicos, como los factores tecnológicos. Se profundizará en la caracterización de las enzimas implicadas en la formación de las aminos tiramina y putrescina, por los escasos antecedentes que sobre este aspecto existen en la bibliografía.

Título del Proyecto: “Estudio de la composición fenólica de vinos tintos criados sobre lías”.

Referencia: AGL2003-07394-C02-02.

Fecha: Diciembre 2003 - Noviembre 2006.

Investigador Principal: Dra. Carmen Gómez-Cordovés.

Resumen: El presente proyecto pretende estudiar una nueva metodología de crianza y envejecimiento de vinos tintos basada en el efecto sinérgico de las técnicas de microoxigenación y crianza sobre lías. El uso conjunto de estas dos técnicas es positivo para potenciar aromas y para la mejora y estabilidad de color durante la crianza. Ello es debido al efecto acelerador de las reacciones de polimerización entre antocianos y procianidinas. El acetaldehído procedente de la oxidación del etanol durante la microoxigenación actúa de molécula puente facilitando estas reacciones. También por el efecto "coloide protector" que presentan los polisacáridos y manoproteínas liberados durante la autólisis de levaduras y bacterias.

El efecto de la microoxigenación sobre polímeros procianidínicos, permite el amargor y producir más maduros y suaves con una percepción sensorial más positiva.

El consumo de oxígeno por parte de las lías de levadura hace que se comporten como reductoras y prolonguen la vida de compuestos volátiles aromáticos presentes en el vino. Igualmente en las reacciones posteriores entre las moléculas procedentes de la autólisis celular, se producen algunos compuestos que enriquecen y mejoran el perfil color del vino.

El uso sinérgico de ambas técnicas (microoxigenación y crianza sobre lías) puede permitir aunar las ventajas de ambas, suavizando el efecto oxidante de la microoxigenación sobre la fracción fenólica y aromática de los vinos.

También puede permitir suavizar el efecto del sabor y aroma de la madera de roble evitando que predomine en el vino, constituyendo una nueva tecnología de crianza sobre lias (clásica en algunos vinos blancos de Borgoña) útil para nuevos tipos y calidades de tintos de crianza.

Título del Proyecto: “Estudio de la viabilidad técnica de la extracción con gases en condiciones supercríticas para la obturación de fugas”.

Referencia: VEM2003-20072-C02-01.

Fecha: Octubre 2003 - Septiembre 2006.

Investigador Principal: Dr. José Guillermo Santa-María.

Resumen: El objetivo primordial de este proyecto se centra en el estudio de la viabilidad técnica del empleo de CO₂ y mezclas CO₂/CH₄ en estado supercrítico que eviten el vertido de hidrocarburos tras naufragios de barcos como el caso del “Prestige”. La resolución del problema se aborda desde dos perspectivas diferentes: sellado de fugas y evacuación del fuel-oil mediante el empleo de fluidos supercríticos. Por ello, la investigación propuesta se ha estructurado en dos subproyectos.

En el primer subproyecto se estudiará la extracción con fluidos supercríticos de los hidrocarburos ligeros del fuel-oil, lo que es de esperar induzca la formación de depósitos de hidrocarburos pesados que taponen las grietas por las que se pierde parte de la carga. Se determinará la extensión de los depósitos de hidrocarburos pesados que se puedan formar, que dependerá en gran medida de la composición del fuel-oil, del poder solvatante del gas inyectado y de la temperatura y presión a que se encuentre sometido el fuel-oil.

En el segundo subproyecto se estudiará mediante un avanzado simulador de procesos la viabilidad del bombeo por gas del fuel-oil diluido. La disolución de un gas en estado supercrítico en el fuel-oil ocasionará una reducción de su densidad, viscosidad y tensión interfacial, con lo que se mejorarán sus características fluido-dinámicas con vistas a su bombeo. Así, para simular el proceso se tendrán que determinar los coeficientes de difusión de los fluidos supercríticos en el fuel-oil y la densidad, viscosidad y tensión interfacial del fuel-oil diluido en las condiciones de presión y temperatura a que se ve sometido en el pecio.

Título del Proyecto: “Estudio sobre vida útil y contenido en determinados metabolitos secundarios de germinados comerciales”.

Referencia: AGL2004-00886.

Fecha: Diciembre 2004 - Diciembre 2007.

Investigador Principal: Dra. Juana Frias.

Resumen: La germinación es un proceso respetuoso con el medio ambiente con el que se consiguen alimentos de mayor valor añadido y con características de frescura, calidad y seguridad que demanda el consumidor. En los últimos años está aumentando considerablemente el consumo de estos productos y, aunque se ha estudiado con detalle sus efectos sobre los constituyentes mayoritarios y en factores antinutritivos, es menos conocido, pero no menos interesante, conocer los beneficios potenciales que conlleva su consumo, referido al contenido en ciertos metabolitos secundarios que pueden estar relacionados con la salud. El objetivo de este proyecto es estudiar los germinados de semillas comerciales en relación con su contenido en aminoácidos libres no proteicos, metabolitos secundarios de importancia

fisiológica y farmacológica. Se pretende en este proyecto optimizar las condiciones de germinación de cada semilla en las que se potencien las características beneficiosas desde el punto de vista fisiológico. Además, es de indudable interés conocer la calidad higiénico-sanitaria de estos alimentos perecederos. Proponemos utilizar las altas presiones no sólo en los germinados de semillas sino también como procedimiento de higienización previo a la germinación, y seleccionar aquellas condiciones óptimas en las que se consigan resultados satisfactorios. Todos los germinados de semillas conseguidos por los procedimientos anteriores se envasarán en atmósferas modificadas con objeto de aumentar su vida útil desde el punto de vista microbiológico.

Título del Proyecto: "Producción y caracterización de ingredientes funcionales hipoalergénicos y su inmunogenicidad en individuos con alergias remitentes y persistentes al huevo y a la leche".

Referencia: AGL2004-03322.

Fecha: Diciembre 2004 - Diciembre 2007.

Investigador Principal: Dra. Rosina López-Alonso.

Resumen: En la infancia son frecuentes las alergias alimentarias, y los alimentos causantes de la mayor parte de éstas son el huevo de gallina y la leche de vaca. Existen en el mercado algunos productos hipoalergénicos, procedentes de proteínas lácteas, pero éstos presentan malas propiedades organolépticas y tecnológicas. No existen productos hipoalergénicos procedentes de proteínas de huevo. La producción de ingredientes hipoalergénicos, procedentes de proteínas de huevo y de leche con potencial aplicación como ingredientes en otros alimentos sería un gran avance para la industria alimentaria, que beneficiaría a los pacientes alérgicos.

El presente proyecto tiene como objetivo producir alimentos o ingredientes alimentarios con baja alergenicidad a partir de proteínas de leche y huevo, manteniendo, en la mayor medida posible, la aptitud tecnológica y propiedades sensoriales de las proteínas de las que proceden. Se evaluará la alergenicidad mediante la realización de estudios en humanos, efectuando pruebas con sueros humanos y tests cutáneos, distinguiendo entre pacientes con alergias remitentes y persistentes. También se realizarán estudios de relación estructura-actividad entre las proteínas modificadas y sus propiedades alergénicas.

Para ello, se utilizarán tratamientos físicos que induzcan cambios estructurales en las proteínas, haciéndolas más accesibles a las enzimas proteolíticas. Bajo estas condiciones, es muy probable que se eliminen los epítopos responsables de la alergenicidad, manteniendo en buena medida las propiedades organolépticas y/o la aptitud tecnológica. Se comprobará que son hipoalergénicos tanto in vitro como in vivo. Los hidrolizados serán caracterizados en cuanto a su composición y propiedades funcionales. Además, se llevará a cabo un estudio comparativo sobre la reactividad de los hidrolizados entre pacientes con alergias persistentes y transitorias, y se caracterizarán estos hidrolizados con el fin de identificar epítopos de las proteínas que sean reconocidos de modo diferente entre ambos tipos de pacientes.

De este proyecto se espera producir hidrolizados hipoalergénicos y además, contribuir al conocimiento sobre la relación entre la estructura/secuencia de las

proteínas, su alergenicidad, y su resistencia a la desnaturalización y a la digestión, para establecer las bases de nuevos procedimientos específicamente encaminados a reducir la alergenicidad de los alimentos.

Título del Proyecto: “Obtención de glicopéptidos a partir de proteínas de soja para su empleo como ingredientes funcionales”.

Referencia: AGL2004-05031.

Fecha: Diciembre 2004 - Diciembre 2007.

Investigador Principal: Dra. M. Dolores del Castillo.

Resumen: En el presente proyecto se pretende obtener nuevos ingredientes mediante glicosilación de proteínas de soja y carbohidratos con distinto peso molecular y reactividad seguido por hidrólisis enzimática empleando tres enzimas distintas. Ambos procesos, glicosilación e hidrólisis enzimática, se llevarán a cabo bajo condiciones controladas. Los péptidos que se obtengan se aislarán empleando técnicas cromatográficas. Se espera que los péptidos obtenidos por digestión de la proteína glicosilada sean esencialmente distintos de los obtenidos de las proteínas no glicosiladas. La presencia de los carbohidratos unidos a la estructura proteica como consecuencia de la glicosilación deben afectar la digestión enzimática. Los péptidos formados se espera que posean características específicas y mejores que las correspondientes a los obtenidos por digestión de la proteína intacta. El efecto alergénico de los péptidos se evaluará y se tomará como criterio de selección. Otras propiedades biológicas incluyendo actividad antioxidante, antitrombótica e hipotensora también serán evaluadas. Se seleccionarán aquellos péptidos bioactivos con mejores propiedades biológicas y seguidamente se estudiarán su actitud tecnológica (solubilidad, sabor y estabilidad térmica). Los péptidos que muestren las mejores propiedades funcionales se propondrán como nuevos ingredientes para la formulación de alimentos funcionales y se someterán a análisis estructural. Con los datos obtenidos se realizará un estudio estadístico de la relación estructura-función. Esta información podría ser utilizada en el diseño de otros ingredientes empleando la misma o otras fuentes de proteínas.

Título del Proyecto: “Estudio del beneficio para la salud de antioxidantes de romero mediante ensayos in vivo y ensayos clínicos con niños diabéticos tipo 1. Purificación de ácido carnósico por SFC con polímeros selectivos”.

Referencia: AGL2004-06893-C02-01.

Fecha: Diciembre 2004 - Diciembre 2007.

Investigador Principal: Dra. Elena Ibáñez.

Resumen: El objetivo general del proyecto es contribuir al conocimiento del potencial terapéutico de los extractos de romero, y del ácido carnósico aislado de estos extractos mediante procesos selectivos de purificación, como antioxidantes naturales con propiedades nutracéuticas que pudieran incorporarse como parte de la dieta para tratar enfermedades como la diabetes infantil de Tipo 1 asociada a situaciones de estrés oxidativo. El efecto esperado de los extractos de romero sobre este tipo de patologías está relacionado con una mejora del status antioxidante del paciente que está desarrollando la enfermedad para, de esta forma, poder prevenir otras enfermedades asociadas a situaciones de estrés oxidativo que suelen aparecer en una edad adulta (polineuropatías, enfermedades cardiovasculares, etc.).

El proyecto contempla los siguientes aspectos:

1. El desarrollo de un proceso mejorado de extracción de romero para obtener extractos concentrados en ácido carnósico empleando fluidos en condiciones supercríticas (CO₂).
2. El desarrollo de un proceso de purificación de ácido carnósico a partir de extractos de romero, utilizando cromatografía supercrítica preparativa (Prep-SFC) y mediante el diseño de sistemas altamente selectivos basados en el empleo de polímeros inteligentes.
3. El estudio de la funcionalidad antioxidante de los extractos de romero enriquecidos con ácido carnósico, mediante ensayos *in vivo* evaluando el posible efecto beneficioso de los mismos sobre ratas sometidas a situaciones de estrés oxidativo (diabetes tipo 1 y diabetes moderada).
4. El estudio del potencial beneficio para la salud de extractos de romero enriquecidos con ácido carnósico mediante ensayos clínicos con niños diabéticos (tipo 1). Los ensayos clínicos estarán supeditados a la consecución con éxito de los objetivos de la primera fase del estudio.

Título del Proyecto: “Péptidos bioactivos e ingredientes funcionales de proteínas lácteas y proteínas de huevo: Caracterización, estabilidad y distribución tisular”.

Referencia: AGL2004-06903-C02.

Fecha: Diciembre 2004 - Diciembre 2005.

Investigador Principal: Dra. Isidra Recio.

Resumen: El desarrollo de nuevos alimentos funcionales precisa demostrar científicamente la eficacia de los componentes bioactivos y el conocimiento del mecanismo de acción de los mismos. El empleo de péptidos bioactivos como ingredientes en alimentos funcionales no está prácticamente explotado y sin embargo, puede tener una gran repercusión en la mejora del estado de salud de los individuos y en la prevención de enfermedades.

El objetivo global de este proyecto es el desarrollo de ingredientes y alimentos funcionales, seguros y con actividad antihipertensiva y/o antioxidante demostradas científicamente, que contengan péptidos bioactivos derivados de proteínas lácteas y de huevo. Para ello, el proyecto propone el desarrollo de métodos para la obtención de ingredientes a partir de proteínas lácteas y de huevo, la evaluación de la actividad antihipertensiva y antioxidante en animales de experimentación y el estudio de la estabilidad de los péptidos bioactivos de interés en el aparato digestivo y su distribución tisular tras la absorción intestinal. Asimismo, el proyecto plantea el estudio del mantenimiento de la actividad biológica de estos péptidos durante el procesado y la conservación de los alimentos. Finalmente, si los resultados de los ensayos en animales lo justifican, se llevarán a cabo estudios en humanos con voluntarios sanos.

El proyecto supone una importante contribución científico-técnica en el conocimiento del efecto fisiológico de ingredientes y alimentos funcionales y permitirá encontrar nuevos usos para el huevo de gallina con el fin de explotar sus beneficios más de los derivados de su valor nutritivo.

Título del Proyecto: Subproyecto 1: “La pared de levaduras como fuente de manoproteínas funcionales para la alimentación humana”.

Proyecto Coordinado: “La pared de levaduras como fuente de manoproteínas funcionales para la alimentación humana”.

Referencia: AGL2004-06933-C02-01.

Fecha: Diciembre 2004 - Diciembre 2007.

Investigador Principal: Dr. Alfonso V. Carrascosa.

Resumen: Las manoproteínas de levadura, que poseen propiedades muy interesantes para su uso en enología, serían también utilizables como complementos dietéticos en alimentación humana y animal, debido a sus propiedades funcionales. Se sabe que algunos compuestos que contienen polisacáridos ricos en manosa reducen al ser ingeridos la colonización por enterobacterias patógenas del intestino. Esta propiedad de los compuestos que incluyen abundante manosa en su composición, podría permitir el abordaje del estudio de la disminución de la capacidad infectiva de enterobacterias tales como *Campylobacter* o *Salmonella* desde una nueva perspectiva, cual es la del empleo de nuevos componentes funcionales derivados de las levaduras tales como las manoproteínas de la pared. Con este proyecto pretendemos introducir en el ámbito de los ingredientes funcionales las manoproteínas producidas de manera biotecnológica a partir de levaduras. Para ello pretendemos abordar la búsqueda de cepas y condiciones de cultivo favorables a la producción de manoproteínas así como la obtención de cepas recombinantes hiperproductoras de manoproteínas específicas especialmente activas frente a bacterias enteropatógenas. Tras su caracterización, el desarrollo y la aplicación de diversas técnicas de extracción, fraccionamiento y purificación, nos permitirá contar con fracciones puras que serán ensayadas tanto *in vitro* como *in vivo*, sobre cultivos celulares o animales adultos, para poder así estar en disposición de abordar un estudio en humanos con posterioridad.

Título del Proyecto: “Efecto de los procesos en las propiedades funcionales de los polifenoles y del licopeno presentes en subproductos y excedentes agroalimentarios”.

Referencia: AGL2004-07075-CO2-02.

Fecha: Diciembre 2004 - Diciembre 2007.

Investigador Principal: Dra. Begoña Bartolomé.

Resumen: En este proyecto se obtendrán, mediante extracción con disolventes y con flúidos supercríticos, distintos preparados ricos en polifenoles o en licopeno a partir de piel de almendra y de tomate, respectivamente. Se estudiará su actividad antioxidante y mutagenicidad-antimutagenicidad. Los preparados más activos se caracterizarán químicamente, y se ensayarán distintos sistemas de estabilización y vehiculización. En colaboración con el Hospital Ramón y Cajal, se llevarán a cabo estudios de asimilación de estos componentes en humanos y en animales.

Título del Proyecto: “Aplicación de la tecnología de fluidos supercríticos a la obtención de ingredientes alimentarios funcionales. Carbohidratos prebióticos”.

Referencia: AGL2004-07227-C02-02.

Fecha: Diciembre 2004 - Diciembre 2007.

Investigador Principal: Dr. Agustín Olano.

Resumen: El proyecto consiste en la realización de los estudios necesarios para el desarrollo de nuevos procesos de obtención de carbohidratos prebióticos a partir de permeados de quesería. Concretamente, se persigue la preparación de oligosacáridos prebióticos derivados de tagatosa y de lactulosa así como el fraccionamiento de mezclas complejas de carbohidratos

prebióticos mediante la utilización de la tecnología de fluidos supercríticos para obtener productos con una composición definida, seleccionando aquellos con características funcionales específicas.

Título del Proyecto: “Formación de aminas biógenas por las bacterias lácticas durante la vinificación. Desarrollo de estrategias para evitar su producción”.

Referencia: PETRI 1995-0736-OP.

Fecha: Mayo 2004 - Abril 2006.

Investigador Principal: Dra. M. Victoria Moreno.

Resumen: La formación de aminas biógenas en los vinos preocupa a los elaboradores empeñados en obtener vinos de calidad. En el vino, las aminas biógenas se originan mayoritariamente por la presencia de bacterias lácticas que producen enzimas que descarboxilan los aminoácidos precursores correspondientes. En este Proyecto se pretenden estudiar las condiciones de formación de las aminas biógenas durante la elaboración del vino, con el fin establecer estrategias que permitan evitar su producción. Para ello, se van a estudiar 24 series de vinos tintos elaborados en dos bodegas diferentes empleando distintas tecnologías de elaboración. Para cada una de las series se realizará el estudio de la composición global, de la evolución de la concentración de aminas biógenas y la de los aminoácidos precursores correspondientes, y el análisis de la fracción volátil, durante las distintas etapas de elaboración y hasta los 12 meses de envejecimiento en barrica. Asimismo se realizará un seguimiento microbiológico de los vinos, y se llevará a cabo el aislamiento y la identificación de las bacterias lácticas productoras de aminas y de las cepas bacterianas inocuas (no productoras de estos compuestos) dentro de la microbiota autóctona de cada bodega.

Título del Proyecto: “Influencia de diversos tratamientos tecnológicos en la crianza de un vino de la zona norte de la D.O. Navarra”.

Referencia: PETRI 95-0759-P.

Fecha: Abril 2004 - Abril 2006.

Investigador Principal: Dra. M. Victoria Moreno.

Resumen: La elaboración de vinos tintos de calidad conlleva, además de la fermentación alcohólica, dos procesos importantes, la fermentación maloláctica y el envejecimiento en barrica y/o en botella. En este Proyecto se pretende comprobar la influencia de distintas variables del proceso de fermentación maloláctica y de envejecimiento en barrica, en la calidad de los vinos. Como variables del proceso se incluirán la realización de la fermentación maloláctica en la barrica o en depósito de acero inoxidable, la realización o no antes de introducir el vino en la barrica, de las operaciones de clarificación, trasiego y estabilización tartárica de los vinos y por último, el removido de las lías en el caso de los vinos envejecidos con lías. Para evaluar la calidad de los vinos se realizará el estudio de la composición global del vino, de la fracción volátil, de los compuestos fenólicos, de la fracción nitrogenada, de la fracción macromolecular y de la evolución del color. Asimismo se realizará el análisis sensorial de los vinos. El estudio se prolongará hasta los 24 meses de envejecimiento de los vinos.

PROYECTOS FINANCIADOS POR LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

Título: “Detección múltiple, ultrasensible y cuantitativa de organismos modificados genéticamente: Determinación en alimentos”.

Referencia: 07B/0021/2002.

Fecha: Enero 2003 - Diciembre 2004.

Investigador principal: Dr. Alejandro Cifuentes.

Resumen: El presente proyecto propone el desarrollo de una nueva metodología analítica, basada en la combinación de técnicas bioquímicas y técnicas electroforéticas capilares, que aplicada a alimentos que contengan uno o varios GMOs permita su determinación ultrasensible y cuantitativa en un único análisis.

El desarrollo de esta metodología posibilitaría (tras las correspondientes modificaciones) el análisis ultrasensible y cuantitativo de otros organismos modificados genéticamente en diferentes matrices, lo que permitiría contar con una potente herramienta de análisis de GMOs aplicable en una gran variedad de campos (farmacológico, biotecnológico, alimentario, medioambiental, etc).

Título: “Estudio de la idoneidad de levaduras autóctonas de la D.O. vinos de Madrid para la elaboración de vinos espumosos, implicaciones biotecnológicas y formación de péptidos activos”.

Referencia: 07B/0023/2002.

Fecha: Enero 2003 - Diciembre 2004.

Investigador principal: Dra. Carmen Polo.

Resumen: La elaboración de vinos espumosos por el método tradicional, es un proceso biotecnológico que comienza con la elección de un vino base adecuado y que requiere de cepas de levaduras, preferentemente de carácter floculante, para que tenga lugar la segunda fermentación y el envejecimiento de los vinos con estas levaduras. Durante esta etapa se produce la autólisis de las levaduras y tienen lugar las principales modificaciones del vino que van a tener una influencia decisiva en la calidad final del producto.

Entre los compuestos mayoritarios del vino se encuentran los péptidos. A los péptidos se les atribuyen diversas propiedades como surfactantes, sensoriales y actividad biológica entre otras. Profundizar en su conocimiento y detectar sus propiedades biológicas positivas, puede contribuir a mejorar la imagen del vino como bebida saludable. Detectar aquellos compuestos que pueden producir características negativas permitirá modificar algunos aspectos de la metodología de elaboración con el fin de poder evitar su presencia.

En este proyecto se pretende establecer la idoneidad del uso de cepas seleccionadas de *Saccharomyces cerevisiae* con carácter floculante, autóctonas de la D.O. Vinos de Madrid, para su aplicación en la mejora tecnológica de la elaboración de vinos espumosos blancos elaborados con las variedades Albillo y Malvar. Se dedicará una especial atención al estudio de la repercusión que este proceso biotecnológico tiene sobre las propiedades biológicas, funcionales y sensoriales de los péptidos liberados por las levaduras. Las cepas de levaduras que se consideren más idóneas, en base a los resultados obtenidos, se pondrán a disposición de las bodegas de la Región para poder ser utilizadas en la elaboración de este tipo de vinos especiales.

Título: "Aminas heterocíclicas aromáticas en alimentos. Aislamiento, análisis y evaluación mutagénica".

Referencia: 07G/0034/2003.

Fecha: Octubre 2003 - Octubre 2004.

Investigador Principal: Dr. Tomas Herraiz.

Resumen: Las aminas heterocíclicas aromáticas (AHAs) constituyen una familia compleja de compuestos nitrogenados bioactivos y mutagénicos en alimentos. El presente proyecto aborda la obtención de métodos analíticos basados en extracción en fase sólida y HPLC para la detección y el control de aminas heterocíclicas en alimentos. Tras la obtención de estos métodos determinaremos la concentración de AHAs en alimentos cocinados con el fin de comprobar la validez de los métodos obtenidos y evaluar de manera preliminar el contenido de estos compuestos en esos alimentos. Por otro lado, se determinará la actividad mutagénica de las AHAs. Estos resultados preliminares deben encaminarse a conseguir líneas de actuación para disminuir la concentración de las AHAs en la dieta.

Título: "Obtención y caracterización de péptidos bioactivos procedentes de subproductos de huevo. Desarrollo de nuevos procedimientos de hidrólisis empleando altas presiones".

Referencia: 07G/0036/2003.

Fecha: Octubre 2003 - Octubre 2004.

Investigador principal: Dra. Rosina López-Alonso.

Resumen: En los últimos años, los alimentos funcionales han irrumpido con fuerza en el sector alimentario, debido a la concienciación de los consumidores de la relación existente entre la dieta y la salud. Dentro de los ingredientes funcionales, ocupan un lugar destacado los péptidos con actividad biológica, "liberados" mediante proteólisis *in vivo* o *in vitro* de las proteínas alimentarias, que pueden tener actividades opiácea, antihipertensiva, antitrombótica, antioxidante, inmunomodulante, etc. Los péptidos procedentes del tratamiento de una misma proteína con enzimas pueden ser muy distintos, dependiendo de la enzima utilizada, y de las condiciones de hidrólisis. La combinación del tratamiento con altas presiones y la hidrólisis enzimática ha mostrado su eficacia en la producción de hidrolizados.

Este proyecto plantea la búsqueda de nuevos péptidos con actividad antihipertensiva y antioxidante, a partir de proteínas presentes en subproductos de la industria del huevo. Estos péptidos se obtendrán mediante hidrólisis enzimática bajo condiciones desnaturalizantes, sometiendo las proteínas a la acción de altas presiones, para favorecer el desplegamiento de las mismas. Se analizarán los hidrolizados obtenidos, se testarán las actividades antioxidante y antihipertensiva de la fracción <3000 Da y se aislarán los péptidos responsables de la actividad biológica. Finalmente, se estudiará la relación estructura-actividad de las secuencias que hayan demostrado mayor actividad, con la ayuda de péptidos sintéticos con secuencias homólogas. Este proyecto contribuirá al conocimiento del potencial fisiológico de los péptidos procedentes del huevo, a la revalorización de los subproductos de la industria del huevo y al desarrollo de nuevas tecnologías de hidrólisis enzimática.

Título: "Desarrollo de un método de PCR-multiplex para la detección de bacterias de aminas biógenas en alimentos".

Referencia: 07G/0035/2003.

Fecha: Octubre 2003 - Octubre 2004.

Investigador principal: Dra. M^a del Rosario Muñoz.

Resumen: Las aminas biógenas son compuestos producidos por el metabolismo bacteriano que pueden producir intoxicaciones alimentarias. El proyecto pretende poner a punto un método de PCR multiplex que permita la detección de bacterias productoras de aminas biógenas en alimentos. Este sistema se aplicaría a las bacterias utilizadas como cultivos iniciadores en fermentaciones alimentarias industriales y también directamente a los alimentos para detectar posibles bacterias alterantes productoras de aminas.

Título: “Detección de la utilización fraudulenta de leche en polvo y caseinatos en la elaboración de quesos”.

Referencia: 07G/0037/2003 1.

Fecha: Octubre 2003 - Octubre 2004.

Investigador Principal: Dra. Mercedes Ramos.

Resumen: El objetivo del proyecto consiste en el desarrollo y puesta a punto de métodos de análisis que permitan la detección y determinación del contenido en caseinatos y/o leche en polvo en quesos frescos y de pasta dura basados en la determinación del contenido en lisinoalanina, (procedente de caseinatos) y furosina (procedente de leche en polvo). Cuando se utiliza leche en polvo para la elaboración del queso, parte de la proteína glicosilada se elimina en el suero por lo que no toda la furosina procedente de leche en polvo queda retenida en la cuajada. Por ello es preciso estudiar el efecto del tratamiento térmico previo a la coagulación de la leche de partida para establecer una correlación entre la furosina detectada en cada tipo de queso y la cantidad de leche en polvo utilizada. Por lo que respecta a la detección de caseinatos, se fabricarán quesos con diferentes porcentajes de caseinatos para establecer límites de detección. Una vez establecidas las metodologías analíticas se estudiará la presencia de caseinatos y leche en polvo en muestras comerciales representativas de los productos consumidos en la Comunidad de Madrid.

PROYECTOS INTRAMURALES DE FRONTERA FINANCIADOS POR EL C.S.I.C

Título del Proyecto: “Caracterización varietal de vinos a través del análisis del ADN”.

Referencia: 200470F0370.

Fecha: Octubre 2004 - Septiembre 2005.

Investigador Principal: Dra. Carmen Polo.

Resumen: Es frecuente indicar en la etiqueta de las botellas de vino la variedad de uva con la que se ha elaborado. Por otra parte, los Consejos Reguladores de las distintas Denominaciones de Origen, legislan sobre cuales son las variedades autorizadas o recomendadas en cada Denominación. Sin embargo, a pesar de esta situación tanto las distintas Administraciones como el propio sector que elabora y comercia con el vino, carece de las herramientas necesarias para avalar la identidad varietal de los vinos. Normalmente, el sistema que emplea la Administración para el control de las variedades

utilizadas para la elaboración es el envío de inspectores a las bodegas durante la época de la vendimia, siendo éste un procedimiento caro y poco eficaz.

La caracterización de las variedades de vid se está realizando a partir del análisis en extractos vegetales de marcadores moleculares basados en el ADN, pero es una técnica con la que no se está consiguiendo el éxito esperado en la caracterización varietal de los vinos.

El principal objetivo del Proyecto es explorar, con un enfoque multidisciplinar, las posibilidades de conocer la variedad de uva con la que se ha elaborado un vino a través del análisis del ADN. Será necesario realizar un seguimiento de los restos de ADN de vid en el mosto y en el vino a lo largo del proceso de fermentación, identificar un juego mínimo de marcadores moleculares, especialmente microsatélites del genoma nuclear o de los genomas de orgánulos subcelulares que permitan la identificación de las variedades comerciales españolas, desarrollar un procedimiento para la concentración de los restos de ADN de vid existentes en el vino comercial y poner a punto condiciones de extracción y purificación de ADN para evitar la inhibición de la PCR por sustancias derivadas de la fermentación mediante ensayos piloto en experimentos de reconstrucción.

Esta etapa de exploración se plantea con una duración de un año, transcurrido el cual y si se obtienen resultados positivos, se continuará trabajando en esta línea en los próximos años solicitando financiación a convocatorias autonómicas, nacionales o internacionales.

PROYECTOS FINANCIADOS POR EL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGRARIA Y ALIMENTARIA (INIA)

Título: “Capacidad antioxidante y composición fenólica en mieles españolas”.

Referencia: CAL01-066-C7-7.

Fecha: Diciembre 2001 - Julio 2005.

Investigador principal: Dra. M. Carmen Gómez-Cordovés.

Resumen: Establecer la composición fenólica no flavonoide de las mieles españolas para:

- su caracterización floral y variación que puedan experimentar anualmente.
- relación entre los compuestos estudiados en función de su estructura química (p.e. hidroxilados y guayacil).

Determinar la capacidad antioxidante de las mieles y su posible relación con:

- la flor y el lugar de procedencia.
- los compuestos fenólicos presentes.

Coordenadas cromáticas según CIELAB.

Título: “Marcadores fenólicos del envejecimiento de vinos tintos en barrica y por adición de virutas de roble”.

Referencia: VIN03-006-C2.

Fecha: Enero 2004 - Diciembre 2006.

Investigador principal: Dra. M. Carmen Gómez-Cordovés.

Resumen: El objetivo principal del proyecto es la distinción de los vinos obtenidos por medio de la vinificación y el envejecimiento posterior en barricas de roble, siguiendo los métodos tradicionales, y aquellos producidos por adición

de virutas de roble en dos momentos clave: durante la fermentación y durante el proceso de maduración posterior del vino terminado. Como marcadores diferenciadores se estudiarán los compuestos fenólicos de los vinos (pigmentos antociánicos, compuestos no pigmentados, y derivados de las reacciones de condensación entre ambos), así como las variables del color.

Título: “Caracterización bioquímica y molecular de una colección de bacterias lácticas aisladas de mostos y de vinos para la selección de cultivos iniciadores malolácticos adecuados”.

Referencia: RM03-002.

Fecha: Enero 2004 - Diciembre 2006.

Investigador principal: Dra. M. Rosario Muñoz.

Resumen: Se pretende caracterizar una colección de bacterias lácticas aisladas de vinos y de mostos. Esta caracterización se realizará mediante la utilización de pruebas bioquímicas y genéticas para marcadores enológicos importantes. Entre estos marcadores se incluyen: producción de aminas biógenas, producción de precursores de etil carbamato, degradación de taninos y producción de fenoles volátiles. Esta caracterización permitirá seleccionar cepas adecuadas para ser utilizadas como cultivos iniciadores.

Título: “Determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de mieles monoflorales españolas”.

Referencia: API03-013-C4-4.

Fecha: Septiembre 2004 - Agosto 2005.

Investigador principal: Dra. Carmen Gómez-Cordovés.

Resumen: En el desarrollo de este proyecto se determinará la composición fenólica (flavonoide y no flavonoide) de mieles españolas obtenidas a partir de Espliego, Lavandín, Tomillo, Castaño, Girasol y Viborera. Se evaluarán sus propiedades antioxidantes (actividad como captadora de radicales) y se establecerá su relación con la composición fenólica.

ACCIONES CONCERTADAS

Título: “Hitech Egg Cost Action. Investigación avanzada sobre huevos y ovoproductos”.

Referencia: Cost Action 923.

Organismo financiador: U.E.

Fecha: 2002 - 2006.

Investigadora responsable en España: Dra. Rosina López-Fandiño.

Título: “Thermally processed foods. Possible health implications”.

Referencia: COST Action 927.

Organismo Financiador: U.E.

Investigador responsable del IFI: Dra. Dolores del Castillo.

Fecha: 2004-2009.

ACCIONES INTEGRADAS

Título: “Transformaciones de compuestos con propiedades antioxidantes en alimentos de origen vegetal”.

Referencia: 2003PL0016.

Organismo financiador: MICYT/Academia de Ciencias de Polonia.

Fecha: 2003 - 2004.

Investigadores principales: Dra. M. Piskula, Dra. Concepción Vidal-Valverde (Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy Sciences. Olstzyn (Polonia) /CSIC).

Título: “Natural antioxidants: obtention by supercritical fluid extraction and analysis by capillary electrophoresis-mass spectrometry in organic media”.

Referencia: HU2002-0042.

Organismo financiador: MCYT/República de Austria.

Fecha: 2003 - 2004

Investigador Principal: Dr. Alejandro Cifuentes.

Título: “Study of protein-protein interactions by mass spectrometry”.

Referencia: EST000218-B2002HU01.

Fecha: 2003 - 2004.

Organismo financiador: MCYT/ Hungarian Academie of Sciences.

Investigador Principal: Dr. Alejandro Cifuentes.

Título: “Effect of the Maillard reaction on biofunctional properties of gluten”.

Referencia: HI20030340.

Organismo financiador: MCYT/República de Italia.

Fecha: 2003 - 2005.

Investigador Principal: Dra. M. Dolores del Castillo

PROYECTOS DE COOPERACIÓN CON IBEROAMÉRICA

Título: “Valorización de subproductos lácteos de interés industrial y para el diseño de alimentos para grupos vulnerables”.

Referencia: Proyecto XI-24.

Organismo financiador: Programa CYTED.

Fecha: 2004-2008.

Investigador responsable en el IFI: Dra. Isidra Recio.

COLABORACIÓN EN PROYECTOS DE OTROS CENTROS DE INVESTIGACIÓN

Título: “Nuevos indicadores de pardeamiento químico para el control de ingredientes, fórmulas y cereales infantiles, relaciones con el valor nutricional”.

Referencia: AGL2001-2977.

Organismo financiador: CICYT.

Fecha: Diciembre 2001- Diciembre 2004.
Investigador Principal: Eduardo Guerra (Universidad de Granada).
Investigador Responsable en el IFI: Dra. Nieves Corzo.

Título: “Desarrollo de estrategias para la mejora de la respuesta a estreses característicos del uso industrial de levaduras vínicas”.

Referencia: AGL2002-01109.

Organismo financiador: CICYT.

Fecha: Diciembre 2002- Diciembre 2005.

Investigador principal: Dr. Marcel.li del Olmo (Universidad de Valencia).

Investigadores Responsables en el IFI: Dr. Alfonso V. Carrascosa y Dra. Rosario Muñoz.

Título: “Ingeniería metabólica de microorganismos para la producción de aromas y enzimas liberadoras de aromas de interés en tecnología de alimentos”.

Referencia: AGL2002-01906.

Organismo financiador: CICYT.

Fecha: Diciembre 2002- Diciembre 2005.

Investigador principal: Dra. Margarita Orejas Suárez (Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC).

Investigador Responsable en el IFI: Dr. Ramón González.

Título: "Caracterización de carbohidratos".

Referencia: CAL01-066-C7-5.

Organismo financiador: INIA.

Fecha: Diciembre 2002 - Noviembre 2004.

Investigador Principal: Dra Isabel Martínez-Castro (Instituto de Química Orgánica General, CSIC).

Investigador Responsable en el IFI: Dr. Agustín Olano.

Título: “Evaluación de la actividad biológica de vinos tintos españoles y aislamiento biodirigido de sus principios activos”.

Subproyecto 1. “Purificación y caracterización de compuestos fenólicos en vinos tintos españoles por técnicas instrumentales de alta resolución”.

Referencia: VIN03-009-C2-1.

Organismo financiador: INIA. Programa Nacional de Alimentación

Fecha: Noviembre 2002 - Noviembre 2005.

Investigador Principal: Dra. Emilia Carretero Accame. Facultad de Farmacia (UCM). Subproyecto 1: Dr. Marín Prodanov Prodanov. IMIDRA. Madrid

Investigadores Responsables en el IFI: Dra. Teresa Hernández y Dra. Isabel Estrella.

Título: “Desarrollo de nueva metodología para la detección de adulteraciones en mieles”.

Referencia: API03-007.

Organismo financiador: INIA.

Fecha: Octubre 2004 - Septiembre 2007.

Investigador principal: Dra. Isabel Martínez-Castro (Instituto de Química Orgánica General, CSIC).

Investigador Responsable en el IFI: Dra. Nieves Corzo.

Título: “Aprovechamiento del suero lácteo mediante biocatalizadores con la beta-galactosidasa termoresistente de *Thermus* sp. T2”.

Referencia: 07G/0027/2003.

Organismo financiador: Comunidad de Madrid.

Fecha: Octubre 2003 - Septiembre 2004.

Investigador Principal: Dr. José Manuel Guisán.

Investigador Responsable en el IFI: Dr. Alfonso Carrascosa.

Título: “Vectores virales y no virales en terapia génica. Aplicación de sistemas poliméricos inteligentes para la formación de complejos de baja toxicidad”.

Referencia: 200460F0290.

Organismo financiador: C.S.I.C.

Fecha: Octubre 2004 - Septiembre 2005.

Investigador Principal: Dr. Julio Sanromán (Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, CSIC).

Investigador Pricipal Subproyecto en el IFI: Dr. Alejandro Cifuentes.

Referencia: 200470F0292.

Título: “Desarrollo de microsistemas de carburo de silicio para aplicaciones biomédicas y de seguridad alimentaria”.

Referencia: 200450F0220.

Organismo financiador: C.S.I.C.

Fecha: Octubre 2004 - Septiembre 2005.

Investigador Principal: José Millán (Instituto de Microelectrónica) C.S.I.C.

Investigador Pricipal Subproyecto en el IFI: Dr. Ramón González.

Referencia: 200470F0224.

INVESTIGACIÓN CONTRATADA

- **BODEGAS BERONIA, S.A.**
Investigador Responsable: Dra. M.V. Moreno-Arribas.
Diciembre 2002 - Diciembre 2004.
- **GABARBIDE, S.A.**
Investigador Responsable: Dra. M.V. Moreno-Arribas.
Diciembre 2002 - Diciembre 2004.
- **BODEGAS FAUSTINO, S.L.**
Investigador Responsable: Dra. M.V. Moreno-Arribas.
Enero 2003 - Enero 2005.
- **COOPERATIVA PROVINCIAL AGRARIA Y GANADERA “SAN ISIDRO”, S.C.A.**
Investigador Responsable: Dr. G. Santa María
Marzo 2003 - Marzo 2004.
- **TOMSA DESTIL, S.L.**
Investigador Responsable: Dr. A.V. Carrascosa.
Marzo 2003 - Marzo 2004.
- **DANSTAR FERMENT AG (filial de Lallemand Inc.)**
Investigadores Responsables: Dr. A.V. Carrascosa y Dr. R. González.
Marzo 2003 - Abril 2004.
- **GRUPO FRIAL**
Investigador Responsable: Dr. G. Reglero (Universidad Autónoma de Madrid).
Investigadores que participan del IFI: Dr. A. Cifuentes, y Dra. E. Ibáñez.
Mayo 2003 - Enero 2006.
- **INIA**
Investigador Responsable: Dra. T. Hernández.
Noviembre 2004 - Diciembre 2006.
- **GENOSA I + D, S.A**
Investigador Responsable: Dra. C. Gómez-Cordovés.
Noviembre - Diciembre 2004.

INFORMES TÉCNICOS

Solicitante: Instituto de Productos Lácteos (CSIC)

Investigador: Dr. A. Olano

Fecha: Febrero 2004

Solicitante: GENOSA I+D.

Investigador: Dra. M.C. Gómez-Cordovés

Fecha: Febrero 2004

Solicitante: Furfural Español, S.A.

Investigador: Dra. M.C. Gómez-Cordovés.

Fecha: Abril 2004.

Solicitante: GENOSA I+D.

Investigador: Dra. M.C. Gómez-Cordovés.

Fecha: Junio 2004.

Solicitante: Moleva, S.A.

Investigadores: Dra. M.T. Hernández y Dra. I. Estrella.

Fecha: Noviembre 2004.

PUBLICACIONES

Publicaciones en Revistas

ABIAN, O., GRAZÚ, V., HERMOSO, J., GONZÁLEZ, R., GARCÍA, J.L., FERNÁNDEZ-LAFUENTE, R., GUISÁN, J.M.

“Stabilization of penicillin G acylase from *Eschericia coli*: site-directed mutagenesis of the protein surface to increase multipoint covalent attachment”.

Appl. Environ. Microbiol. (2004) **70** 1249-1251.

Abstract: Three mutations on the penicillin acylase surface (increasing the number of Lys in a defined area) were performed. They did not alter the enzyme's stability and kinetic properties; however, after immobilization on glyoxyl-agarose, the mutant enzyme showed improved stability under all tested conditions (e.g., pH 2.5 at 4°C, pH 5 at 60°C, pH 7 at 55°C, or 60% dimethylformamide), with stabilization factors ranging from 4 to 11 compared with the native enzyme immobilized on glyoxyl-agarose.

ALARCÓN, B., GARCÍA-CAÑAS, V., CIFUENTES, A., GONZÁLEZ, R., AZNAR, R.

“Simultaneous and sensitive detection of three foodborne pathogens by multiplex PCR, capillary gel electrophoresis, and laser-induced fluorescence”.

J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 7180-7186.

Abstract: The simultaneous detection of *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* spp. has been approached by a new multiplex PCR-based procedure followed by capillary gel electrophoresis with laser-induced fluorescence detection (multiplex-PCR-CGE-LIF). As compared to slab gel electrophoresis, the use of CGE-LIF improved from 10- to 1000-fold the sensitivity of the multiplex PCR analysis, allowing the detection of 2.6×10^3 cfu mL⁻¹ of *S. aureus*, 570 cfu mL⁻¹ of *L. monocytogenes*, and 790 cfu mL⁻¹ of *Salmonella* in artificially inoculated food, without enrichment. Following 6 h of enrichment, as low as 260, 79, and 57 cfu mL⁻¹ of *S. aureus*, *L. monocytogenes*, and *Salmonella*, respectively, were detected. The CGE-LIF method is shown to be reproducible, providing relative standard deviation (RSD) values lower than 0.8% for analysis time and lower than 5.8% for peak areas. The multiplex-PCR-CGE-LIF proved a powerful analytical tool to detect various food pathogens simultaneously in a fast, reproducible, and sensitive way.

ALBERTO, M.R., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., MANCA DE NADRA, M.C.

“Metabolism of gallic acid and catechin by *Lactobacillus hilgardii* from wine”.

J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 6465-6469.

Abstract: The ability of *Lactobacillus hilgardii* 5w to metabolize gallic acid and catechin was evaluated. It was grown in a complex medium containing gallic acid or catechin. The metabolites were analyzed by high-performance liquid chromatography and identified by comparing the retention times and spectral data with the Standards of a database. In gallic acid-grown cultures, gallic acid, pyrogallol, catechol, protocatechuic

acid, ρ -hydroxybenzoic acid, ρ -hydroxybenzaldehyde, and ρ -hydroxybenzyl alcohol were detected. In catechin-grown cultures, catechin, gallic acid, Pyrogallol, catechol, ρ -hydroxybenzoic acid, acetovanillone, and homovanillic acid were detected. This work presents evidence of gallic acid and catechin degradation by *L. hilgardii* from wine.

BARTOLOMÉ, B.

“Importancia de los antioxidantes en la prevención de enfermedades crónicas”.
Revista de Nutrición Práctica (2004) (abril) 1-4.

Resumen: Podemos definir un compuesto antioxidante como aquel que presente en baja concentración con respecto a un sustrato oxidable, retrasa o inhibe la oxidación de dicho sustrato. A nivel fisiológico, los sustratos oxidables son lípidos, proteínas y ADN, y los antioxidantes pueden ser de origen endógeno o exógeno (dieta). Entre los antioxidantes más importantes presentes en los alimentos citamos las vitaminas C y E, los carotenoides y los compuestos fenólicos. La actividad antioxidante (acción biológica) de estos compuestos se ha demostrado ampliamente en sistemas *in vitro*, pero lo verdaderamente importante es confirmar su importancia/efecto fisiológico en humanos y si efectivamente contribuyen a la prevención de enfermedades crónicas. Diversos estudios epidemiológicos parecen asociar niveles altos de antioxidantes en la ingesta y/o altas concentraciones de antioxidantes en plasma con una menor incidencia de enfermedades crónicas. Sin embargo, los estudios de intervención /suplementación con antioxidantes llevados a cabo hasta ahora, arrojan en muchos casos resultados contradictorios, lo que se explica, en parte, por otros factores difíciles de controlar (población, dosis, duración del estudio, marcador fisiológico, etc). En cualquier caso, no se puede hablar de efectos fisiológicos de los antioxidantes en general, sino de cada tipo de antioxidantes, e incluso de cada compuesto (estructura química) en particular. En este trabajo se resumen los resultados más importantes de los estudios epidemiológicos y de suplementación de estos antioxidantes en relación con diversas patologías crónicas.

BARTOLOMÉ, B., NUÑEZ, V., MONAGAS, M., GÓMEZ-CORDOVÉS, C.

“In vitro antioxidant activity of red grape skins”.
Eur. Food Res. Technol. (2004) **218** 173-177.

Abstract: Phenolic antioxidants seem to be partly responsible for the protective effects against cardiovascular diseases attributed to moderate wine consumption. Grape skins greatly contribute to the phenolic composition of red wine. In this paper, the in vitro antioxidant activity of red grape (*Vitis vinifera*) skins is determined. We show that the radical scavenging activity (C 50 values) against 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH') of grape skin extracts is relatively high (3.2-11.1 mg dried skin/mg DPPH') in relation to other foodstuffs and, as expected, is influenced by grape variety, stage of grape ripening and vintage. The antioxidant potential of grape skins seems to be transferred into wine since grape varieties with skins exhibiting high antioxidant potential also resulted in wines with high antioxidant activity. Statistically significant correlations

were found between antioxidant activity and phenolic content (total polyphenols, proanthocyanins, catechins and anthocyanins) for both grape skins and wines.

BERKHOUT, B., FLORIS, R., RECIO, I., VISSER, S.

“The antiviral activity of the milk protein lactoferrin against the human immunodeficiency virus type 1”.
BioMetals (2004) **17** 291-294.

Abstract: Milk forms a rich source of biologically interesting components and the protein fraction is known to facilitate many different biological functions. In this manuscript, we review the antiviral properties of the milk protein lactoferrin (LF). In particular, we will describe its antiviral activity against the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1).

BERZAS, J.J., GARCÍA, L.F., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., RODRÍGUEZ, R.C.

“Quality assessment and chemometric evaluation of a fluvio-lacustrine system: Ruidera Pools Natural Park (SPAIN)”.
Water Air Soil Poll. (2004) **155** 269-289.

Abstract: A systematic hydrochemical study of the endangered Ruidera Pools Natural Park (Central Spain) has been carried out. An alarming pollution state of the water, mainly caused by nitrate, was stated with values up to 62 mg L⁻¹ and 40% of all water samples showing nitrate concentrations higher than 50 mg L⁻¹. The groundwater was confirmed to be the origin of nitrate input into this hydrosystem. Multivariate statistical treatment of the analytical results for principal components, combined with hierarchical clustering of samples allowed us to describe the behaviour of this hydrosystem. From our findings, the pools can be classified in two main groups depending on the main source of the water input, which is either surface or groundwater. Simultaneously, a comprehensive study has been undertaken to achieve a characterization of sediments by analysing major components and heavy metal. From these analyses, no heavy metal pollution was found.

CAJA, M.M., BLANCH, G.P., HERRAIZ, M.

“Derivatization of chiral amino acids in supercritical carbon dioxide”.
Anal. Chem. (2004) **76** 736-741.

Abstract: A new method is proposed to perform the derivatization of chiral amino acids occurring in complex samples using supercritical carbon dioxide as both the reaction medium and the agent used to extract the obtained derivatives prior to accomplishing the subsequent enantiomeric chromatographic analysis. The derivatization step under supercritical conditions involves the esterification of the carboxyl group and the acylation of the amino group of the amino acids without using a catalyst. A Chirasil-L-Val capillary column enabled the separation of the D- and L-forms of the amino acids as their *N*(*O*)-pentafluoropropionyl 1-propyl esters. Relative standard deviation values obtained from the gas

chromatographic analysis for the derivatized amino acids ranged from 5 to 15%.

CAJA, M.M., BLANCH, G.P., HERRAIZ, M., RUIZ DEL CASTILLO, M.L.

“On-line reversed-phase liquid chromatography-gas chromatography coupled to mass spectrometry for enantiomeric analysis of chiral compounds in fruit beverages”.

J. Chromatogr. A. (2004) **1054** 81-85.

Abstract: A method based on the on-line coupling of reversed phase liquid chromatography with gas chromatography/mass spectrometry (RPLC-GCMS) for the chiral evaluation of characteristic constituents of fruit beverage aroma was investigated. The consideration of a variety of parameters involved in the transfer step allowed to achieve relative standard deviations ranging from 0.4 to 10% in most cases and detection limits from 0.2 to 2.5 mg/l. By applying the developed method to fruit beverages, racemic mixtures of ethyl 2-methylbutanoate and γ -nonalactone were found. This fact suggests the eventual addition of artificial aromas. The method proposed in the present work can be useful to assess reliably the authenticity of aqueous samples, such as fruit beverages.

CAVERO, S., REGLERO, G., IBÁÑEZ, E.

“Desarrollo de un método de análisis de contaminantes minoritarios en CO₂”.

CTA (2004) **25** 4-13.

Resumen: En el presente trabajo se ha desarrollado un método de análisis de contaminantes minoritarios volátiles (acetaldehído y benceno) en dióxido de carbono (CO₂) mediante preconcentración en trampa criogénica y adsorción en un polímero inerte (Tenax), con posterior desorción en un cromatógrafo de gases con detector de espectrometría de masas (GC-MS). Para ello se han determinado los volúmenes de purga y ruptura para la trampa adsorbente. Posteriormente se han analizado botellas comerciales de CO₂ de diferentes calidades tanto en fase gas como en fase líquida.

CEBOLLERO, E., GONZALEZ, R.

“Comparison of two alternative dominant selectable markers for wine yeast transformation”.

Appl. Environ. Microb. (2004) **70** 7018-7023.

Abstract: Genetic improvement of industrial yeast strains is restricted by the availability of selectable transformation markers. Antibiotic resistance markers have to be avoided for public health reasons, while auxotrophy markers are generally not useful for wine yeast strain transformation because most industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains are prototrophic. For this work, we performed a comparative study of the usefulness of two alternative dominant selectable markers in both episomic and centromeric plasmids. Even though the selection for sulfite resistance conferred by *FZF1-4* resulted in a larger number of transformants for a laboratory strain, the *p*-fluoro-DL-phenylalanine

resistance conferred by *ARO4-OPF* resulted in a more suitable selection marker for all industrial strains tested. Both episomic and centromeric constructions carrying this marker resulted in transformation frequencies close to or above 10^3 transformants per μg of DNA for the three wine yeast strains tested.

CIRUJANO, S., CAMARGO, J.A., GÓMEZ-CORDOVÉS, C.

“Feeding preference of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard) on living macrophytes in a Spanish wetland”.
J. Freshwater Ecol. (2004) **19** 219-226.

Abstract: We carried out field studies and laboratory experiments to investigate (1) the possible feeding preference of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii* on living macrophytes, and (2) the influence that such a feeding preference can cause on the distribution and abundance of *P. clarkii* in wetland systems. Field studies, at two sampling areas of the Spanish wetland Tablas de Daimiel National Park (TDNP), showed that *P. clarkii* had significantly higher mean values of density and biomass at S-2 (with *Chara hispida* as the dominant macrophyte) than at S-1 (with *Ceratophyllum submersum* as the dominant macrophyte). Laboratory experiments showed that *P. clarkii* had a significant feeding preference for *C. hispida* versus *C. submersum*. Analyses of the biochemical composition of each macrophyte species showed that the unpreferred macrophyte (*C. submersum*) had higher amounts (per unit of biomass) of total protein, nitrogen, phosphorus, sodium, potassium, magnesium and phenolic compounds than the preferred macrophyte (*C. hispida*). By contrast, *C. hispida* had more calcium per unit of biomass than *C. submersum*. Overall, we conclude that the presence of higher amounts of phenolic compounds in *C. submersum* might be the foremost factor responsible for the observed feeding preference of *P. clarkii* on living macrophytes in TDNP.

CREGO, A.L., IBÁÑEZ, E., GARCÍA, E., RODRÍGUEZ DE PABLOS, R., SEÑORÁNS, F.J., REGLERO, G., CIFUENTES, A.

“Capillary electrophoresis separation of rosemary antioxidants from subcritical water extracts”.
Eur. Food Res. Technol. (2004) **219** 549-555.

Abstract: In this work, the possibilities of the combined use of subcritical water extraction (SWE) and capillary electrophoresis (CE) are established through the separation of antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). A new CE method is developed that allows the separation of different antioxidants found in the SWE fractions. The CE method is reproducible, efficient and fast, allowing the analysis of complex rosemary extracts in less than 16 min. The CE method is compared with a published reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) procedure, both using diode-array detection. The main advantages of CE compared with HPLC are its higher resolving power and its different selectivity, which is demonstrated to be useful for the detection of some very polar compounds that cannot be analyzed by RP-HPLC. Moreover, the possibilities of the CE approach for following the degradation of

antioxidants is also demonstrated. To our knowledge, this is the first work showing the high potential of the combined use of SWE and CE.

DÁVALOS, A., BARTOLOMÉ, B., GÓMEZ-CORDOVÉS, C.

“Inhibition of methyl linoleate autoxidation by phenolics and other related compounds under mild oxidative conditions”.

J. Sci. Food Agric. (2004) **84** 631-638.

Abstract: Methyl linoleate (MeLo) is a commercially available substrate widely used for studying the inhibitory properties of pure compounds and plant extracts against lipid oxidation. In this paper, 13 phenolic (benzoic and cinnamic acids, aldehydes and derivatives, and flavonoids) and other related compounds (BHA, BHT and tocopherols), as well as complex mixtures rich in phenolics (wines) and in tocopherols (soybean oil extracts) were assayed for their inhibitory activity against MeLo autoxidation under mild conditions (40° C, darkness and atmospheric pressure). Samples were also assayed for their free radical scavenging capacity against 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]). Protocatechuic aldehyde, a compound that has not been previously evaluated by any of the two methods, showed the highest antioxidant activity. Some variations in the antioxidant ranking for some compounds were found between our results and those obtained by other authors using accelerated conditions for MeLo oxidation. Antioxidant activity of wines and soybean oil extracts was related to their richness in phenolics and tocopherols, respectively. Correlation between antioxidant capacity measured by the MeLo and by the DPPH[•] methods was found for wines, but not for the other samples studied. Therefore, the measure of the free radical scavenging capacity of a compound is not always a reliable indicator of its lipid oxidation inhibitory ability.

DÁVALOS, A., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., BARTOLOMÉ, B.

“Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay”.

J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 48-54.

Abstract: The ORAC-fluorescein (ORAC-FL) method recently validated using automatic liquid handling systems has now been adapted to manual handling and using a conventional fluorescence microplate reader. As calculated for Trolox, the precision of the method was <3.0, expressed as percent coefficient of variation. The accuracy of the method was <2.3, expressed as percent variation of the mean. The detection and quantification limits were those corresponding to 0.5- and 1- μ M Trolox standard solutions, respectively. The method has been applied to 10 pure compounds (benzoic and cinnamic acids and aldehydes, flavonoids, and butylated hydroxyanisole), to 30 white, rose, and bottled- and oak-aged red wines, and to 7 commercial dietary antioxidant supplements. All samples exhibited a good linear response with concentration. As seen by other methodologies, the chemical structure of a compound determines its antioxidant activity (ORAC-FL value). Of particular interest were the results with oak-aged red wines from different vintages (1989-2002) that confirm influence of vintage, but not origin of the oak, in the antioxidant activity of

wines from the same variety. Dietary antioxidant supplements presented a great variability (170-fold difference) in their antioxidant potency. This work proves applicability of the ORAC-FL assay in evaluating the antioxidant activity of diverse food samples.

DÁVALOS, A., MIGUEL, M., BARTOLOMÉ, B., LÓPEZ-FANDIÑO, R.

“Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis”.

J. Food Protect. (2004) **67** 1939-1944.

Abstract: This work reports the antioxidant activity of peptides produced by enzymatic hydrolysis of crude egg white with pepsin. Four peptides included in the protein sequence of ovalbumin possessed radical scavenging activity higher than that of Trolox. The hydrolysate of egg white with pepsin for 3 h was previously found to exhibit a strong angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity in vitro. The combined antioxidant and ACE inhibition properties make it a very useful multifunctional preparation for the control of cardiovascular diseases, particularly hypertension. No correlation was found between antioxidant and ACE inhibitory activities. However, the peptide Tyr-Ala-Glu-Glu-Arg-Tyr-Pro-Ile-Leu, which was a strong ACE inhibitor (50% inhibitory concentration, 4.7 μM) also exhibited a high radical scavenging activity (oxygen radical absorbance capacity-fluorescein value, 3.8 μmol of Trolox equivalent per μmol of peptide) and delayed the low-density lipoprotein lipid oxidation induced by Cu^{2+} at a concentration of ~ 0.16 mg/mg of low-density lipoprotein. Present results support that antioxidant peptides and amino acids not only act individually, but also cooperatively and synergistically.

DE LA FUENTE, M.A., BELLOQUE, J., JUÁREZ, M.

“Mineral contents and distribution between the soluble and the micellar phases in calcium-enriched UHT milks”.

J. Sci. Food Agric. (2004) **84** 1708-1714.

Abstract: A study concerning the content of mineral elements (calcium, magnesium, sodium, potassium and phosphorus) and the distribution between the soluble and the micellar phases has been carried out on mineral -mainly calcium- enriched UHT milks. Total calcium contents were 1371-1793 mg l^{-1} in the 10 brands examined. Percentages of calcium in the soluble phase varied from 23.6 to 37.2%, whereas ionic calcium concentrations found were within a very wide range (44-91 mg l^{-1}). The different forms of phosphorus were studied by ^{31}P -NMR. Spectra indicated that the majority of the brands employed polyphosphates as stabilizers. Ingredients used to fortify these products consisted of dairy fractions and calcium salts. The modifications in salt balance as consequence of these practices are discussed.

DE LAS RIVAS, B, MARCOBAL, A., MUÑOZ, R.

“Allelic diversity and population structure in *Oenococcus oeni* as determined from sequence analysis of housekeeping genes”.

Abstract: *Oenococcus oeni* is the organism of choice for promoting malolactic fermentation in wine. The population biology of *O. oeni* is poorly understood and remains unclear. For a better understanding of the mode of genetic variation within this species, we investigated by using multilocus sequence typing (MLST) with the *gyrB*, *pgm*, *ddl*, *recP*, and *mleA* genes the genetic diversity and genetic relationships among 18 *O. oeni* strains isolated in various years from wines of the United States, France, Germany, Spain, and Italy. These strains have also been characterized by ribotyping and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis of the PCR amplified 16S-23S rRNA gene intergenic spacer region (ISR). Ribotyping grouped the strains into two groups; however, the RFLP analysis of the ISRs showed no differences in the strains analyzed. In contrast, MLST in oenococci had a good discriminatory ability, and we have found a higher genetic diversity than indicated by ribotyping analysis. All sequence types were represented by a single strain, and all the strains could be distinguished from each other because they had unique combinations of alleles. Strains assumed to be identical showed the same sequence type. Phylogenetic analyses indicated a panmictic population structure in *O. oeni*. Sequences were analyzed for evidence of recombination by split decomposition analysis and analysis of clustered polymorphisms. All results indicated that recombination plays a major role in creating the genetic heterogeneity of *O. oeni*. A low standardized index of association value indicated that the *O. oeni* genes analyzed are close to linkage equilibrium. This study constitutes the first step in the development of an MLST method for *O. oeni* and the first example of the application of MLST to a nonpathogenic food production bacteria.

DE LAS RIVAS, B., MARCOBAL, A., MUÑOZ, R.

“Complete nucleotide sequence and structural organization of pPB1, a small *Lactobacillus plantarum* cryptic plasmid that originated by modular exchange”. Plasmid (2004) **52** 203-211.

Abstract: A small cryptic plasmid designated pPB1 was isolated from *Lactobacillus plantarum* BIFI-38 and its complete 2899 bp nucleotide sequence was determined. Sequence analysis revealed four putative open reading frames. Based on sequence analysis two modules could be identified. First, the replication module consisted of a sequence coding for a replication protein (RepB) and its corresponding target site, and two putative repressor proteins (RepA and RepC). Sequence analysis indicated the possible synthesis of an antisense RNA that might regulate RepB production. A putative lagging strand initiation site was also found, suggesting that pPB1 replicates via a rolling circle mechanism. The second module of pPB1 consisted of a sequence coding for a putative mobilization protein and its corresponding *oriT* site. Since the nucleotide sequence of the replication module showed 94.5% identity to the similar region on the *Leuconostoc lactis* plasmid pCI411, and the nucleotide sequence of the mobilization module had 97.5% identity to *L. plantarum* plasmid pLB4, it is concluded that pPB1 originated by modular exchange

between two such plasmids by homologous recombination. Putative recombination sites where crossover might have taken place were also identified.

DUEÑAS, M., ESTRELLA, I., HERNÁNDEZ, T.

“Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.)”.

Eur. Food Res. Technol. (2004) **219** 116-123.

Abstract: This work determined the phenolic composition of the seed coat and the cotyledon of two varieties of dark peas (*Pisum sativum* L), Fidelia and ZP-840, by HPLC-PAD and HPLC-MS. High concentrations of glycosides of quercetin, luteolin and apigenin were found in the seed coat of both varieties of peas. Minor concentrations of monomers and dimers of proanthocyanidins were identified. The cotyledon mainly contains hydroxybenzoic and hydroxycinnamic compounds and some of the flavone and flavonol glycosides found in the seed coat. Two conjugated compounds with malic acid, *trans p*-coumaroyl-malic acid and *p*-hydroxybenzoyl-malic acid were identified in the cotyledon and in the seed coat, and the stilbene *trans*-resveratrol-3-glucoside, only in the seed coat. These compounds had not been previously reported in peas. The results obtained allow an overview of the distribution of the phenolic compounds in the seeds of these varieties of peas, and contribute to the knowledge of the implications of these compounds in the dietary intake.

ESTRELLA, I.

“Compuestos fenólicos y sus propiedades antioxidantes”.

Yogur Vivo (2004) (18) 10-14.

Resumen: Un antioxidante es una sustancia que, estando presente en concentraciones relativamente bajas en relación con el sustrato oxidable, puede ralentizar o evitar la oxidación del sustrato.

ESTRELLA, I.

“Compuestos fenólicos y sus propiedades antioxidantes”.

ILE (2004) (309) 59-62.

ESTRELLA, I.

“Polifenoles y sus propiedades antioxidantes”.

<http://www.informacionconsumidor.com>

Fundación de la Industria de la Alimentación y bebidas. Abril 2004. Artículo cod. 918.

GARCÍA, I., GONZALEZ, R., GÓMEZ, D., SCAZZOCCHIO, C.

“Chromatin rearrangements in the *prnD-prnB* bidirectional promoter: Dependence on transcription factors”.

Eukaryot Cell. (2004) **3** 144-156.

Abstract: The *prnD-prnB* intergenic region regulates the divergent transcription of the genes encoding proline oxidase and the major proline

transporter. Eight nucleosomes are positioned in this region. Upon induction, the positioning of these nucleosomes is lost. This process depends on the specific transcriptional activator PrnA but not on the general GATA factor AreA. Induction of *prnB* but not *prnD* can be elicited by amino acid starvation. A specific nucleosomal pattern in the *prnB* proximal region is associated with this process. Under conditions of induction by proline, metabolite repression depends on the presence of both repressing carbon (glucose) and nitrogen (ammonium) sources. Under these repressing conditions, partial nucleosomal positioning is observed. This depends on the CreA repressor's binding to two specific *cis*-acting sites. Three conditions (induction by the defective PrnA80 protein, induction by amino acid starvation, and induction in the presence of an activated CreA) result in similar low transcriptional activation. Each results in a different nucleosome pattern, which argues strongly for a specific effect of each signal on nucleosome positioning. Experiments with trichostatin A suggest that both default nucleosome positioning and partial positioning under induced-repressed conditions depend on deacetylated histones.

GARCÍA-BAÑOS, J.L., CORZO, N., SANZ, M.L., OLANO, A.

“Maltulose and furosine as indicators of quality of pasta products”.
Food Chem. (2004) **88** 35-38.

Abstract: Maltulose, an isomer of maltose, is detected for the first time in dried pasta samples. Variable amounts of this compound were observed in dried macaroni, noodle, spaghetti and vermicelli; however, fresh pasta samples had no maltulose content. These results could indicate that maltulose is formed during drying processes of pasta elaboration. Variations of maltulose in dried pasta samples (between 0 and 36.9 mg/100 g dry matter) could be due to the different conditions (time and temperature) applied during the drying process. Furosine contents of these samples were also determined. High values of furosine and maltulose in samples may be attributable to very high temperature processes (VHT-ST), whereas low values of furosine and absence of maltulose may indicate that samples were submitted to long processes at low temperatures (LT-LT). Low values of maltulose and high contents of furosine may correspond to low temperature treatments, followed by short time high temperature processes (HT-ST).

GARCÍA-CAÑAS, V., CIFUENTES, A., GONZÁLEZ, R.

“Detection of genetically modified organisms in foods by DNA amplification techniques”.
Crit. Rev. Food Sci. Nutrit. (2004) **44** 425-436.

Abstract: In this article, the different DNA amplification techniques that are being used for detecting genetically modified organisms (GMOs) in foods are examined. This study intends to provide an updated overview (including works published till June 2002) on the principal applications of such techniques together with their main advantages and drawbacks in GMO detection in foods. Some relevant facts on sampling, DNA isolation, and DNA amplification

methods are discussed. Moreover, these analytical protocols are discussed from a quantitative point of view, including the newest investigations on multiplex detection of GMOs in foods and validation of methods.

GARCÍA-CAÑAS, V., CIFUENTES, A., GONZÁLEZ, R.

“Quantitation of transgenic Bt Event-176 maize using double quantitative competitive polymerase chain reaction and capillary gel electrophoresis laser-induced fluorescence”.

Anal. Chem. (2004) **76** 2306-2313.

Abstract: In this work, a new procedure useful to quantitatively analyze genetically modified organisms (GMOs) in foods is described and applied to analyze transgenic Bt Event-176 maize. The method developed consists of co amplifications of specific DNA maize sequences with internal standards using quantitative competitive PCR (QC-PCR). The QC-PCR products are quantitatively analyzed using a capillary gel electrophoresis (CGE) with laser-induced fluorescence detection (LIF) method developed at our laboratory that utilizes a physically adsorbed coating. The CGE-LIF procedure allows the use of internal standards differing by only 10 bp from the original target fragments, to our knowledge, the smallest size difference that can be found in the bibliography for QC-PCR of GMOs. A spectrofluorometric procedure using ROX reference dye is proposed to solve calibration problems of input DNA concentration. It is demonstrated that the use of ROX drastically enhances the accuracy of the quantitative analysis by QC-PCR. Reproducibility of analysis times and corrected peak areas (measured as target/competitor PCR products ratio) for the CGE-LIF separations are determined to be better than 0.91 and 1.93% (RSD, $n = 15$) respectively, for three different days. It is shown that CGELIF provides better resolution and a signal/noise ratio improvement of ~700-fold compared to slab gel electrophoresis. The good possibilities in terms of quantitative analysis of GMOs provided by this new method are confirmed by determining the Bt Event-176 maize content in certified reference maize powder and food samples of known composition. This procedure opens the possibility for accurate quantitation of multiple GMOs in a single run.

GARCÍA-CAÑAS, V., GONZÁLEZ, R., CIFUENTES, A.

“Sensitive and simultaneous analysis of five transgenic maizes using multiplex polymerase chain reaction, capillary gel electrophoresis, and laser-induced fluorescence”.

Electrophoresis (2004) **25** 2219-2226.

Abstract: The benefits of using multiplex polymerase chain reaction (PCR) followed by capillary gel electrophoresis with laser-induced fluorescence (CGE-LIF) for the simultaneous detection of five transgenic maizes (Bt11, T25, MON810, GA21, and Bt176) are demonstrated. The method uses a hexaplex PCR protocol to amplify the five mentioned transgenic amplicons plus the zein gene used as reference, followed by a CGE-LIF method to analyze the six DNA fragments. CGE-LIF was demonstrated very useful and informative for optimizing multiplex PCR parameters such as time extension, PCR buffer concentration and primers concentration. The method developed is highly sensitive and allows the simultaneous detection in a single run of percentages

of transgenic maize as low as 0.054% of Bt11, 0.057% of T25, 0.036% of MON810, 0.064% of GA21, and 0.018% of Bt176 in flour obtaining signals still far from the detection limit (namely, the signal/noise ratios for the corresponding DNA peaks were 41, 124, 98, 250, 252, and 473, respectively). These percentages are well below the minimum threshold marked by the European Regulation for transgenic food labeling (*i.e.*, 0.5–0.9%). A study on the reproducibility of the multiplex PCR-CGE-LIF procedure was also performed. Thus, values of RSD lower than 0.67 and 6.80% were obtained for migration times and corrected peak areas, respectively, for the same sample and three different days ($n = 12$). On the other hand, the reproducibility of the whole procedure, including four different multiplex PCR amplifications, was determined to be better than 0.66 and 23.3% for migration times and corrected peak areas, respectively. Agarose gel electrophoresis (AGE) and CGE-LIF were compared in terms of resolution and sensitivity for detecting PCR products, demonstrating that CGE-LIF can solve false positives induced by artifacts from the multiplex PCR reaction that could not be addressed by AGE. Moreover, CGE-LIF provides better resolution and sensitivity. To our knowledge, these results demonstrate for the first time that multiplex PCR-CGE-LIF is a solid alternative to determine multiple genetically modified organisms in maize flours in a single run.

GARCÍA-CAÑAS, V., GONZÁLEZ, R., CIFUENTES, A.

“The combined use of molecular techniques and capillary electrophoresis in food analysis”.

Trend. Anal. Chem. (2004) **23** 637-643.

Abstract: We review the combined use of molecular techniques and capillary electrophoresis (CE) in food analysis. We present an up-to-date overview (including works published up to January 2004) and discuss the advantages and the drawbacks of these combined techniques. The main applications of molecular techniques in conjunction with CE in food analysis include: (i) species identification; (ii) microbiological and toxicological analysis; and (iii) detection of transgenic foods. We also outline the future outlook for this analytical methodology in food science.

GARCÍA-CAÑAS, V., MACIÁN, M.C., CHENOLL, E., AZNAR, R., GONZÁLEZ, R., CIFUENTES, A.

“Detection and differentiation of several food-spoilage lactic acid bacteria by multiplex polymerase chain reaction, capillary gel electrophoresis, and laser-induced fluorescence”.

J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 5583-5587.

Abstract: In this work, a complete analytical procedure is investigated to differentiate several food-spoilage lactic acid bacteria. To do that, a method involving multiplex Polymerase Chain Reaction (PCR), capillary gel electrophoresis (CGE), and laser-induced fluorescence (LIF) is developed. The PCRCGE-LIF protocol allows the simultaneous detection and differentiation of the genera *Leuconostoc* and *Carnobacterium*, the nonmotile group of species within the genus *Carnobacterium*, and the three species of the group individually (*C. divergens*, *C. gallinarum*, and *C.*

maltaromicum). The capability of this approach is clearly illustrated through the sensitive and efficient analysis of the two closest amplicons, with sizes equal to 397 and 412 bp, showing very different yields in all of the amplification reactions tested. These two fragments, which could not be resolved by agarose gel electrophoresis (AGE), are clearly distinguishable by CGE-LIF even when very different areas for both peaks are obtained. The PCR-CGE-LIF method also allows the sensitive detection of these bacteria, demonstrating both a significant resolution improvement compared with traditional AGE and the usefulness of this approach to solve real-life analytical challenges. Good reproducibility of the CGE-LIF procedure is shown for the analysis of multiplex PCR samples with percent relative standard deviation values for migration times and corrected peak areas as low as 0.80 and 6.50 for the same sample and three different days (n=12), respectively.

GÓMEZ-CORONADO, D.J.M., IBÁÑEZ, E., RUPÉREZ, F. J., BARBAS, C.

“Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin”.

J. Chromatogr. A. (2004) **1054** 227-233.

Abstract: Since natural antioxidants present increasing interest for food industry due to their beneficial effect on health, new potential sources have been screened among edible aromatic plants and a microalgae, *Spirulina platensis*. The determination was performed after optimising a previously validated method, because important differences have been found among values described in literature for tocopherol content in products of vegetable origin. Values obtained ranged from 3.42 mg α -tocopherol/100 g of dill to 132.2 mg/100 g of fresh bay and from 0.14 mg γ -tocopherol/100 g of spearmint to 3.45 mg/100 g of parsley. In all cases results were calculated from fresh leaves. Preliminary experiments were developed with bay (*Laurus nobilis*) plant to devise the supercritical fluid extraction of tocopherols, generating environmentally friendly processes to selectively extract fractions enriched with antioxidant compounds while removing fractions corresponding to essential oils, that is, those that correspond to the characteristic aroma of the plants. Another striking result has been the tocopherol content in the microalgae, 1.3 mg α -tocopherol/100 g of dried commercial spirulina, which do not justify the supposed source of antioxidant vitamins. Results suggest the need of more reliable determinations of tocopherols in vegetable sources to be included in databases.

GÓMEZ-RUIZ, J.A., MIRALLES, B., AGÜERA, AMIGO, L.

“Quantitative determination of α_{S2} - and α_{S1} -casein in goat’s milk with different genotypes by capillary electrophoresis”.

J. Chromatogr. A. (2004) **1054** 279-284.

Abstract: A capillary electrophoresis (CE) method has been applied for the quantitative determination of α_{S1} - and α_{S2} -CN in goat’s milk. Several analytical parameters were evaluated showing the reliability of this CE method. Coefficients of determination (R^2) greater than 99% were obtained and determination limits of 1.23 and 0.98 mg/ml were achieved for α_{S1} -

and α_{S2} -CN, respectively. The analytical parameters studied in terms of accuracy, precision and recovery were within acceptable limits. Among 18 samples of 4 different genotypes (BB, EE, BF and FF) for α_{S1} -CN were analysed, different amounts were obtained from the genotypes.

GÓMEZ-RUIZ, J.A., RAMOS, M., RECIO, I.

“Angiotensin converting enzyme-inhibitory activity of peptides isolated from Manchego cheese. Stability under simulated gastrointestinal digestion”.
Int. Dairy J. (2004) **14** 1075-1080.

Abstract: In this study, several peptides, which had previously been identified in active HPLC fractions from Manchego cheese, were synthesised and their angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitory activities were measured. From 11 peptides, which were selected based on their structures, only two, VRYL and KKYNVPQL, showed considerable ACE-inhibitory activity with IC_{50} values of 24.1 and 77.1 μ m, respectively. Subsequently, the impact of the gastrointestinal digestion on ACE-inhibitory activity was evaluated. Some of the peptides selected were resistant to the incubation with pepsin followed by hydrolysis with a pancreatic extract. The ACE-inhibitory activity after simulated digestion did not change drastically except for peptide α_{S2} -CN f(195-204) (TQPKTNAIPY) that exhibited an activity 6 times greater after simulated digestion. In contrast, after simulated digestion, the activities of peptides VRYL and KKYNVPQL decreased. The peptides not hydrolysed by gastrointestinal enzymes and peptide VRYL, which was only partly hydrolysed, were incubated with ACE and were found to be true inhibitors of the enzyme and to have a competitive inhibition pattern.

GÓMEZ-RUIZ, J.A., RAMOS, M., RECIO, I.

“Identification and formation of angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides in Manchego cheese by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry”.
J. Chromatogr. A. (2004) **1054** 269-277.

Abstract: A total of 75 peptides included in the fraction with molecular mass below 3000 from an 8-month-old Manchego cheese could be identified using HPLC coupled *on line* to an ion trap mass spectrometer. Some previously described peptides with antihypertensive and/or angiotensin-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity were detected. The formation of five active sequences was followed during cheese ripening in four different batches of Manchego cheese. Two experimental batches of Manchego cheese elaborated with selected bacterial strains with the aim of improve the organoleptic characteristics demonstrated also a good performance in the formation of peptides with ACE-inhibitory activity during cheese ripening.

GÓMEZ-RUIZ, J.A., RECIO, I., BELLOQUE, J.

“ACE-inhibitory activity and structural properties of peptide Asp-Lys-Ile-His-Pro [β -CN f(47-51)]. Study of the peptide forms synthesized by different methods”.
J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 6315-6319.

Abstract: Some of the most potent ACE-inhibitory peptides described in food have a proline at the end of their sequence, a characteristic that can cause problems in the synthesis procedures. In this work, we studied two different preparations of peptide Asp-Lys-Ile-His-Pro (DKIHP), which were obtained by two different synthetic procedures (Boc and Fmoc). The peptide synthesized by the Boc method yielded a unique conformer, containing *trans*-Pro, and significant ACE-inhibitory activity ($IC_{50} = 113.18 \mu M$). The chromatographic and NMR data of this active conformer are reported. The peptide synthesized by Fmoc chemistry yielded three conformers, two of them containing *trans*-Pro and a third one containing *cis*-Pro, and showed a lower activity ($IC_{50} = 577.92 \mu M$). This was attributed to the presence of conformers with less (or none) activity. We have pointed out the importance of performing structural studies on these type of peptides before testing their ACE-inhibitory activity.

HERMOSO, J.A., SANZ-APARICIO, J., MOLINA, R., JUGE, N., GONZÁLEZ, R., FAULDS, C.B.

“The crystal structure of feruloyl esterase a from *Aspergillus niger* suggests evolutive functional convergence in feruloyl esterase family”.
J. Mol. Biol. (2004) **338** 495-506.

Abstract: As a component of the array of enzymes produced by microorganisms to deconstruct plant cell walls, feruloyl esterases hydrolyze phenolic groups involved in the cross-linking of arabinoxylan to other polymeric structures. This is important for opening the cell wall structure, making material more accessible to glycosyl hydrolases. Here, we describe the first crystal structure of the non-modular type-A feruloyl esterase from *Aspergillus niger* (AnFaeA) solved at 2.5 Å resolution. AnFaeA displays an α/β hydrolase fold similar to that found in fungal lipases and different from that reported for other feruloyl esterases. Crystallographic and site directed mutagenesis studies allow us to identify the catalytic triad (Ser133-His247-Asp194) that forms the catalytic machinery of this enzyme. The active-site cavity is confined by a lid (residues 68–80), on the analogy of lipases, and by a loop (residues 226–244) that confers plasticity to the substrate-binding site. The lid presents a high ratio of polar residues, which in addition to a unique N-glycosylation site stabilises the lid in an open conformation, conferring the esterase character to this enzyme. A putative model for bound 5,50-diferulic acid-linked arabinoxylan has been built, pointing to the more relevant residues involved in substrate recognition. Comparison with structurally related lipases reveals that subtle amino acid and conformational changes within a highly conserved protein fold may produce protein variants endowed with new enzymatic properties, while comparison with functionally related proteins points to a functional convergence after evolutionary divergence within the feruloyl esterases family.

HERNÁNDEZ-BORGES, J., FRÍAS-GARCÍA, S., CIFUENTES, A., RODRÍGUEZ-DELGADO, M.A.

“Pesticide analysis by capillary electrophoresis”.

J. Sep. Sci. (2004) **27** 947-963.

Abstract: In this work, a critical and updated revision of the current situation of the analysis of pesticides by Capillary Electrophoresis (CE) is presented. The review has been written in two main sections. The first one presents a thorough revision of the various off-line and on-line sample preconcentration procedures that have been used in conjunction with CE to analyze these compounds. The second part reviews the various detection strategies (i. e., UV, LIF, MS, and electrochemical) and CE modes that have been applied to the analysis of pesticides. Future trends that can be expected from this hot research area are also discussed.

HERNÁNDEZ-BORGES, J., NEUSÜß, C., CIFUENTES, A., PELZING, M.

“On-line capillary electrophoresis-mass spectrometry for the analysis of biomolecules”.

Electrophoresis (2004) **25** 2257-2281.

Abstract: Mass spectrometry (MS) has become a key tool for the characterization of biologically relevant molecules in the last decade. Due to the complexity of most biological samples an upstream separation is essential. Capillary electrophoresis (CE) has gained much interest due to its high separation efficiency, speed, and often complementary selectivity to liquid chromatography. We describe the state-of-the-art of on-line CE-MS for the analysis of molecules of biological origin. The characterization of peptides, including the study of post-translational modifications, intact proteins, oligonucleotides, and related interaction studies are reviewed. Relevant publications are summarized in tables, including some important method parameters. Key applications are discussed with respect to the advantages and limitations of CE-MS. Coupling interfaces, preconcentration techniques, capillary coatings, and the different CE techniques, e.g., capillary zone electrophoresis, capillary isoelectric focusing, capillary gel electrophoresis, etc. are briefly discussed against the background of their bioanalytical applications.

HERNÁNDEZ-BORGES, J., RODRÍGUEZ-DELGADO, M.A., GARCÍA-MONTELONGO, F.J., CIFUENTES, A.

“Highly sensitive analysis of multiple pesticides in foods combining solid-phase microextraction, capillary electrophoresis-mass spectrometry, and chemometrics”.

Electrophoresis (2004) **25** 2065-2076.

Abstract: A highly sensitive procedure to detect multiple pesticides at trace levels in foods is presented. Initially a comparative study between capillary electrophoresis (CE)-UV and CE-mass spectrometry (MS) is carried out analyzing five pesticides not studied up to now (pyrimethanil, pyrifenoxy, cyprodinil, cyromazine, and pirimicarb). The comparison between CE-UV and CE-MS is established in terms of separation efficiency, speed of analysis, reproducibility, and sensitivity. A good separation of these compounds is achieved by both techniques using a volatile aqueous buffer containing 0.3 M ammonium acetate/acetic acid at

pH 4. Time analysis reproducibility is studied for the same day ($n = 5$) and three different days ($n = 15$), showing no significant differences between CE-UV and CE-MS. The study on peak areas reproducibility shows a slightly worse reproducibility for CE-MS compared with CE-UV. The best limit of detection (LOD) that can be achieved for these pesticides using CE-UV was 0.6 mg/mL. CEMS provides LODs one order of magnitude better than CE-UV. Chemometrics are used to optimize the multiple parameters that play a role in solid-phase microextraction (SPME) and CE-MS analysis (e.g., extraction and desorption times, nebulizer pressure, dry gas flow, dry gas temperature, percentage of organic solvent and acid in the sheath liquid, etc.). The combined use of chemometrics and SPME-CE-MS clearly improves the LODs that can be achieved allowing the detection of pesticides at concentrations down to 15 ng/mL. The usefulness of this approach is demonstrated detecting multiple pesticides in different food samples as grapes and orange juice in a single run. The concentrations detected are below the maximum residue limits (MRLs) permitted for these pesticides in foods corroborating the value of our approach. This work demonstrates, to our knowledge for the first time, the good possibilities of the combined use of SPME-CE-MS and chemometrics.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B., AMIGO, L.

“La leche como fuente de antioxidantes naturales”.

Alim. Nutri. Salud (2004) **11** 61-65.

Resumen: Los procesos metabólicos oxidantes y las especies reactivas de oxígeno resultantes de dichos procesos son responsables de múltiples trastornos degenerativos del organismo, así como de diversas alteraciones nutritivas y sensoriales de los alimentos. En los últimos años se han buscado nuevas fuentes alimentarias de antioxidantes naturales, que ejerzan un efecto protector sobre el consumidor y que mejoren la calidad y aumenten la vida útil de los alimentos. La leche y los productos lácteos fermentados se han propuesto como fuente ideal de estos antioxidantes naturales. Se ha descrito el importante papel desempeñado por diversos constituyentes de la leche en la prevención de la peroxidación lipídica y en el mantenimiento de la calidad de la leche. El efecto antioxidante de las caseínas y de las proteínas de suero ha sido comprobado empleando distintos métodos de análisis. Sin embargo, pocos son los trabajos referidos a la actividad antioxidante de péptidos derivados de las proteínas lácteas por procesos de hidrólisis enzimática y/o fermentación microbiana.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B., AMIGO, L.

“Variedad quesera española. Un paseo, región a región, por nuestros mejores quesos”.

ILE (2004) (Anuario Lácteo) 67-88.

Resumen: España goza de una de las culturas queseras más importantes del mundo, si bien, hasta hace no más de veinte años, otros países, como Italia o Francia, han destacado en mayor medida que el nuestro. Sin embargo, nuestro país posee territorios bien diferenciados en sus

características climáticas y geográficas. Esta diversidad territorial, no superada por ningún otro país europeo, ha ido albergando, a lo largo de la historia, la vida de pueblos realmente diferentes, que al acomodarse a la tierra para sobrevivir han originado culturas muy diversas. Esta variedad de culturas también ha quedado reflejada en la tradición quesera de los pueblos. Así, los procedimientos empleados en la elaboración del queso son distintos en los valles gallegos, asturianos o cántabros, preñados de interminables lluvias, a aquellos utilizados en los polvorientos desiertos almerienses. Estos quesos, por lo tanto, presentan características organolépticas claramente diferenciadas. Incluso, en las distintas regiones españolas, el vocablo queso se traduce de formas bien diferentes, así se habla de queso en Castilla, queso en Galicia, formatee en Cataluña, gasta en las Vascongadas o queso en Asturias. Es, por tanto, de esta complejidad, de donde nace parte de nuestra riqueza quesera, que nos pertenece por legado cultural, siendo nuestra responsabilidad conocerla, asumirla y proclamarla.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B., AMIGO, L., RAMOS, M., RECIO, I.

“Angiotensin converting enzyme inhibitory activity in commercial fermented products. Formation of peptides under simulated gastrointestinal digestion”.
J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 1504-1510.

Abstract: The angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitory activity of several commercial fermented milks was evaluated. Most of these products showed moderate inhibitory activity, but a few exceptions were detected. The high ACE-inhibitory activity found in some cases could be related to the origin of the milk. Two of these products were subjected to an enzymatic hydrolysis process, which simulates physiological digestion, to study the influence of digestion on ACE-inhibitory activity. The activity did not significantly change or increase during simulated gastrointestinal digestion. The peptides generated from one selected product during simulated digestion were sequenced by tandem spectrometry. Most peptides found at the end of the simulated digestion were released after 30 min of incubation with the pancreatic extract. This suggests that physiological digestion promotes the formation of active peptides from the proteins present in these fermented products. The potential ACE-inhibitory activity of the identified peptides is discussed with regard to their amino acid sequences.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B., AMIGO, L., RAMOS, M., RECIO, I.

“Release of angiotensin converting enzyme-inhibitory peptides by simulated gastrointestinal digestion of infant formulas”.
Int. Dairy J. (2004) **14** 889-898.

Abstract: The angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitory activity of several infant formulas was evaluated. Most of these products showed moderate inhibitory activity, but two exceptions that corresponded to an extensively hydrolysed whey formula and an extensively hydrolysed casein formula were detected. Two products (a non-hydrolysed milk protein-based formula and an extensively hydrolysed whey formula) were subjected to a

two-stage in vitro enzymatic procedure, which simulates physiological digestion, in order to study the impact of digestion on ACE-inhibitory activity. The ACE-inhibitory activity of the non-hydrolysed formula increased during simulated gastrointestinal digestion, while no significant change was observed in the activity of the hydrolysed whey formula prior to and after, digestion. The peptides generated from these two products during simulated physiological digestion were sequenced by tandem spectrometry. At the end of the digestion, most peptides found in the nonhydrolysed milk protein-based formula were formed during incubation with the pancreatic extract, but, in the hydrolysed whey formula, many peptides present in the undigested product survived simulated digestion. The potential ACE-inhibitory activity of these peptides is discussed with regard to their amino-acid sequences.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B., AMIGO, L., RAMOS, M., RECIO, I.

“Application of high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry to the identification of biologically active peptides produced by milk fermentation and simulated gastrointestinal digestion”.

J. Chromatogr. A. (2004) **1049** 107-114.

Abstract: Identification of biologically active peptides in food matrices is a challenging task in food technology. In the present study, we propose a strategy for the rapid identification of peptides in complex food fractions and targeting of potentially bioactive peptides according to previous studies of activity-structure relationship. A large number of peptides included in the M_r 3000 permeate of a fermented product and its hydrolysate (obtained by simulated gastrointestinal digestion) could be easily identified using HPLC coupled *on line* to an ion trap mass spectrometer. Three of the identified sequences have previously been described as angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors. The sequence of some peptides allowed us to anticipate the presence of ACE-inhibitory activity and several peptides were selected to initiate studies on antihypertensive, antioxidant and cytomodulatory activity.

HERRAIZ, T.

“Relative exposure to β -carbolines norharman and harman from foods and tobacco smoke”.

Food Addit. Contam. (2004) **21** 1041-1050.

Abstract: Norharman and harman are two heterocyclic β -carboline (9H-pyrido[3,4-b]indole) alkaloids with biological and potential toxicological activity that appear in foodstuffs and environmental sources. To assess the occurrence and distribution of these compounds and to estimate the exposure levels based on the detected amounts, numerous samples of foodstuffs and cigarette smoke were analysed by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence. The levels found of β -carbolines were highly variable. Low processed foodstuffs (i.e. milk, yoghurt, uncooked meats and fish) did not contain norharman and harman above the detection limit. Others, however, contained relatively high concentrations (at the tens of ng g^{-1} or $\mu\text{g l}^{-1}$ level) depending on the

processing conditions as, for example, 'well-done' cooked meat and fish. The highest amounts of norharman and harman were found in brewed coffee (29-207 $\mu\text{g l}^{-1}$), sauces (soy sauce and Tabasco, among others; 4-252 $\mu\text{g l}^{-1}$), 'well done' cooked meat and fish (57-160 ng g^{-1}), toasted bread (42-160 ng g^{-1}). and fermented alcoholic beverages (n.d.-41 $\mu\text{g l}^{-1}$). β -Carbolines also occurred in a high amount in the mainstream of cigarette smoke (207-2780 ng/cigarette), which is an important contributor to daily exposure to these compounds. Based on these results, it is concluded that the daily exposure to β -carbolines in humans might be from tens to hundreds of micrograms, with cigarette smoke, coffee, certain seasonings, cooked foods and alcoholic beverages, in this order, being the major contributors. Many other foodstuffs might also contribute with minor amounts of norharman and harman. Foods and tobacco smoke might be potential contributors to the reported endogenous presence of β -carbolines in humans.

HERRAIZ, T., GALISTEO, J.

"Endogenous and dietary indoles: A class of antioxidants and radical scavengers in the ABTS assay".
Free Radical Res. (2004) **38** 323-331.

Abstract: Indoles are very common in the body and diet and participate in many biochemical processes. A total of twenty-nine indoles and analogs were examined for their properties as antioxidants and radical scavengers against 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) $\text{ABTS}^{+\cdot}$ radical cation. With only a few exceptions, indoles reacted nonspecifically and quenched this radical at physiological pH affording ABTS. Indoleamines like tryptamine, serotonin and methoxytryptamine, neurohormones (melatonin), phytohormones (indoleacetic acid and indolepropionic acid), indoleamino acids like L-tryptophan and derivatives (N-acetyltryptophan, L-abrine, tryptophan ethyl ester), indolealcohols (tryptophol and indole-3-carbinol), short peptides containing tryptophan, and tetrahydro- β -carboline (pyridoindole) alkaloids like the pineal gland compound pinoline, acted as radical scavengers and antioxidants in an ABTS assay-measuring total antioxidant activity. Their trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) values ranged from 0.66 to 3.9 mM, usually higher than that for Trolox and ascorbic acid (1 mM). The highest antioxidant values were determined for melatonin, 5-hydroxytryptophan, trp-trp and 5-methoxytryptamine. Active indole compounds were consumed during the reaction with $\text{ABTS}^{+\cdot}$ and some tetrahydropyrido indoles (e.g. harmaline and 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid ethyl ester) afforded the corresponding fully aromatic β -carbolines (pyridoindoles), that did not scavenge $\text{ABTS}^{+\cdot}$. Radical scavenger activity of indoles against $\text{ABTS}^{+\cdot}$ was higher at physiological pH than at low pH. These results point out to structural compounds with an indole moiety as a class of radical scavengers and antioxidants. This activity could be of biological significance given the physiological concentrations and body distribution of some indoles.

HERRAIZ T., PAPAVERGOU, E.

“Identification and occurrence of tryptamine- and tryptophan-derived tetrahydro- β -carbolines in commercial sausages”.

J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 2652-2658.

Abstract: The identification and occurrence of tetrahydro- β -carbolines were studied in different kinds of commercial sausages including cooked, fresh, dry-fermented, and ripened sausages, such as salamis and Spanish chorizo, salchichón, fuet, and morcilla, both smoked and unsmoked. Four compounds were identified in several sausages by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS): 1,2,3,4-tetrahydro-, β -carboline-3-carboxylic acid (1), 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid diastereoisomers (2a,b), 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (3), and 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (4). The latter two (3 and 4) are now reported for the first time in meat products. The presence and occurrence of tetrahydro- β -carbolines were highly variable depending on each particular sample of sausage, and it did not follow a single specific pattern. The concentration range taken as a sum of the four carbolines varied from undetectable levels to 33 $\mu\text{g/g}$, with the highest content found in ripened, dry-fermented, and smoked sausages (salami, chorizo, and morcilla) and the lowest in cooked sausages (Frankfurt). Formation of tetrahydro- β -carbolines might occur during elaboration and the ripening process from a chemical condensation between tryptophan or tryptamine and aldehydes (formaldehyde and acetaldehyde). Smoked samples had higher concentrations of formaldehyde-derived 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid (1) and 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (tryptoline) (3) than those unsmoked. Also, 1 and 3 were more concentrated in the outer part of the sausage, likely to be in contact with smoke. It is concluded that some dryfermented and/or smoked sausages may be significant dietary sources of tetrahydro- β -carbolines.

HERRERO, M., CIFUENTES, A., IBÁÑEZ, E.

“Compuestos de interés alimentario, procedentes de plantas, extraídos mediante fluidos sub- y supercríticos”.

Alimentaria (2004) (355) 67-78.

Resumen: Hoy en día, los productos naturales son de gran importancia en la generación de nuevos ingredientes para la industria alimentaria. Estos ingredientes, además de cubrir las necesidades energéticas y nutritivas básicas, aportan un valor añadido en forma de algún beneficio para la salud constituyendo la base de los denominados alimentos funcionales. En la actualidad, la mayor fuente de productos naturales son las plantas. Desde el punto de vista de los procesos de obtención de estos nuevos ingredientes, cada vez se hace más necesario el desarrollo de nuevos métodos de extracción que permitan su aislamiento de una forma segura y medioambientalmente no agresiva, cobrando un gran interés la extracción con fluidos supercríticos (SFE) y la extracción con agua subcrítica (SWE). Estas técnicas presentan una serie de ventajas importantes sobre las técnicas tradicionales de extracción, y como se

muestra en esta revisión, han sido aplicadas satisfactoriamente en numerosas ocasiones para este fin.

HERRERO, M., IBÁÑEZ, E., SEÑORÁNS, J., CIFUENTES, A.

“Pressurized liquid extracts from *Spirulina platensis* microalga. Determination of their antioxidant activity and preliminary analysis by micellar electrokinetic chromatography”.

J. Chromatogr. A. (2004) **1047** 195-203.

Abstract: In this work, different extracts from the microalga *Spirulina platensis* are obtained using pressurized liquid extraction (PLE) and four different solvents (hexane, light petroleum, ethanol and water). Different extraction temperatures (115 and 170 C) were tested using extraction times ranging from 9 to 15 min. The antioxidant activity of the different extracts is determined by means of an in vitro assay using a free radical method. Moreover, a new and fast method is developed using micellar electrokinetic chromatography with diode array detection (MEKC-DAD) to provide a preliminary analysis on the composition of the extracts. This combined application (i.e., in vitro assays plus MEKC-DAD) allowed the fast characterization of the extracts based on their antioxidant activity and the UV-vis spectra of the different compounds found in the extracts. To our knowledge, this work shows for the first time the great possibilities of the combined use of PLE-in vitro assay-MEKC-DAD to investigate natural sources of antioxidants.

HIDALGO, P., PUEYO, E., POZO-BAYÓN, M.A., MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.J., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., POLO, M.C.

“Sensory and analytical study of rosé sparkling wines manufactured by second fermentation in the bottle”.

J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 6640-6645.

Abstract: The sensory and analytical characteristics of five rosé sparkling wines manufactured by the traditional method have been determined. Moreover, the changes that take place in the nitrogen and volatile fraction of the wines during the second fermentation and the aging with the yeasts have been studied. Each of these wines was made from a single industrial rosé base wine of the Garnacha Tinta variety, with five selected yeasts strains. The base wine had a low content in free amino acids, 16 mg/L, and the yeast consumed more peptides than free amino acids during second fermentation. From the application of the two-way analysis of variance, yeast strain, and aging time factors to the data of volatile compounds, it has been found that most of the differences between these sparkling wines are due to the aging time. It has been verified that these rose´ sparkling wines have foam of good quality and that the grape variety Garnacha Tinta is suitable for the production of rosé sparkling wines.

HURTADO-BENAVIDES, A.M., SEÑORÁNS, F.J., IBÁÑEZ, E., REGLERO; G.

“Countercurrent packed column supercritical CO₂ extraction of olive oil. Mass transfer evaluation”.

J. Supercrit. Fluid. (2004) **28** 29-35.

Abstract: Experiments to determine the number of transfer units (NTU) and height of a transfer unit (HTU) of different random packings such as Raschig rings, Dixon rings, Fenske rings and glass beads in a countercurrent (CC) supercritical fluid extraction (SFE) column of 17.6 mm I.D. and 1.8-m length at 20 MPa and 313 K, with olive oil and CO₂, were performed. The extracts were collected by means of two separators, the first one operated at 10 MPa and 313 K and the second at 3 MPa and 273 K. The performance of SFE was studied by analyzing the content of vitamin E and sterols in the raffinate and in the collected extracts by HPLC equipped with a photodiode array detector. The value of HTU and the NTU were evaluated for each random packing at solvent to feed ratios from 23.14 to 41.65 kg CO₂/kg oil. Fenske rings showed the best results in terms of efficiency and performance of the CC system for the SFE of olive oil.

IGLESIAS, M.T., DE LORENZO, C., POLO, M.C., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., PUEYO, E.

“Usefulness of amino acid composition to discriminate between honeydew and floral honeys. Application to honeys from a small geographic area”.
J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 84-89.

Abstract: With the aim of finding methods that could constitute a solid alternative to melissopalynological and physicochemical analyses to determine the botanical origin (floral or honeydew) of honeys, the free amino acid content of 46 honey samples has been determined. The honeys were collected in a small geographic area of ~2000 km² in central Spain. Twenty-seven honey samples were classified as floral and 19 as honeydew according to their palynological and physicochemical analyses. The resulting data have been subjected to different multivariate analysis techniques. One hundred percent of honey samples have been correctly classified into either the floral or the honeydew groups, according to their content in glutamic acid and tryptophan. It is concluded that free amino acids are good indicators of the botanical origin of honeys, saving time compared with more tedious analyses.

KUO, Y.H., ROZAN, P., LAMBEIN, F., FRIAS, J., VIDAL-VALVERDE, C.

“Effects of different germination conditions on the contents of free protein and non-protein amino acids of commercial legumes”.
Food Chem. (2004) **86** 537-545.

Abstract: Seeds of beans, lentils and peas were germinated for 2, 4 and 6 days, either under continuous light or continuous dark, and the free amino acids analysed by HPLC. The effects of germination on the free protein amino acids (FPA) and non-protein amino acids (FNPA) depended on the type of legumes and on the processing conditions. After germination of beans, histidine, glutamate, glycine, arginine, tyrosine and tryptophan contents decreased while, in lentils and peas, FPA increased after germination. Light germination gave the highest amounts of FPA in beans and lentils, but the lowest in peas. The FNPA changed markedly with

germination. In beans, germination produced a reduction of α -amino adipic acid and an increase of GABA (γ -aminobutyric acid). All FNPA increased in lentils and peas. Light germination resulted in the highest α -amino adipic acid contents in beans, and the highest value of taurine in lentils. The highest FNPA content was found in peas after dark germination.

MAESO, N., CIFUENTES, A., BARBAS, C.

“Large-volume sample stacking-capillary electrophoresis used for the determination of 3-nitrotyrosine in rat urine”.
J. Chromatogr. B. (2004) **809** 147-152.

Abstract: Large-volume sample stacking using the electroosmotic flow (EOF) pump technique has been investigated for the quantification of 3-nitrotyrosine in urine of diabetic rats. The best separation conditions for these highly complex samples were obtained using capillary electrophoresis (CE) in the reversed polarity mode (i.e., injecting at the cathode and detecting at the anode) using cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) in the running buffer. The optimum CE separation conditions were achieved using a phosphate buffer prepared with 0.15M phosphoric acid and 0.5mM CTAB adjusted to pH 6.4 with sodium hydroxide. In such CE conditions, the limit of detection (LOD) was 1.77 μ M for 3-nitrotyrosine with normal injection mode, meanwhile with the large-volume sample stacking technique a more than 20-fold improvement was observed (i.e., LOD = 0.08 μ M was obtained) without noticeable loss of resolution. This value allowed the detection of 3-nitrotyrosine in urine from diabetic rats. To our knowledge, this work is one of the few applications showing the great possibilities of these stacking procedures to analyse biological samples by CE.

MANSO, M.A., LÓPEZ-FANDIÑO, R.

“ κ -Casein macropeptides from cheese whey: Physicochemical, biological, nutritional, and technological features for possible uses”.
Food Rev. Int. (2004) **20** 329-355.

Abstract: κ -Casein macropeptide (CMP), one of the components of whey, is produced during cheese making. Whey production has grown enormously in the last three decades and will continue to grow, along with cheese production. There is an increased interest in research for new applications of food industry by-products in order to avoid their extensive elimination and negative environmental implications. In this respect, CMP has been the focus of extensive scientific research that has proven its value as a functional and bioactive peptide, as well as a source of biologically active peptides. This article evaluates the possibilities and future perspectives of the use of CMP and related peptides obtained from cheese whey from different ruminant species. Physicochemical, technological, biological, and nutritional aspects are considered, and processes for analysis, fractionation, and separation are reviewed. The objective is to help to promote further exploitation of cheese industry coproducts for the preparation of high added-value ingredients to be included in the composition of nutraceuticals or functional food products.

MARCOBAL, A., DE LAS RIVAS, B., GARCÍA-MORUNO, E., MUÑOZ, R.

“The tyrosine decarboxylation test does not differentiate *Enterococcus faecalis* from *Enterococcus faecium*”.

System. Appl. Microbiol. (2004) **27** 423-426.

Abstract: According to the current edition of the Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [11] the tyrosine decarboxylation test allows the differentiation of enterococci. Tyrosine is decarboxylated to the biogenic amine tyramine by *E. faecalis* and not by *E. faecium* strains. In the present study we sequenced the 16S rDNA of two tyramine-producing strains, BIFI-56 and BIFI-58, presumptively classified as *E. faecalis*. Their 16S rDNA were identical to the same fragment from the *E. faecium* type strain. Several *E. faecium* strains were then checked for their ability to decarboxylate tyrosine and also a putative tyrosine decarboxylase-coding gene was PCR amplified from these strains. All the strains confirmed as *E. faecium* produced tyramine and possessed a DNA fragment coding for a putative tyrosine decarboxylase. The concordance of the two methods allows us to conclude that the tyrosine decarboxylase test cannot be used in the differentiation of *E. faecalis* from *E. faecium* since at least some *E. faecium* strains are tyramine producers.

MARCOBAL, A., DE LAS RIVAS, B., MORENO-ARRIBAS, M.V., MUÑOZ, R.

“Identification of the ornithine decarboxylase gene in the putrescine-producer *Oenococcus oeni* BIFI-83”.

FEMS Microbiol. Lett. (2004) **239** 213-220.

Abstract: We report here the identification of an ornithine decarboxylase (ODC) gene in the putrescine-producer *Oenococcus oeni* BIFI-83 strain. The gene contains a 2,235-nucleotide open reading frame encoding a 745-amino acid residues protein with a deduced molecular mass of 81 kDa. The primary structure of the ODC deduced from the nucleotide sequence has a consensus sequence containing the pyridoxal-5-phosphate (PLP) binding domain, and the critical amino acids residues involved in enzymatic activity are also conserved. As determined by BLAST analysis, the deduced amino acid sequence of the *odc* gene shares a 67% identity with the ODC protein from *Lactobacillus* 30a. The *odc* gene appears to be rarely present in the genome of *O. oeni*, since in a screening for the presence of this gene in 42 oenococcal strains none of the strains possessed an *odc* gene copy.

MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.J., GONZÁLEZ, R., CARRASCOSA, A.V.

“Morphological changes in autolytic wine yeast during aging in two model systems”.

J. Food Sci. (2004) **69** 233-239.

Abstract: Morphological changes produced in *Saccharomyces cerevisiae* IFI473 and 2 autolytic mutants derived from it (M1 and M2 mutants) were studied during yeast aging in 2 model systems (rich medium and model wine). Different conditions affecting autolysis, including temperature,

culture media, nitrogen starvation, or phenyl-methylsulfonyl fluoride addition, were analyzed. In rich medium, morphological changes mainly consisted in variation of cell size, presence of autophagic bodies inside the cytoplasm, detachment of the cytoplasm from the cell wall, spore formation, and loss of cytoplasmic material. Morphological changes were greater for mutant M2 than for the rest of the strains studied. In the wine medium, a decrease in cell size was the most relevant feature and the morphological changes observed were similar for all strains. Results obtained show morphological differences between autophagy and autolysis suggesting that yeast cells with accelerated autolysis could also present accelerated autophagy.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C., FRIAS, J., GULEWICZ, K., VIDAL-VALVERDE, C.

“Improved method to obtain pure α -galactosides from lupin seeds”.
J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 6920-6922.

Abstract: Improvement of a previously described method of purification of α -galactosides, members of the raffinose family of oligosaccharides (RFOs), has been developed for lupins. The considerable amount of sucrose present in the RFO preparations obtained by the previous method has been removed by modifying the purification stage on diatomaceous earth and charcoal. The present method allows for the preparation of high-purity RFOs containing ~99.4% of RFOs in the form of a white fine powder, which provides new perspectives for the production of pure α -galactoside preparations for their use as prebiotics in functional foods.

MIGUEL, M., RECIO, I., GÓMEZ-RUIZ, J. A., RAMOS, M., LÓPEZ-FANDIÑO, R.

“Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis”.
J. Food Protect. (2004) **67** 1914-1920.

Abstract: The hydrolysis of crude egg white with pepsin, trypsin, and chymotrypsin produced peptides with angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory properties. These peptides were mainly derived from the proteolysis of ovalbumin. The most active hydrolysates were obtained after treatment with pepsin (50% inhibitory concentration [IC_{50}], 55.3 μ g/ml), with the fraction having a molecular mass lower than 3,000 Da giving the highest ACE inhibitory activity (IC_{50} , 34.5 μ g/ml). Nine subfractions were collected from the fraction with a molecular mass lower than 3,000 Da using semipreparative reversed-phase high-performance liquid chromatography. Considerable ACE inhibitory activity ($IC_{50} < 40$ μ g/ml) was found in three of them. These subfractions were analyzed by reversed-phase high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and 14 peptides were identified. These sequences were synthesized, and their ACE inhibitory activities were measured. Among the identified peptides, two novel sequences with potent ACE inhibitory activity were found. The amino acid sequences of these inhibitors were identified as Arg-Ala-Asp-His-Pro-Phe-Leu and Tyr-Ala-Glu-Glu-Arg-Tyr-Pro-Ile-Leu

and showed IC₅₀ values of 6.2 and 4.7 μM, respectively.

MORALES, V., OLANO, A., CORZO, N.

“Ratio of maltose to maltulose and furosine as quality parameters for infant formula”.

J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 6732-6736.

Abstract: Nonenzymic browning reactions in commercial infant formulas were evaluated through their furosine content as well as the isomeric disaccharides formed during processing. Lactulose was observed only in samples containing appreciable amounts of lactose, whereas maltulose was present in all samples due to the isomerization of maltose. Because formation of maltulose depends on the initial amount of maltose present, the ratio maltose/maltulose was used for comparative purposes. The ratio maltose/maltulose varied within a wide range, 27-167; therefore, low values in maltose/maltulose ratio may indicate severe processing conditions during manufacture, whereas high values may indicate mild processing conditions. Variable amounts of furosine content in samples with similar maltose/maltulose ratios may be attributed to different conditions used during storage. Levels of furosine higher than those reported for milk powder were detected in most studied samples. Determination of both furosine and maltose/maltulose ratio would yield information retrospectively about the heat treatment applied during processing and the storage conditions of commercial infant formula.

MORATA, A., CALDERON, F., GONZALEZ, M. C., COLOMO, B., SUAREZ, J.A., GOMEZ-CORDOVES, C.

“Ensayos piloto con cepas de levaduras seleccionadas para vinos”.

Tecnología del Vino (2004) **18** 31-36.

MUÑOZ, R., GARCÍA, J.L., CARRASCOSA, A.V., GONZALEZ, R.

“Cloning of the authentic bovine gene encoding pepsinogen a and its expression in microbial cells”.

Appl. Environ. Microbiol. (2004) **70** 2588-2595.

Abstract: Bovine pepsin is the second major proteolytic activity of rennet obtained from young calves and is the main protease when it is extracted from adult animals, and it is well recognized that the proteolytic specificity of this enzyme improves the sensory properties of cheese during maturation. Pepsin is synthesized as an inactive precursor, pepsinogen, which is autocatalytically activated at the pH of calf abomasum. A cDNA coding for bovine pepsin was assembled by fusing the cDNA fragments from two different bovine expressed sequence tag libraries to synthetic DNA sequences based on the previously described N-terminal sequence of pepsinogen. The sequence of this cDNA clearly differs from the previously described partial bovine pepsinogen sequences, which actually are rabbit pepsinogen sequences. By cloning this cDNA in different vectors we produced functional bovine pepsinogen in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. The recombinant pepsinogen is activated by low pH, and the resulting mature pepsin has milk-clotting activity.

Moreover, the mature enzyme generates digestion profiles with α -, β -, or κ -casein indistinguishable from those obtained with a natural pepsin preparation. The potential applications of this recombinant enzyme include cheese making and bioactive peptide production. One remarkable advantage of the recombinant enzyme for food applications is that there is no risk of transmission of bovine spongiform encephalopathy.

NUÑEZ, V., MONAGAS, M., GÓMEZ-CORDOVÉS, M.C., BARTOLOMÉ, B.
“*Vitis vinifera* L. cv. Graciano grapes characterized by its anthocyanin profile”.
Postharvest Biol. Tec. (2004) **31** 69-79.

Abstract: Graciano is a Spanish *Vitis vinifera* L. variety traditionally used to improve wine mixtures containing other original varieties. Given the scant literature on anthocyanins in Graciano grapes, the aim of this work was to determine its anthocyanin composition on the basis of HPLC/MS profiles and to compare it to those of other well-known varieties such as Tempranillo and Cabernet-Sauvignon. Thanks to this technique, the isomer *cis* of malvidin-3-(6- ρ -coumaroyl)-glucoside has been identified in the three varieties, being the first time this compound is reported in *Vitis* varieties. Anthocyanins in Graciano show a high proportion of peonidins, with peonidin-3-glucoside/malvidin-3-glucoside (PnG/MG) being considered as a potential marker for the characterization of the variety. However, the ratio between the sums of the ρ -coumaroyl/acetylated anthocyanins (Σ Crn/ Σ Ac) allows the three varieties to be best distinguished, Tempranillo having the highest values followed by Graciano (intermediate) and Cabernet-Sauvignon (values of less than one).

PASHOVA, V., GÜEL, C., PUEYO, E., LÓPEZ-BARAJAS, M., POLO, C., LÓPEZ, F.
“White wine protein stabilization by continuous process using a packed column”.
Am. J. Enol. Vitic. (2004) **55** 195-198.

Abstract: An alternative method of protein stabilization for a Muscat wine was studied at laboratory scale using zirconium oxide as adsorbent material in a packed column in continuous regime. Protein removal for ZrO₂ was about 70% during the first 50 bed volumes (BV) and decreased progressively until the end of the treatment (100 BY). The first fraction of treated wine (first 50 BV) was protein stable, after which it was protein unstable. The protein fraction of 20 to 30 kDa appeared to be responsible for the protein instability of the wine. After ZrO₂ regeneration, the wines obtained were protein stable during all treatments, since the adsorption capacity of the packed column increased. No relation was found between the protein stability of the wine and polysaccharide removal by the ZrO₂ in the original form or after regeneration.

PEÑA-NEIRA, A., DUEÑAS, M., DUARTE, A., HERNANDEZ, T., ESTRELLA, I., LOYOLA, E.
“Effects of ripening stages and of plant vegetative vigor on the phenolic composition of grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Cabernet Sauvignon in the Maipo Valley (Chile)”.

Vitis (2004) **43** 51-57.

Abstract: Quantitative changes in the composition of phenolic compounds in skins and seeds were determined during ripening of grape of Cabernet Sauvignon vines growing with low, medium or high vigor. Compounds in the skins were gallic and syringic acid, (+)-catechin, (-)-epicatechin, quercetin-3-galactoside, quercetin-3-rutinoside, quercetin-3-arabinglucoside, quercetin-3-glucoside, and quercetin-3-rhamnoside, kaempferol-3-rutinoside and kaempferol-3-glucoside. The following compounds were identified in seeds: gallic acid, (+)-catechin, (-)-epicatechin, and procyanidins B₁, B₂, B₃ and B₄. The composition of compounds depended on the stage of ripening and vigor. No clear relationship was found between groups of compounds.

PESELA, B.C.C., MATEO, C., FUENTES, M., VIAN, A., GARCÍA, J.L., CARRASCOSA, A.V., GUIÁN, J.M., FERNÁNDEZ-LAFUENTE, R.

“Stabilization of a multimeric β -galactosidase from *Thermus* sp. Strain T2 by immobilization on novel heterofunctional epoxy supports plus aldehyde-dextran cross-linking”.

Biotechnol. Prog. (2004) **20** 388-392.

Abstract: This work exemplifies the advantages of using a battery of new heterofunctional epoxy supports to immobilize enzymes. We have compared the performance of a standard Sepabeads-epoxy support with other Sepabeads-epoxy supports partially modified with boronate, iminodiacetic, metal chelates, and ethylenediamine in the immobilization of the thermostable β -galactosidase from *Thermus* sp. strain T2 as a model system. Immobilization yields depended on the support, ranging from 95% using Sepabeads-epoxy-chelate, Sepabeads-epoxy-amino, or Sepabeads-epoxy-boronic to 5% using Sepabeads-epoxy-IDA. Moreover, immobilization rates were also very different when using different supports. Remarkably, the immobilized β -galactosidase derivatives showed very improved but different stabilities after favoring multipoint covalent attachment by long-term alkaline incubation, the enzyme immobilized on Sepabeads-epoxy-boronic being the most stable. This derivative had some subunits of the enzyme not covalently attached to the support (detected by SDS-PAGE). This is a problem if the biocatalysts were to be used in food technology. The optimization of the cross-linking with aldehyde-dextran permitted the full stabilization of the quaternary structure of the enzyme. The optimal derivative was very active in lactose hydrolysis even at 70°C (over 1000 IU/g), maintaining its activity after long incubation times under these conditions and with no risk of product contamination with enzyme subunits.

PESELA, B.C.C., MUNILLA, R., BETANCOR, L., FUENTES, M., CARRASCOSA, A.V., VIAN, A., FERNÁNDEZ-LAFUENTE, R., GUIÁN, J.M.

“Ion exchange using poorly activated supports, an easy way for purification of large proteins”.

J. Chromatogr. A. (2004) **1034** 155-159.

Abstract: Ion-exchange chromatography using commercial ionic supports is a commonly used technique for protein purification. However, selective adsorption of a target protein from a given extract onto commercial ion exchangers seems to be quite complex since they are designed to adsorb the maximum percentage of proteins with the opposite charge. In this paper, ion-exchanger supports with different activation degrees (from 0 to 40 μmol of amino groups per g of agarose) have been prepared and used for the purification of large proteins. These kinds of proteins have large surfaces to interact by many points with the support. Therefore, it was possible to purify large proteins as β -galactosidase from *Thermus* sp. strain T2 from a crude extract from *Escherichia coli* or bovine liver catalase from a commercial preparation, with tailor-made ion-exchanger supports. A simple step of adsorption/desorption on lowly activated supports rendered both enzymes rather pure as confirmed, sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis. Moreover, this strategy makes also easy the desorption step that requires rather low NaCl concentrations, which may become a serious problem for desorption of large proteins when using conventional supports, due to their ability of generating a very strong adsorption.

PESELA, B.C.C., TORRES, R., FUENTES, M., MATEO, C., FILHO, M., CARRASCOSA, A.V., VIAN, A., GARCÍA, J.L., GUISÁN, J.M., FERNANDEZ-LAFUENTE, R.

“A simple strategy for the purification of large thermophilic proteins overexpressed in mesophilic microorganisms: Application to multimeric enzymes from *Thermus* sp. strain T2 expressed in *Escherichia coli*”.
Biotechnol. Prog. (2004) **20** 1507-1511.

Abstract: The heating of protein preparations of mesophilic organism (e.g., *E. coli*) produces the obliteration of all soluble multimeric proteins from this organism. In this way, if a multimeric enzyme from a thermophilic microorganism is expressed in these mesophilic hosts, the only large protein remaining soluble in the preparation after heating is the thermophilic enzyme. These large proteins may be then selectively adsorbed on lowly activated anionic exchangers, enabling their full purification in just these two simple steps. This strategy has been applied to the purification of an α -galactosidase and β -galactosidase from *Thermus* sp. strain T2, both expressed in *E. coli*, achieving the almost full purification of both enzymes in only these two simple steps. This very simple strategy seems to be of general applicability to the purification of any thermophilic multimeric enzyme expressed in a mesophilic host.

PESELA, B.C.C., TORRES, R., FUENTES, M., MATEO, C., MUNILLA, R., VIAN, A., CARRASCOSA, A.V., GARCIA, J.L., GUISÁN, J.M., FERNANDEZ-LAFUENTE, R.

“Selective and mild adsorption of large proteins on lowly activated immobilized metal ion affinity chromatography matrices. Purification of multimeric thermophilic enzymes overexpressed in *Escherichia coli*”.
J. Chromatogr. A. (2004) **1055** 93-98.

Abstract: A strategy to selectively adsorb large proteins on immobilized metal ion affinity chromatography supports is presented. It is based on the fact that large proteins have a large surface that permits the long distance interaction with groups placed quite far apart (very dispersed onto the support surface) in the support, therefore, even using lowly activated supports, these proteins may be able to yield multiple interactions with the support, which is not possible for smaller proteins. This has been shown using a crude extract from *Escherichia coli*, where only large proteins were adsorbed on supports having 0.25 μmol of metallic groups/g of support. Then, these lowly activated supports have been used for purifying multimeric enzymes from thermophilic organisms α - and β -galactosidases from *Thermus* sp. strain T2) cloned and over-expressed in mesophilic ones. A previous heating step of the crude extract destroyed the quaternary structure of all multimeric enzymes from the host (*E. coli*). Thus, the only large protein remaining in the supernatant of this heated extract are the cloned multimeric thermophilic enzymes, permitting their very simple purification by using only one chromatographic step.

POVEDA, J.M., GARCÍA, A., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., CABEZAS, L.

“Application of partial least squares (PLS) regression to predict the ripening time of Manchego cheese”.

Food Chem. (2004) **84** 29-33.

Abstract: Partial least squares (PLS) regression was used to predict the ripening time of Manchego cheese, based on some physicochemical parameters and secondary proteolysis indices of 63 standard Manchego cheeses manufactured in different seasons (autumn, winter and spring). PLS regression demonstrated that the variables that most contributed to predict the ripening time of the cheeses were water activity (a_w), pH and dry matter (DM). The prediction model obtained yielded good results for the prediction of the ripening times of commercial Manchego cheeses manufactured in the same factory as the standard cheeses, since the root mean square error of prediction was 11.9 days. The model was also good for the prediction of the ripening times of commercial Manchego cheeses manufactured in different factories.

POZO-BAYÓN, M.A., MONAGAS, M., POLO, M.C., GÓMEZ-CORDOVÉS, C.

“Occurrence of pyranoanthocyanins in sparkling wines manufactured with red grape varieties”.

J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 1300-1306.

Abstract: The anthocyanin pigments in rosé (*Vitis vinifera* cv. Garnacha) and blanc de noir (*V. vinifera* cv. Monastrell) base and sparkling wines were studied by LC-DAD/ESI-MS. Anthocyanins of grape origin and pyranoanthocyanins resulting from C-4/C-5 cycloaddition of the former ones with pyruvic acid, acetaldehyde, 4-vinylphenol, 4-vinylguaiacol, and 4-vinylcatechol were identified in the different wines. Rosé wines presented a higher total pigment content than blanc de noir wines. Pyranoanthocyanins represented 68.9-76.0% of total pigment content in rosé wines and 49.4-60.7% in blanc de noir wines. Malvidin 3-glucoside-

pyruvate was the most abundant pigment in both rosé and blanc de noir base wines. Important qualitative and quantitative changes were observed in terms of the anthocyanin and pyranoanthocyanin pigments after the second (bottle) fermentation and 9 months of aging on yeast lees, but not after a further time (3-9 additional months) of aging on lees. Evaluation of the wine color characteristics was consistent with a greater color stability for the rosé sparkling wines that could be associated with the high content, structural diversity, and spectroscopic features of the pyranoanthocyanins present in these wines.

POZO-BAYÓN, M.A., POLO, M.C., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., PUEYO, E.

“Effect of vineyard yield on the composition of sparkling wines produced from the grape cultivar Parellada”.

Food Chem. (2004) **86** 413-419.

Abstract: The influence of vineyard yield on the phenolic, volatile and nitrogen compounds, on the foam characteristics and on the sensory quality of sparkling wines made from grapes of the Parellada variety was studied. Sixteen sparkling wines were manufactured industrially from four base wines. Two of the base wines were manufactured with grapes from a low-yielding vineyard, below 10,500 kg/ha and the other two with grapes from a higher-yielding vineyard, higher than 10,500 kg/ha. Significant differences were found in relation to vineyard yield in the concentration of 9 of the 16 phenolic compounds determined, in most of the volatile compounds and in several free amino acids. No significant differences were detected between foam characteristics of wines from low- and high-yield vineyards. The wines from low-yield vineyards were considered, by the tasters, to have better sensory quality than the wines from high-yield vineyards.

PRODANOV, M., SIERRA, I., VIDAL-VALVERDE, C.

“Influence of soaking and cooking on the thiamin, riboflavin and niacin contents of legumes”.

Food Chem. (2004) **84** 271-277.

Abstract: The effects on thiamin, riboflavin and niacin contents of faba beans (*Vicia faba*, L.), chickpeas (*Cicer arietinum*, L.) and lentils (*Lens culinaris*, L.), of soaking in different solutions (citric acid solution pH 4.96 ± 0.02 , distilled water pH 7.00 ± 0.02 and sodium bicarbonate solution pH 7.85 ± 0.02) and cooking of the presoaked legumes in distilled water have been studied. The main factor determining the vitamin retention after each treatment was the legume genus. Soaking faba beans for 9 h produced losses of 0 and 15% thiamin, 0 and 11% riboflavin and no changes in niacin content ($P \leq 0.05$). In the case of chickpeas the effect of the treatment was more acute. Losses of 0-18% thiamin, 0-4% riboflavin and 0-46% available niacin was observed while in lentils, the thiamin and available niacin contents decreased by 5-10% and 26-42%, respectively and the riboflavin increased by up to 98%. In general, vitamin losses were greater when soaking was carried out in alkaline solution. In most of the studied legumes, cooking produced further decreases in vitamins. Faba

beans lost up to 35 and 32%, respectively, of their thiamin and available niacin contents, while riboflavin was not affected. Chickpeas and lentils were more liable to lose their vitamins: up to 51% thiamin, 66% riboflavin and 78% available niacin in chickpeas and up to 61% thiamin and 61% available niacin in lentils. Cooking did not cause any additional loss of the riboflavin content of lentils. With few exceptions, cooking caused greater vitamin losses when a prior soaking was carried out in alkaline solution.

RADA-MENDOZA, M., GARCÍA-BAÑOS, J.L., VILLAMIEL, M., OLANO, A.

“Study on nonenzymatic browning in cookies, crackers and breakfast cereals by maltulose and furosine determination”.

J. Cereal Sci. (2004) **39** 167-173.

Abstract: Nonenzymatic browning development has been investigated in commercial cookies, crackers and breakfast cereals by determination of maltulose and furosine. In addition, maltose, lactose, lactulose, fructose, glucose and 2-furoylmethyl-GABA were also determined in the samples studied. Maltulose and furosine were present in all samples of cookies, crackers and breakfast cereals. Differences found among samples may be attributed to variations in composition and processing conditions. The maltose/maltulose ratio showed a wide range in the samples studied and could probably be attributed to differences in heating intensity during processing. Thus, maltose/maltulose ratio might serve as indicator of the heat load during manufacture. Furosine and 2-furoylmethyl-GABA may arise from Maillard reactions in some of the ingredients before manufacture of the cereal products: this appears to be a major drawback for the use of these compounds as suitable indicators to differentiate between commercial cereal products. However, in the cereal industry, where exact ingredient composition is known, measurement of the maltulose and furosine formed might be used as indicators to monitor processing conditions during the manufacture of cereal products.

RADA-MENDOZA, M., SANZ, M.L., OLANO, A., VILLAMIEL, M.

“Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods”.

Food Chem. (2004) **85** 605-609.

Abstract: Simultaneous formation of hydroxymethylfurfural (HMF) and furosine (Fu) during the storage of three batches of jam samples (one commercial and two laboratory prepared) and one of fruit-based infant food (commercial), at 20 and 35 C during 12 months, was investigated to evaluate the reliability of the combination of both parameters as quality indicators. In general, the concentration of both indicators increased with time and temperature of storage, formation of furosine being less temperature dependent than that of HMF. HMF was proved to be a good indicator of the severity of heating during manufacture and/or inadequate temperature during prolonged storage, whereas furosine may be a useful indicator of the storage conditions. The combination of both indicators can afford important information on the quality of jams and fruit-based infant foods during processing and storage.

RAMÍREZ, P., SEÑORÁNS, F.J., IBÁÑEZ, E., REGLERO, G.

“Separation of rosemary antioxidant compounds by supercritical fluid chromatography on coated packed capillary columns”.

J. Chromatogr. A. (2004) **1057** 241-245.

Abstract: Antioxidant compounds in rosemary extracts obtained by supercritical fluid extraction (SFE) were separated by supercritical fluid chromatography (SFC) on packed capillary columns. The columns contained silica particles coated with SE-54 (5% phenyl, 95% methyl silicone) and Carbowax 20M [poly(ethylene glycol)]. The use of coated packed capillary columns allowed the separation of polar compounds by SFC with neat CO₂. The SFC conditions were selected on the basis of previous work. High pressures (up to 370 atm; 1 atm = 10,325 Pa) and moderate temperatures (up to 100°C) were used to separate the compounds responsible for the antioxidant activity such as carnosic acid and carnosol while lower pressures were sufficient to separate the compounds of the essential oil.

RECIO, I., GARCÍA-RISCO, M. R., AMIGO, L., MOLINA, E., RAMOS, M., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J.

“Detection of milk mixtures in Halloumi cheese”.

J. Dairy Sci. (2004) **87** 1595-1600.

Abstract: A capillary electrophoresis method has been applied to the detection of illegal addition of milk from goat and/ or cow in Halloumi cheese, traditionally made with sheep milk. The electrophoretic profiles of the casein from Halloumi cheeses have revealed that caprine para- κ -casein and bovine α_{S1} -casein peaks point to the presence of low percentages of goat's and/or cow's milk added to Halloumi cheese. Stepwise multiple linear regression has been used to predict these percentages with a standard error of the estimation of 2.14%. The analytical method combined with the statistical application is valid for the prediction of percentages higher than 2% of goat's and percentages of 5% of cow's milk added to the cheese either in fresh or ripened cheese. The standard error of estimation was higher for the prediction of cow's milk than for goat's milk.

RUIZ DEL CASTILLO., M.L., BLANCH, G.P., HERRAIZ, M.

“Natural variability of the enantiomeric composition of bioactive chiral terpenes in *Mentha piperita*”.

J. Chromatogr. A. (2004) **1054** 87-93.

Abstract: The variability of the enantiomeric distribution of biologically active chiral terpenes in *Mentha piperita* plants from different geographical origins was evaluated by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS). The optimisation of some parameters (i.e. exposure temperature, extraction time and type of fibre) affecting SPME-extraction enabled relative standard deviations ranging from 4 to 13% to be achieved. The use of two different chiral stationary phases allowed to separate the identified chiral terpenes into their corresponding

enantiomers as well as to verify the enantiomeric excesses of those compounds which were enantiomerically resolved on both phases. For all chiral terpenes, the enantiomeric composition varied within a very narrow range all over the samples. Consequently, it may be stated that the enantiomeric composition of chiral terpenes in *Mentha piperita* appears to be independent of the geographical origin of the plant and, thus, any alteration in the characteristic value may be related to an adulteration or inadequate sample handling. These results support the usefulness of the enantiomeric composition of bioactive chiral terpenes in *Mentha piperita* in authenticity studies.

RUIZ DEL CASTILLO, M. L., DOBSON, G., BRENNAN, R., GORDON, S.

“Fatty acid content and juice characteristics in black currant (*Ribes nigrum* L.) genotypes”.

J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 948-952.

Abstract: The fatty acid compositions of seeds from 29 black currant genotypes were determined using a rapid small-scale procedure. There was interest in α -linolenic, stearidonic, and, especially, γ -linolenic acid (GLA) contents, and most samples showed values between 11.1 and 18.7%, between 2.5 and 4.5%, and between 11.6 and 17.4%, respectively. However, six genotypes exhibited γ -linolenic contents $>18\%$, and values $>20\%$ were recorded in four of these genotypes. The fatty acid contents of the six genotypes were also analyzed by using a conventional procedure, and only slight differences in fatty acid composition were found between the two methods. Although GLA content was not strongly correlated with juice parameters, some genotypes had both high GLA contents and desirable juice characteristics. The results obtained provide evidence that it is possible to select for GLA contents without negatively affecting juice quality, and both aspects can be combined in a single cultivar, thereby increasing the added value of the whole fruit.

RUIZ DEL CASTILLO, M. L., FLORES, G., BLANCH, G. P., HERRAIZ, M.

“Effect of thermal treatment during processing of orange juice on the enantiomeric distribution of chiral terpenes”.

J. Food Protect. (2004) **67** 1214-1219.

Abstract: Chiral terpenes in orange juices were examined by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry to study the dependence of their enantiomeric composition on the thermal treatment applied during the industrial manufacture. The experimental conditions used in the isolation and concentration of the compounds of interest produced relative standard deviations ranging from 2.9 to 15.1% when absolute areas were used and from 1.7 to 18.3% when normalized areas were used. Recovery varied between 8.8 and 56.1%, and detection limits ranged from 0.11 to 0.32 $\mu\text{g/ml}$. The enantiomeric compositions of the majority of the chiral terpenes varied within a reasonably narrow range. Nevertheless, the enantiomeric ratio of two monoterpene alcohols, α -terpineol and linalool, exhibited considerable variation according to the thermal treatment used in the manufacture of the juices. Therefore, the

knowledge of the enantiomeric composition of α -terpineol and linalool might be useful for thermal treatment control purposes.

SANABRIA, C., MARTÍN-ALVAREZ, P.J., CARRASCOSA, A.V.

“Colour and moisture changes during the manufacture of Iberian dry-cured ham caused by some biotic and abiotic factors”.

Food Sci. Tech. Int. (2004) **10** 269-275.

Abstract: The effects of some biotic (pig-rearing system and muscle location) and abiotic factors (processing time and drying location) on colour (L^* , a^* and b^*) and moisture changes during the manufacture of Iberian ham were studied. The levels of L^* (from 27.14 to 44.44), a^* (from 6.10 to 19.84) and b^* (from 2.18 to 8.72) parameters, and moisture (from 31.71 to 75.04) decreased ($p < 0.05$) as processing time increased. L^* , a^* and b^* were strongly influenced by muscle location and their values were smaller ($p < 0.05$) in *semimembranosus* than in *biceps femoris*, as occurred with moisture. The rearing system produced differences ($p < 0.05$) in a^* at the first stage and in L^* and b^* at the final stage of processing. Drying location, probably in association with natural climatic conditions, caused differences ($p < 0.05$) at only the final stage of processing in a^* and b^* parameters. The variations in colour parameters were mainly affected by rearing system and muscle location.

SANZ, M.L., VILLAMIEL, M., MARTÍNEZ-CASTRO, I.

“Inositols and carbohydrates in different fresh fruit juices”.

Food Chem. (2004) **87** 325-328.

Abstract: Juices from different fresh fruits (grapefruit, lemon, lime, mandarin, orange, guava, kiwifruit, apple, mango, peach, pear, pineapple, banana, bilberry, raspberry, strawberry, redcurrant and grape) were prepared in the laboratory. Inositols were analysed by GC as their trimethylsilyl derivatives; their identities were confirmed by GC-MS and retention of pure standards. *Myo*-inositol was present in most juices, (excepting those of redcurrant and banana, where no inositols were detected) varying from traces in raspberry up to 153 mg/100 g in kiwifruit. *Chiro*-inositol was present in all examined citrus juices and ranged from 7 mg/100 g in lemon up to 108 mg/100 g in mandarin. *Scyllo*-inositol was present in both grapes and citrus juices, appearing as traces in orange and attaining 15 mg/100 g in grapefruit.

SIMÓ, C., COTTET, H., VAYABOURY, W., GIANI, O., PELZING, M., CIFUENTES, A.

“Nonaqueous capillary electrophoresis-mass spectrometry of synthetic polymers”.

Anal. Chem. (2004) **76** 335-344.

Abstract: In this work, the separation and characterization of ionizable organic polymers nonsoluble in water is carried out using nonaqueous capillary electrophoresis-ion trap mass spectrometry (NACE-MS). The polymers studied are poly(N_ϵ -trifluoroacetyl-L-lysine) (poly(TFA-Lys))

obtained by ring-opening polymerization of the corresponding N-carboxyanhydride. Different parameters (i.e., liquid sheath nature and flow rate, electrospray temperature, and separation buffer composition) are optimized in order to obtain both an adequate CE separation and a high MS signal of the samples under study. The optimum NACE-MS separation conditions allow the molecular mass characterization of poly(TFA-Lys) up to a degree of polymerization of 38. NACE-MS provides interesting information on the chemical structure of (i) the polymer end groups and (ii) other final byproducts. The MS spectra obtained by using this CE-MS protocol confirm that the polymerization was initiated by the reaction of n-hexyl-amine (initiator) on the monomer. CE-MS-MS and CE-MS-MS-MS results demonstrate that two different termination reactions occurred during the polymerization process leading to the transformation of the reactive amine end group into a carboxylic or a formyl groups. Byproducts such as 3-hydantoinacetic acid or diketopiperazine were also detected. To our knowledge, this is the first work in which the great possibilities of NACE-MS and NACE-MS *n* for characterizing synthetic polymers are demonstrated.

SIMÓ, C., ELVIRA, C., GONZÁLEZ, N., SAN ROMÁN, J., BARBAS, C., CIFUENTES, A.

“Capillary electrophoresis-mass spectrometry of basic proteins using a new physically adsorbed polymer coating. Some applications in food analysis”.
Electrophoresis (2004) **25** 2056-2064.

Abstract: A new physically adsorbed capillary coating for capillary electrophoresis-mass spectrometry (CE-MS) of basic proteins is presented, which is easily obtained by flushing the capillary with a polymer aqueous solution for two min. This coating significantly reduces the electrostatic adsorption of a group of basic proteins (*i.e.*, cytochrome *c*, lysozyme, and ribonuclease A) onto the capillary wall allowing their analysis by CE-MS. The coating protocol is compatible with electrospray ionization (ESI)-MS *via* the reproducible separation of the standard basic proteins (%RSD values ($n = 5$), 1% for analysis time reproducibility and, 5% for peak heights, measured from the total ion electropherograms (TIEs) within the same day). The LODs determined using cytochrome *c* with total ion current and extracted ion current detection were 24.5 and 2.9 fmol, respectively. Using this new coating lysozymes from chicken and turkey egg white could be easily distinguished by CE-MS, demonstrating the usefulness of this method to differentiate animal species. Even after sterilization at 120°C for 30 min, lysozyme could be detected, as well as in wines at concentrations much lower than the limit marked by the EC Commission Regulation. Adulteration of minced meat with 5% of egg-white could also be analysed by our CE-MS protocol.

SIMÓ, C., MARTÍN-ALVAREZ, P.J., BARBAS, C., CIFUENTES, A.

“Application of stepwise discriminant analysis to classify commercial orange juices using chiral micellar electrokinetic chromatography-laser induced fluorescence data of amino acids”.
Electrophoresis (2004) **25** 2885-2891.

Abstract: The use of chiral amino acids content and stepwise discriminant analysis to classify three types of commercial orange juices (*i.e.*, nectars, orange juices reconstituted from concentrates, and pasteurized orange juices not from concentrates) is presented. Micellar electrokinetic chromatography with laser-induced fluorescence (MEKC-LIF) and β -cyclodextrins are used to determine L- and D-amino acids previously derivatized with fluorescein isothiocyanate (FITC). This chiral MEKC-LIF procedure is easy to implement and provides information about the main amino acids content in orange juices (*i.e.*, L-proline; L-aspartic acid, D-Asp, L-serine, L-asparagine, L-glutamic acid, D-Glu, L-alanine, L-arginine, D-Arg, and the non-chiral γ -amino-*n*-butyric acid (GABA), *i.e.*, γ -aminobutyric acid). From these results, it is clearly demonstrated that some D-amino acids occur naturally in orange juices. Application of stepwise discriminant analysis to 26 standard samples showed that the amino acids L-Arg, L-Asp and GABA were the most important variables to differentiate the three groups of samples. With these three selected amino acids a 100% correct classification of the samples was obtained either by standard or by leave-one-out cross-validation procedures. These classification functions based on the content in L-Arg, L-Asp and GABA were also applied to nine test samples and provided an adequate classification and/or interesting information on these samples. It is concluded that chiral MEKC-LIF analysis of amino acids and stepwise discriminant analysis can be used as a consistent procedure to classify commercial orange juices providing useful information about their quality and processing. To our knowledge, this is the first report about the combined use of chiral capillary electrophoresis and discriminant techniques to classify foods.

SUÁREZ, R., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., MORATA, A., SUÁREZ-LEPE, J.A.

“Aromas y color en las levaduras para vinos tintos”.

Tecnología del Vino (2004) (16) 77-87.

Resumen: Características de aroma y color son determinantes para la identificación de los vinos tintos típicos y propios de cada región. La moderna investigación en el campo de las levaduras ha hecho posible la selección de las cepas en función del conocimiento que se tiene de su metabolona, y por ello la utilización específica de las mismas. Así es posible asegurar calidades constantes de los diferentes tipos de vinos, mediante la aplicación enológica adecuada, con independencia de los múltiples factores que hacen diferentes todas las cosechas.

TABERA, J., GUINDA, A., RUIZ-RODRÍGUEZ, A., SEÑORÁNS, F.J., IBÁÑEZ, E., ALBI, T., REGLERO, G.

“Countercurrent supercritical fluid extraction and fractionation of high-added-value compounds from a hexane extract of olive leaves”.

J. Agric. Food Chem. (2004) **52** 4774-4779.

Abstract: Countercurrent supercritical fluid extraction (CC-SFE) at a pilot scale plant was used for fractionation of high-added-value products from a

raw extract of olive leaves in hexane. Compounds found in the raw extract were waxes, hydrocarbons, squalene, β -carotene, triglycerides, α -tocopherol, β -sitosterol, and alcohols. The CC-SFE extraction process was investigated according to a 23 full factorial experimental design using the following variables and ranges: extraction pressure, 75-200 bar; extraction temperature, 35-50°C; and ethanol as modifier, 0-10%. Data were analyzed in terms of extraction yield, enrichment, recovery, and selectivity. Higher extraction yields were attained at 200 bar. For most of the compounds analyzed enrichment was attained at the same conditions, that is, 75 bar, 35°C, and 10% ethanol. Hydrocarbons were usually recovered in the separators, whereas waxes and α -tocopherol remain in the raffinate. Selectivity data reveal that α -tocopherol is the most easily separable compound. The influence of the experimental factors on the recovery of all the compounds was studied by means of regression models. The best fitted model was attained for β -sitosterol, with $R^2 = 99.25\%$.

VAQUERO, I., MARCOBAL, A., MUÑOZ, R.

“Tannase activity by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine”.
Int. J. Food Microbiol. (2004) **96** 199-204.

Abstract: We examined a range of oenological lactic acid bacteria species and reference strains for their potential to degrade tannins. Bacterial tannase activity was checked by a spectrophotometric and a visual reading method. None of the strains belonging to the oenological species of the genus *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* or *Pediococcus* were tannase producers, with the exception of *Lactobacillus plantarum*. All the *L. plantarum* strains analyzed were positive for tannase activity and their identities were reconfirmed by *L. plantarum* PCR-specific assay or by sequencing the 16S rDNA. Tannase activity could be considered an important criterion for the selection of malolactic starter cultures since it might confer advantages in the winemaking process by reducing astringency and haze in wine.

VILLALUENGA, C.M., WARDENSKA, M., PILARSKI, R., BEDNARCZYK M., GULEWICZ, K.

“Utilization of the chicken embryo model for assessment of biological activity of different oligosaccharides”.
Folia Biologica (Kraków) (2004) **52** 135-142.

Abstract: The effect of different oligosaccharides - α -galactoside preparations from *Lupinus albus* seeds differing in sucrose content, raffinose and fructooligosaccharides on the growth of chicken intestine microflora and the hatchability and weight of the treated embryos were studied. The assessment of biological activity of these oligosaccharides was done *in ovo* on the chicken embryo model. The eggs of experimental groups containing twelve days old embryos were injected into the air cell with 0.2 ml of Ringer water solution containing 0.1763; 0.8815 and 1.763 mg/egg of an oligosaccharide preparation, while the control group was injected with 0.2 ml of Ringer water solution only. All oligosaccharide preparations in higher doses had an influence on chicken hatchability and

increased bifidobacteria in the colon of two day old chicken. The number of bifidobacteria depends significantly on the kind of oligosaccharide preparation used and its dose. For all experimental groups, the number of bifidobacteria was significantly higher in comparison to the control.

VILLAMIEL, M.

“Formación de hidroximetil furfural y furosina durante el almacenamiento de confituras y alimentos infantiles derivados de frutas”.

<http://www.siicsalud.com/dato/dat037/04322000.htm>

Resumen: El trabajo contribuye al conocimiento sobre las modificaciones químicas que se producen en las confituras y en los alimentos infantiles como consecuencia de su procesado y almacenamiento.

Libros, Volúmenes Colectivos y Monografías

DOBLADO, R., FRÍAS, J., VIDAL-VALVERDE, C.

“Antioxidant activity in raw and processed cowpeas (*Vigna sinensis* L. var. *carilla*)”. En: 5th European Conference on Grain Legumes. 2nd International Conference on Legume Genomics and Genetics. Edit.: AEP-INRA. Dijon (France). (2004) p. 418. ISBN: 2-9509491-7-7.

DUEÑAS, M., ESTRELLA, I., HERNÁNDEZ, T.

“Proanthocyanidin composition of the dark seed coat of legumes”. En: Polyphenols Communications 2004. Edits: A. Hoikkala, O. Soidinsalo, C. Wähälä. Groupe Polyphenols. Burdeos (France). (2004) pp. 187-188. ISBN: 952-10-1977-8.

DUEÑAS, M., HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA, I.

“Effects of exogenous enzymes on the content of bioactive compounds in lentils and peas”. En: Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and oilseeds. Edits: M. Muzquiz, G.D. Hill, C. Cuadrado, M.M. Pedrosa, C. Burbano. Editorial: Academic Publishers. Wageningen (Holanda). (2004) pp. 311-317. ISSN 0071-2477.

FRÍAS, J.

“Antioxidantes en productos agroalimentarios”. En: La transformación industrial de la producción agropecuaria. Editor: Carlos G. Hernández Díaz-Ambrona. Editora: Secretaría General Técnica MEC. Madrid (España) (2004) pp.117-139. ISBN: 369-3928-X.

Resumen: Durante años los científicos han estado preocupados por una serie de moléculas muy reactivas denominadas ‘radicales libres’, que son los responsables de la oxidación de los alimentos, causando el fenómeno de enranciamiento y, además, ocasionando daño celular en el organismo. Cada vez existe más evidencia que relaciona daño celular con enfermedades crónicas como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. Existen

numerosos estudios científicos que indican que los antioxidantes son agentes preventivos y protectores, y cada día se presta más atención a la dieta como fuente natural de antioxidantes.

FRÍAS, J., GRANITO, M., VIDAL-VALVERDE, C.

“Fermentation as a process to improve the nutritional quality of grain legumes”. En: 5th European Conference on Grain Legumes. 2nd International Conference on Legume Genomics and Genetics. Edit.: AEP-INRA. Dijon (France). (2004) pp. 17-18. ISBN: 2-9509491-7-7.

GÓMEZ-CORDOVÉS, C.

“New pigments produced in red wines via different enological processes”. En: Red wine color. Revealing the mysteries. Chapter 7. Edits.: Andrew L. Waterhouse and James A. Kennedy. Editorial: American Chemical Society. Washington (USA). (2004) pp. 89-124. ISBN: 0-8412-3900-2.

GONZÁLEZ DE LLANO, D., HERRAIZ, T., POLO, M.C.

“Peptides”. En: Handbook of Food Analysis, Vol. 1: Physical Characterization and Nutrient Analysis. Capítulo 6. Edit.: Leo M.L. Nollet. Editorial: Marcel Dekker. New York (USA) (2004). pp. 125-166. ISBN: 0-8247-5036-5.

GRANITO, M., TORRES, A., FRÍAS, J., ÁLVAREZ, G., VIDAL-VALVERDE, C., GUERRA, M.

“Fermentation as a process to improve the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris*”. En: 5th European Conference on Grain Legumes. 2nd International Conference on Legume Genomics and Genetics. Edit.: AEP-INRA. Dijon (France). (2004) p. 425. ISBN: 2-9509491-7-7.

HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA, I., DUEÑAS, M., FERNÁNDEZ, M.D.

“Enhancement of the polyphenol content and antioxidant activity of lupin (*Lupinus angustifolius* L.) by germination”. En: Polyphenols Communications 2004. Edits: A. Hoikkala, O. Soidinsalo, C. Wähälä. Groupe Polyphenols. Burdeos (France). (2004) pp. 221-222. ISBN: 952-10-1977-8.

HERRAIZ, T.

“Tetrahydro- β -carboline bioactive alkaloids in beverages and foods”. En: Nutraceuticals beverages: Chemistry, Nutrition and Health effects. ACS Symposium Series 871. Edits.: F. Shahidi and D.K. Weerasinghes (2004) pp. 405-426. ISBN: 0-8412-3823-5.

MIRANDA, M.L., FRÍAS, J., VIDAL-VALVERDE, C.

“Antioxidant activity in raw and processed lupines (*Lupinus albus* L. var. multolupa). En: 5th European Conference on Grain Legumes. 2nd International Conference on Legume Genomics and Genetics. Edit.: AEP-INRA. Dijon (France). (2004) p. 417. ISBN: 2-9509491-7-7.

NUÑEZ, V., BARTOLOMÉ, B., SUBERVIOLA, J., AGUIRREZABAL, F., GÓMEZ-CORDOVÉS, C.

“Momento óptimo de vendimia en función de los antocianos de la uva”. En: XXV Jornadas de Viticultura y Enología de la Tierra de Barros. Editorial: Cultural

Santa Ana. Caja de Badajoz. Almendralejo (España). (2004) pp. 317-329. ISBN: 84-7930-084-1.

Resumen: Una de las preocupaciones del viticultor es determinar en qué momento debe vendimiar la uva para la obtención de un vino determinado. Tras el estudio del contenido antociánico en fechas próximas a la madurez tecnológica de las variedades Graciano, Tempranillo y Cabernet-Sauvignon de Navarra, pudimos comprobar que el estudio de los antocianos a lo largo de la maduración de la baya nos proporciona una información complementaria y de gran valor a la hora de determinar el momento óptimo de vendimia.

OLANO, A., MARTÍNEZ-CASTRO, I.

“Nonenzymatic browning”. En: Handbook of food analysis. Methods and instruments in applied food analysis. Editor L.M.L. Nollet. Editorial: Marcel and Dekker, Inc. New York (USA). (2004) pp 1855-1890. ISBN 0-8247-5038-1.

PRODANOV, M., VACAS, V., FERNÁNDEZ, D., HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA, I., ALONSO, G.L.

“Purification of grape pomace extracts by ultra and nano filtration. Incidence on their phenolic composition”. En: Polyphenols Communications 2004. Edits: A. Hoikkala, O. Soidinsalo, C. Wähälä. Groupe Polyphenols. Burdeos (France). (2004) pp. 675-676. ISBN: 952-10-1977-8.

IV.- FORMACIÓN ACADÉMICA

TESIS DOCTORALES

Título: “Evolución en botella de vinos tintos monovarietales y mezclas de *Vitis vinifera* L. Polifenoles y color”.

Doctoranda: María Josefina Monagas Juan.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Fecha de lectura: 21 de junio 2004.

Calificación: Sobresaliente cum laude.

Directoras: Dras. C. Gómez-Cordovés y B. Bartolomé

Título: “Productos originados en las etapas iniciales de las reacciones de pardeamiento no enzimático como indicadores químicos en alimentos”.

Doctoranda: Maite del Pilar Rada Mendoza.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Fecha de lectura: 27 de septiembre 2004.

Calificación: Sobresaliente cum laude.

Directores: Dres. A. Olano y M. Villamiel.

Título: “Análisis de organismos modificados genéticamente en alimentos mediante el uso combinado de reacción en cadena de la polimerasa y electroforesis capilar”.

Doctoranda: Virginia García Cañas.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Fecha de lectura: 1 de octubre de 2004.

Calificación: Sobresaliente cum laude.

Directores: Dres. A. Cifuentes y R. Gonzalez.

Título: “Valoración de harinas funcionales de leguminosas obtenidas mediante optimización de procesos enzimáticos y fermentativos”.

Doctoranda: Rosa Doblado Ortas.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Fecha de lectura: 2 de octubre 2004.

Calificación: Sobresaliente cum laude.

Directoras: Dras. C. Vidal y J. Frias.

DIPLOMAS DE ESTUDIOS AVANZADOS

Título: “Fraccionamiento y glicosilación de caseinmacropéptidos”.

Licenciada: Enriqueta Casal Banciella.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Directoras: Dras. A. Olano y N. Corzo.

Fecha de lectura: 26 de abril 2004.

Título: “Proteínas de clara de huevo. Actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina en hidrolizados enzimáticos”.

Licenciada: Marta Miguel Castro.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Directoras: Dras. R. López-Fandiño y M. Ramos.

Fecha de lectura: 26 de abril 2004.

Título: “Péptidos con actividad antimicrobiana en hidrolizados de α_{s2} -caseína ovina”.

Licenciado: Ivan López Expósito.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Directoras: Dras. L. Amigo y I. Recio.

Fecha de lectura: 27 de septiembre 2004.

Título: “Desarrollo de un sistema de PCR múltiple para la detección de bacterias lácticas productoras de aminos biógenas, Aplicación a bacterias lácticas de vino”.

Licenciada: Angela Marcobal Barranco.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Directoras: Dras. R. Muñoz y M.V. Moreno-Arribas.

Fecha de lectura: 27 de septiembre 2004.

Título: “Extracción con fluidos supercríticos de *spirulina platensis*. Caracterización química y funcional”.

Licenciado: José Antonio Mendiola León.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Directores: Dres. E. Ibáñez y F.J. Señorans.

Fecha de lectura: 27 de septiembre 2004.

Título: “Empleo de mutantes autolíticos de *Saccharomyces cerevisiae* IFI 473 para la elaboración de vinos espumosos”.

Licenciada: Yolanda del Pilar Núñez Gutierrez.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Directores: Dres. A. Martínez y A.V. Carrascosa.

Fecha de lectura: 27 de septiembre 2004.

Título: “Identificación de péptidos con actividad antihipertensiva en leches fermentadas”.

Licenciada: Ana Quiros del Bosque.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Directoras: Dras. M. Ramos y I. Recio.

Fecha de lectura: 27 de septiembre 2004.

Título: “Composición fenólica de vinos tintos de *Vitis vinifera* L. cv. Merlot de las añadas comprendidas entre 2001 y 1997”.

Ingeniero: Rafael Suárez Colomo.

Universidad: Autónoma de Madrid.

Facultad: Ciencias.

Directoras: Dras. C. Gómez-Cordovés y B. Bartolomé.

Fecha de lectura: 22 de octubre 2004.

CURSOS IMPARTIDOS

Participación en Cursos de Doctorado

Universidad Alcalá de Henares

Asignatura: Electroforesis capilar.

Profesor: Dr. A. Cifuentes.

Universidad Autónoma de Madrid

Asignatura: Ciencia y tecnología de productos lácteos fermentados.

Profesor responsable: Dra. M. Ramos.

Asignatura: Procesos de conservación de alimentos.

Profesor responsable: Dr. A. Olano.

Asignatura: La investigación en enología. Tendencias actuales y perspectivas futuras.

Profesor responsable: Dra. C. Polo.

Asignatura: Nuevas tendencias en Biotecnología de alimentos.

Profesor responsable: Dr. A. Carrascosa.

Asignatura: Tendencias Actuales del Análisis Instrumental de Alimentos.

Profesores responsables: Dres. A. Cifuentes y E Ibáñez.

Asignatura: Procesos de Extracción Supercrítica en Tecnología de Alimentos.

Profesor responsable: Dra. E. Ibáñez.

Asignatura: Técnicas analíticas para el control físico-químico y microbiológico de productos lácteos.

Profesores responsables: Dra. L. Amigo, E. Molina e I. Recio.

Asignatura: Procesado mínimo de alimentos vegetales. Nuevas tecnologías.

Profesores responsables: Drs. A. Olano, N. Corzo y M. Villamiel.

Asignatura: Papel de los polifenoles en Productos Agroalimentarios.

Profesores responsables: Dras. B. Bartolomé, I. Estrella, C. Gómez-Cordovés e I. Estrella.

Universidad Complutense de Madrid

Asignatura: Técnicas cromatográficas modernas.

Profesores responsables: Dras. M. Herraiz y G. P. Blanch.

Asignatura: Avances en Bioquímica, Microbiología y Tecnología de Alimentos Vegetales. Vinos tintos: vinificación y maduración.

Profesor responsable: Dra. C. Gómez-Cordovés.

Asignatura: Avances en Bioquímica, Microbiología y Tecnología de Alimentos Vegetales. Leguminosas: variación de la composición fenólica por diferentes procesos.

Profesor responsable: Dra. I. Estrella.

Asignatura: Avances en Bioquímica, Microbiología y Tecnología de Alimentos Vegetales. Zumos y elaborados de frutas: Influencia de la composición fenólica en su caracterización.

Profesor responsable: Dra. M. T. Hernández.

Asignatura: Antioxidantes de origen vegetal.

Profesor responsable: Dra. B. Bartolomé.

Participación en asignaturas de Licenciatura y Diplomatura

Licenciatura de Ciencia y Tecnologías de los Alimentos de la UAM

Asignatura: “Análisis avanzado de alimentos”

Profesora asociada: Dra. E. Ibáñez.

Licenciatura de Ciencia y Tecnologías de los Alimentos de la UCM

Asignatura: "Biotecnología clínica".

Profesor Asociado: Dr. A. Vian.

Asignatura: "Control microbiológico de calidad". (prácticas)

Profesor Asociado: Dr. A. Vian.

Asignatura: "Microbiología clínica". (prácticas)

Profesor Asociado: Dr. A. Vian.

Diplomatura de Nutrición Humana y Dietética de la UAM

Asignatura: “Análisis instrumental de alimentos”.

Profesora asociada: Dra. E. Ibañez.

Masters

•Master en Biotecnología ALITER. Madrid.

•Master en Tecnología y Control de los Alimentos. CESIF. Madrid.

•Master en Viticultura y Enología. ETS Ingenieros Agrónomos. Madrid.

Cursos de Formación Ocupacional para Parados de Larga Duración.

Centro: Universidad Autónoma de Madrid.

Título: Especialista en control de calidad en el sector agroalimentario
Elaboración de vinos tintos y rosados.
Profesor: Dra. C. Gómez-Cordovés.

Centro: Universidad Autónoma de Madrid.
Título: Vinos y bebidas espirituosas. Elaboración de vinos blancos.
Profesor: Dra. I. Estrella.

Centro: Universidad Autónoma de Madrid.
Título: Especialización en análisis y control de calidad en los sectores agrícola, alimentario y ambiental.
Profesores: Dras. C. Vidal y J. Frias.

Otros cursos

Centro: Escuela nacional de Sanidad
Título: Tecnología de los Alimentos y Valor Nutricional.
Profesores: Dres. R. López-Fandiño, A. Olano e I. Recio.

Centro: Gabinete de Formación (CSIC) e I. Fermentaciones.
Título: Análisis sensorial de Alimentos..
Profesores: Dras. C. Polo y E. Molina.

CICLO DE SEMINARIOS DEL INSTITUTO DE FERMENTACIONES INDUSTRIALES.

9 de Enero

Lcdo. Javier Hernández Borges

Facultad de Químicas. Universidad de la Laguna. Tenerife

"SPME-CE-MS de pesticidas en alimentos".

22 de Enero

Lcdo. Eric F. H. Schulz-Schomburgk

Instituto de Fermentaciones Industriales. (CSIC)

"Estudio de la autólisis inducida de *Oenococcus oeni* en medio vínico".

6 de Febrero

Dra. M^a Dolores del Castillo

Instituto de Fermentaciones Industriales. (CSIC)

"Evaluación de las propiedades antioxidantes del café".

20 de Febrero

Lcda. Valeria Grazú Bonavia

Instituto de Fermentaciones Industriales. (CSIC)

"Inmovilización y rigidificación dirigida de enzimas".

5 de Marzo

Lcdo. Iván López Expósito

Instituto de Fermentaciones Industriales. (CSIC)

"Aislamiento e identificación de péptidos con actividad antimicrobiana en hidrolizados de α_{s2} -CN ovina y κ -CN bovina".

12 de Marzo

Dra. Tiziana Fornari Reale

Centro de Investigación de Bahía Blanca. Argentina

"Presentación del Centro de Investigación: Planta Piloto de Ingeniería Química".

23 de Abril

Lcda. Ana Quirós del Bosque

Instituto de Fermentaciones Industriales. (CSIC)

"Aislamiento, caracterización y actividad de péptidos con efecto antihipertensivo a partir de productos lácteos fermentados con distintos microorganismos".

21 de Mayo

Lcda. Laura Tabera Moreno

Instituto de Fermentaciones Industriales. (CSIC)

"Estudios sobre el gen BCY1 y su potencial aplicación para la mejora genética de levaduras de segunda fermentación".

25 de Junio

Lcdo. Rafael Suárez Colomo

Instituto de Fermentaciones Industriales. (CSIC)

"Composición antociánica y no antociánica de vinos de vitis vinifera l. cv. merlot en función de la añada y del envejecimiento en botella: relación con el color".

4 de Octubre

Dra. Bertha Olivia Arredondo

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Méjico

"Un mar de ciencia en el desierto".

V.- OTRAS ACTIVIDADES

CONFERENCIAS INVITADAS INTERNACIONALES (* indica el ponente)

Universidades y Centros de investigación

Autor: Dr. A. Cifuentes.

Título: “Capillary electrophoresis-mass spectrometry: new applications”.

Centro: Institute of Analytical Chemistry. University of Vienna (Austria).

Autor: Dr. A. Cifuentes.

Título: “Principios y aplicaciones del acoplamiento electroforesis capilar-espectrometría de masas”

Centro: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Hermosillo, (México).

Autor: Dr. A. Cifuentes.

Título: “Separación de fragmentos de DNA mediante electroforesis capilar en geles y fluorescencia inducida por laser (CGE-LIF): Análisis de alimentos”.

Centro: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Hermosillo, (México).

Autor: Dr. A. Cifuentes.

Título: “Food analysis: new applications for capillary electrophoresis” in: Biotechnological Applications of Microalgal Culture.

Centro: CIBNOR, la Paz, Baja California, (México).

Autor: Dra. E. Ibáñez.

Título: “New technologies for functional foods” in Biotechnological Applications of Microalgal Culture.

Centro: CIBNOR, la Paz, Baja California, (México).

Congresos y Jornadas

Autor: Dr. A. Cifuentes.

Título: “Capillary electrophoresis-mass spectrometry: a suitable analytical technique for solving real life problems”.

Centro: X LACE-2004 (10th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology), Toledo (España).

Autor: Dra. J. Frías.

Título: “Fermentation as a process to improve the nutritional quality of legumes”.

Centro: 5th European Conference on Grain Legumes”. Dijon (Francia).

Autores: E. Ibáñez*, M. Herrero, F. J. Señoráns, G. Reglero, A. Cifuentes.

Título: “Accelerated solvent extraction: a new procedure to obtain functional ingredients from natural sources”.

Centro: 227th American Chemical Society (ACS) National Meeting, Anaheim, California (USA).

CONFERENCIAS INVITADAS NACIONALES

Universidades

Autor: Dr. A. Cifuentes.

Título: “Análisis de alimentos: nuevas aplicaciones de la electroforesis capilar”.

Centro: Facultad de Ciencias, Universidad de Valladolid, Valladolid.

Autor: Dr. A. Cifuentes.

Título: “Nuevas metodologías para el análisis de alimentos: uso de técnicas moleculares y electroforéticas capilares”.

Centro: Facultad de Ciencias, Universidad de Valladolid, Valladolid.

Congresos y Jornadas

Autor: F.J. Abad, Echevarría, B.B. Esteve, R. González*, A.C. Martín y D. Ramón.

Título: “Nuevos métodos rápidos y moleculares en seguridad alimentaria”.

Centro: 1º Congreso de la Sociedad Española de Seguridad Alimentaria. (SESAL). Barcelona

Autor: Dra. B. Bartolomé.

Título: “Importancia de los antioxidantes en la prevención de enfermedades crónicas”.

Centro: VIII Jornadas Nacionales de Nutrición Práctica. Madrid.

Autores: Dres. J.V. Carbonell y A. Olano*.

Título: “Nuevas tecnologías para la conservación de alimentos”.

Centro: VII Jornadas sobre calidad y seguridad de los alimentos. Oviedo.

Autor: Dr. A. Cifuentes.

Título: “Electroforesis Capilar: Fundamentos y análisis de polímeros”.

Centro: Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (CSIC), Madrid.

Autor: Dr. A. Cifuentes.

Título: “Electroforesis capilar-espectrometría de masas. Fundamentos y

Centro: II Jornadas de Electroforesis Capilar, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada.

Autor: Dra. E. Ibáñez.

Título: “Alimentos funcionales y conservación”.

Centro: Jornadas de “Tecnologías para el incremento del valor de los alimentos. Cámara de Comercio de Almería.

Autores: Dres. R. Muñoz, J.L. García, A.V. Carrascosa y R. González*.
Título: “Producción de pepsina bovina recombinante para su aplicación en la industria alimentaria”.
Centro: Congreso Nacional de Biotecnología. Biotec 04. Oviedo.

Autores: Dres. I. Recio, B. Muguerza, A. Aleixandre y M. Ramos*.
Título: “Producción péptidos antihipertensivos mediante fermentación con bacterias lácticas”.
Centro: Congreso Nacional de Biotecnología. Biotec 04. Oviedo.

Divulgación Científica

Autor: Dra. M.V. Moreno.
Título: “El vino, producto saludable”.
Centro: Ciclo de Conferencias “Vive la Ciencia”, CSIC y Fundación BBVA. Santander y Sevilla.

Autor: Dra. M. Ramos.
Título: “Leche: Nutrición y Salud”.
Centro: Ciclo de Conferencias “Vive la Ciencia”, CSIC y Fundación BBVA. Mérida (Badajoz).

Autores: Dres. F. Tomás, J.V. Carbonell, P. García y A. Olano*.
Título: “Mesa redonda: Alimentación ¿Desde el supermercado o desde la farmacia?”.
Centro: VII Jornadas sobre calidad y seguridad de los alimentos. Oviedo.

Autor: Dra. E. Molina.
Título: “Presentación del Instituto de Fermentaciones Industriales”.
Centro: Jornada de Puertas Abiertas. Semana de la Ciencia. Centro de Química Orgánica “Manuel Lora-Tamayo”.

Autor: Dra. M. Ramos.
Título: “La leche como fuente de componentes bioactivos”.
Centro: Día Internacional Lácteo. Madrid.

CONGRESOS INTERNACIONALES

5th European Conference on Grain Legumes. Dijon (Francia)

Poster

“Antioxidant activity in raw and processed cowpeas (*Vigna sinensis* L. var. carilla)”.

R. Doblado, J. Frías y C. Vidal-Valverde.

“Fermentation as a process to improve the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris*”.

M. Granito, A. Torres, J. Frías, G. Álvarez, C. Vidal-Valverde y M. Guerra.

“Antioxidant activity in raw and processed lupines (*L.albus* L. var. multolupa)”.

M.L. Miranda, J. Frías y C. Vidal-Valverde.

The Future of the Sheep and Goat Dairy Sectors. Zaragoza (España)

Poster

“Effect of goat csns₁ (alpha s₁-casein) locus on somatic cell count”.

P. Agüera, M. Amills, L. Amigo, B. Urrutia, A. Sánchez, J. L. Ares, y J. Serradilla.

“Bioactive peptides in cheeses made from ewe’s, goat’s and cow’s milk”.

J. A Gómez, G. Taborda, L. Amigo, I. Recio y M. Ramos.

“Identification of ACE-inhibitory peptides from commercial Kefir made from caprine milk”

A Quirós, B. Hernández-Ledesma, L. Amigo, M. Ramos e I. Recio.

12th International Biotechnology Symposium and Exhibition. Santiago, (Chile)

Poster

“Ionic exchange chromatography of large proteins using poorly activated supports: application for the purification of thermophilic multimeric enzymes from *Thermus sp.T2* expressed in *Escherichia coli*”.

R. Torres, B. Pessela, C. Mateo, M. Fuentes, M. Filho, A.V. Carrascosa, A. Vian, J.M. Guisán and R. Fernández-Lafuente.

XXII Internacional Conference on Polyphenols. Helsinki (Finlandia)

Posters

“Proanthocyanidin composition of the dark seed coat of legumes”.
M. Dueñas, I. Estrella, T. Hernández.

“Enhancement of the polyphenol content and antioxidant activity of lupin (*Lupinus angustifolius* L.) by germination”.
T. Hernández, I. Estrella, M. Dueñas, M. L. Fernández.

“Analysis of non-anthocyanin phenolic compounds in red wines by HPLC-DAD/ESI-MS”.
M. Monagas, R. Suárez, B. Bartolomé, C. Gómez-Cordovés.

“Role of yeast in wine colour during red winemaking”.
A. Morata, C. Gómez-Cordovés, B. Bartolomé, F. Calderón, B. Colomo, J.A. Suárez.

“Non-galloylated and galloylated procyanidin composition of *Vitis Vinifera* L. grape seeds”.
V. Nuñez, C. Gomez-Cordovés, B. Bartolomé, Y.J. Hong, A. Mitchell.

“Purification of grape pomace extracts by ultra and nano filtration. Incidence on their phenolic composition”.
M. Prodanov, V. Vacas, M.D. Fernández, T. Hernández.

9th International Food Allergy Symposium. Budapest (Hungría)

Poster

“Study on β -lactoglobulin hydrolysed by the combined use of high pressure and proteolysis”.
R. Chicón, J.Belloque, E. Alonso, R. López-Fandiño.

14th International Symposium on Capillary Electroseparation Techniques. Roma (Italia)

Posters

“Rosemary extracts obtained by accelerated solvent extraction and analyzed by capillary electrophoresis-mass spectrometry”.
M. Herrero, D. Arráez-Román, A. Segura, E. Kenndler, B. Gius, M.A. Raggi, E. Ibáñez, A. Cifuentes.

“Characterization of proteins from microalga by capillary electrophoresis-mass spectrometry”.
M. Herrero, C. Simó, E. Kenndler, E. Ibáñez, A. Cifuentes.

“Simultaneous and sensitive detection of three food-borne pathogens by multiplex PCR-CGE-LIF”. (Premio al mejor póster del congreso)

V. García-Cañas, B. Alarcón, R. González, R. Aznar, A. Cifuentes.

"Sensitive and simultaneous analysis of five transgenic maizes using multiplex PCR, capillary gel electrophoresis and laser induced fluorescence".

V. García-Cañas, R. González, A. Cifuentes.

"Detection and quantitation of a bioactive compound in vicia narbonensis L. seeds by capillary electrophoresis-mass spectrometry. a comparative study with uv detection".

C. Simó, M. Arias, L.T. Ortiz, M. Mozos-Pascual, C. Barbas, A. Cifuentes.

25th International Symposium on Chromatography, Paris (Francia)

Poster

"Sensitive detection of pesticides in fruits by off-line solid-phase microextraction and capillary electrophoresis-mass spectrometry".

J. Hernández-Borges, S. Frías, M.A. Rodríguez-Delgado, F.J. García-Montelongo, A. Cifuentes.

3rd International Symposium of Egg Nutrition for Health Promotion. Alberta (Canadá)

Posters

"Effect different angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides obtained from egg white proteins in hypertensive and normotensive rats".

A. Aleixandre, M. Miguel, Ramos, R. López-Fandiño.

"Angiotensin I converting enzyme inhibitors derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis".

M. Miguel, I. Recio, A. Aleixandre, M. Ramos, R. López-Fandiño.

17th International Symposium on Microscale Separations and Capillary Electrophoresis, Salzburg (Austria)

Comunicación Oral (* indica ponente)

"CE for monitoring different compounds with interest in diabetes control".

B. Baena, N. Maeso, A. Cifuentes, C. Barbas*.

6th International Symposium on Supercritical Fluids. Trieste (Italia).

Posters

“Solubility of carnosic acid in supercritical CO₂ + ethanol as a modifier: measurements and thermodynamic modelling”.

A. Cháfer, T. Fornari, A. Berna, F. J. Señoráns, E. Ibañez, G. Reglero.

“Supercritical fluid extraction of microalgae *Spirulina platensis*. chemo-functional characterization”.

J.A. Mendiola, F.J. Señoráns, E. Ibañez, L. Jaime, G. Reglero.

11th International Symposium on Supercritical Fluid Chromatography, Extraction, and Processing. Pittsburg, PA, (USA).

Poster

“Subcritical water extraction of antioxidants from rosemary”.

A. Kubátová, F.J. Señoráns, S. Cavero, G. Reglero, E. Ibañez, S.B. Hawthorne.

4 Internacional Workshop on Antinutritional Factors Factors in Legume Seeds and Oilseeds. Toledo (España).

Poster

“Effects of exogenous enzymes on the content of bioactive compounds in lentils and peas”.

M. Dueñas, T. Hernández, I. Estrella.

X LACE-2004 (10th Latin-american Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology), Toledo (España).

Posters

“Analysis of phenolics acids by co-electroosmotic capillary electrophoresis using a new physically adsorbed coating”.

A. Carrasco, S. Cortacero, A. Segura, A. Cifuentes, A. Fernández-Gutiérrez.

“Five transgenic maizes detected in a single run using multiplex pcr and capillary gel electrophoresis with laser induced fluorescence”.

V. García-Cañas, R. González, A. Cifuentes.

“Multiplex PCR methods and capillary gel electrophoresis-laser induced fluorescence for microbiological analysis of foods”.

V. García-Cañas, R. González, R. Aznar, A. Cifuentes.

“Analysis of phycobiliproteins from spirulina platensis microalga by capillary electrophoresis-mass spectrometry”.

M. Herrero, C. Simó, E. Kenndler, E. Ibáñez, A. Cifuentes.

“A new physically adsorbed coating for the electrophoretic determination of amines and aminoacids derivatized with FITC in beer”.

M.L. Romero, S. Cortacero, A. Segura, A. Cifuentes, A. Fernández-Gutiérrez.

“Enantiomeric determination of amino acids in foods by capillary electrophoresis-mass spectrometry”.

C. Simó, A. Rizzi, C. Barbas, A. Cifuentes.

“Capillary electrophoresis with uv and mass spectrometry detection to characterize and quantitate a bioactive compound in Vicia narbonensis l. seeds”.

C. Simó, M. Arias, L.T. Ortiz, M. Mozos-Pascual, C. Barbas, A. Cifuentes.

“Study of protein fingerprints of two species of Staphylococcus using capillary electrophoresis with on-capillary derivatization and laser-induced fluorescence detection”.

M.T. Veledo, R. Gonzalez, M. de Frutos, J.C. Diez-Masa.

4th Scientific Meeting of the Spanish Society of Chromatography and Related Techniques. Madrid. (España).

Comunicaciones orales (* indica el ponente)

“Exploiting benefits from capillary gel electrophoresis-laser induced fluorescence (CGE-LIF) and multiplex PCR methods in food analysis”.

V. García-Cañas*, R. González, R. Aznar, A. Cifuentes.

“HPLC-dad and antioxidant characterization of microalgae *spirulina platensis* supercritical fluid extracts”.

J.A. Mendiola*, F.J. Señoráns, E. Ibáñez, L. Jaime, G. Reglero.

“Isolation of functional compounds by SFC”.

P. Ramírez*, M. Rodríguez García-Risco, E. Ibáñez, G. Reglero.

“Separation techniques to evaluate an animal model of oxidative stress”.

F.J. Rupérez, D. García, N. Maeso, B. Baena*; A. García, A. Cifuentes, C. Barbas.

“Chiral capillary electrophoresis-mass spectrometry of amino acids in foods”.

C. Simó*, A. Rizzi, C. Barbas, A. Cifuentes.

Posters

“Assessment by Gas Chromatography of red wine polysaccharide evolution during aging on lees”.

D. Carlavilla, E. Pueyo, M. Villamiel, M.C. Polo, y M.V. Moreno-Arribas.

“Effect of high pressure on the peptide pattern of lactoglobulin treated with trypsin”.

R. Chicón, J. Belloque, R. López-Fandiño.

“SPME optimization in summer truffle aroma”.

P. Díaz, E. Ibáñez, F.J. Señoráns, G. Reglero.

“Supercritical fluid extraction of antioxidant compounds from oregano. chemical characterization by GC-MS and LC-DAD-MS”.

M.R. García-Risco, S. Cavero, F. Marin, F.J. Señoráns, G. Reglero, E. Ibáñez.

“Solid-phase microextraction and sample stacking-capillary electrophoresis for highly sensitive analysis of pesticides”.

J. Hernández-Borges, A. Cifuentes, M.A. Rodríguez-Delgado, F.J. García-Montelongo.

“Identification by HPLC-MS/MS of antioxidant peptides released from hydrolysates of β -lactoglobulin with corolase”.

B. Hernández-Ledesma, A. Dávalos, B. Bartolomé, L. Amigo.

“Application of HPLC-MS/MS to the characterization of ACE.inhibitory and antioxidant peptides from human milk and infant formulas hydrolysed under simulated gastrointestinal conditions”.

B. Hernández-Ledesma, A. Quirós, I. Recio, L. Amigo.

“Capillary electrophoresis-mass spectrometry of rosemary extracts obtained by accelerated solvent extraction”.

M. Herrero, D. Arraez-Román, Segura, E. Kenndler, B. Gius, M.A. Raggi, E. Ibañez, A. Cifuentes.

“Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga”.

M. Herrero, P.J. Martín, F.J. Señoráns, A. Cifuentes, E. Ibáñez.

“Separation and characterization of antioxidants obtained using accelerated solvent extraction from microalgae *Spirulina platensis* combining TLC with capillary electrophoresis”.

L. Jaime, M. Herrero, F.J. Señoráns, A. Cifuentes, E. Ibáñez.

“Combining TLC with capillary electrophoresis for separation and characterization of antioxidants found in accelerated solvent extracts from *Spirulina platensis* microalgae”.

L. Jaime, M. Herrero, F. J. Señoráns, A. Cifuentes, E. Ibáñez.

“Assessment of β -lactoglobulin glycosylation with dextran by different analytical methods”.

L. Jiménez-Castaño, M. Villamiel, A. Olano y R. López-Fandiño.

“Isolation and characterization of antimicrobial peptides from bovine κ -casein by HPLC and HPLC-MS”.

I. López-Expósito, F. Minervini, L. Amigo, I. Recio.

“Gas chromatographic determination of mono and disaccharides in infant formula”.

V. Morales, A. Olano, C. Martínez-Fierro y N. Corzo.

“Determination of 2-furoylmethyl derivatives and maltulose as quality indicators in cereal-based foods”.

M. Rada-Mendoza, J.L. García-Baños, A. Olano y M. Villamiel.

“Isolation of squalene by combining countercurrent supercritical fluid extraction (CC-SFE) and preparative supercritical fluid chromatography (prep-SFC)”.

L. Vazquez, A. Ruiz-Rodriguez, M.R. García-Risco, E. Ibañez, G. Reglero, F.J. Señorans.

“Protein fingerprinting of staphylococcus species by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection”. (Premio al mejor póster del congreso).

M.T. Veledo, R. Gonzalez, M. de Frutos, J.C. Diez-Masa.

6th International Symposium on Supercritical Fluids. Trieste (Italia).

Posters

“Supercritical fluid extraction of microalgae *spirulina platensis*. chemo-functional characterization”.

J.A. Mendiola, F.J. Señoráns, E. Ibañez, L. Jaime, G. Reglero.

“Solubility of carnosic acid in supercritical CO₂ + ethanol as a modifier: measurements and thermodynamic modelling”.

A. Cháfer, T. Fornari, A. Berna, F.J. Señorans, E. Ibañez, G. Reglero.

II Simposio Argentino-italiano de Bacterias Lácticas. Tucumán (Argentina)

Comunicación oral

“Capacidad de *Lactobacillus hilgardii* para metabolizar compuestos fenólicos”.

M.R. Alberto, C. Gómez-Cordovés, M.C. Manca de Nadra.

III Simposio Iberoamericano de Quitina. Córdoba (Argentina)

Poster

“Selective interaction between glycomacropeptide and chitosan”.
E. Casal, F.J. Moreno, N. Corzo, A. Olano.

XXVIII Welkongress für Rebe und Wein, Viena (Austria)

Posters

“La variedad influye en la evolución de los antocianos y piranoantocianos durante el envejecimiento en botella de los vinos”.
M. Monagas, B. Bartolomé, C. Gómez-Cordovés.

“Influencia de la cepa de levadura en la formación de vitisinas A y B durante la fermentación de vinos tintos”.
A. Morata, C. Gómez-Cordoves, F. Calderón, B. Bartolomé, J.A. Suárez.

“Adsorción de antocianos por paredes celulares de *Saccharomyces* durante la vinificación en tinto”.
A. Morata, C. Gómez-Cordovés, F. Calderón, B. Bartolomé, J.A. Suárez.

“Composición fenólica de vinos tintos de *Vitis Vinifera* L. cv Merlot de las añadas comprendidas entre 1997 y 2001”.
R. Suárez, M. Monagas, B. Bartolomé, C. Gómez-Cordovés.

IV Foro Mundial del Vino. “Rioja III Milenio”. Logroño (España)

Comunicación oral

“Implicaciones metabólicas de las levaduras en la formación de pigmentos estables en vinos tintos”.
A. Morata, F. Calderón, C. Gómez-Cordovés, M.C. González, B. Colomo, J.A. Suárez.

Comunicación oral y Poster

“Aminas biógenas y control de la fermentación maloláctica en vinos tintos”.
M.V. Moreno-Arribas, I. López, M.L. Valderrama, C. Torres, M.C. Polo, F. Ruiz- Larrea.

CONGRESOS NACIONALES

2ª Reunión Bienal del Grupo Especializado de Resonancia magnética Nuclear (GERMN) de la Real sociedad Española de Química (RSEQ) Santiago de Compostela (España).

Posters

“Modificación de la β -lactoglobulina por la acción de las altas presiones a pH neutro y ácido”.

J. Belloque, R. Chicón, R. López-Fandiño.

“Actividad inhibidora de la enzima convertidora de la angiotensina y estructura del péptido Asp-Lys-Ile-His-Pro (β -CN f[47-51])”.

J. A. Gómez-Ruiz, I. Recio, J. Belloque.

X Congreso Anual de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Madrid.

Posters

“Obtención de cepas de levaduras de segunda fermentación de vinos espumosos mejorados genéticamente”.

L. Tabera, R. Muñoz, R. González.

“Estudio de la capacidad para producir fenoles volátiles en bacterias lácticas aisladas de vinos”.

I. Vaquero, B. De las Rivas, A. Marcobal, R. Muñoz.

“Presencia de actividad tanasa en bacterias lácticas aisladas de vinos”.

I. Vaquero, A. Marcobal, R. Muñoz.

X Congreso Nacional de Enólogos. Valencia (España)

Posters

“Efecto de distintos componentes del vino en la producción de putrescina por una cepa de *Oenococcus oeni*”.

A. Marcobal, R. Muñoz, M.C. Polo, M.V. Moreno-Arribas.

“Comparación del perfil antociánico de *Vitis vinifera* L. cv. Merlot en envero y en vendimia”

R. Suárez, B. Bartolomé, C. Gómez-Cordovés.

XIV Congreso de Microbiología de los Alimentos de la SEM

Comunicación oral (* indica ponente)

“Bacterias lácticas iniciadoras de la fermentación maloláctica en vinos y producción de aminas biógenas”.

I. López, M.V. Moreno-Arribas, C. Polo, M.L. Valderrama, B. Rojo, C. Tenorio, M. Zarazaga, C. Torres *, F. Ruiz-Larrea.

**Congreso de la Sociedad Española de Biotecnología, BIOTEC' 2004.
Oviedo (España)**

Poster

“Producción de pepsina bovina recombinante para su aplicación en la industria alimentaria”.

R. Muñoz, J.L. García, A.V. Carrascosa, R. González.

Primera Reunión Científica de la Red de Bacterias Lácticas. Madrid España

Comunicacion oral

“Alteraciones de las calidad sanitaria y sensorial de los vinos por bacterias lácticas”.

A. Marcobal, B. De las Rivas, D. Carlavilla, M.C. Polo, M.V. Moreno-Arribas y R. Muñoz.

Primera Reunión Científica de la Red de Genómica Bacteriana. Granada (España)

Poster

“Diversidad alélica y estructura de la población de *Oenococcus oeni* obtenida a partir de análisis mediante MLST”.

B. De las Rivas, A. Marcobal, R. Muñoz.

Zymomadrid XVIII. Madrid

Comunicaciones orales

“BCY1 como diana para la mejora genética de cepas de segunda fermentación”.

L. Tabera, R. Muñoz, R. González.

ASISTENCIA A REUNIONES INTERNACIONALES

M.V. Moreno y C. Polo

Asistencia como experto de la Delegación Española a la 44ª Sesión de la Subcomisión de Métodos de Análisis y de Apreciación de los Vinos de la Organización Internacional de la Viña y del Vino (OIV), Paris.

M.D. Del Castillo

Asistencia como experto a Melanodins in Food and Health. Cost Action 919. 9th Workshop and Final Meeting. Hamburgo (Alemania).

Presentación oral: "Potential health benefits of radical scavenging properties of coffee".

Asistencia como experto a Thermally Processed Foods: Possible health implications. Cost Action 927, Praga, República Checa.

ASISTENCIA A REUNIONES NACIONALES

M.V. Moreno

Asistencia a 1ª la Reunión de la Red Española de Bacterias Lácticas, celebrada en Madrid, del 17 al 19 de noviembre, financiada por la Acción especial del Ministerio de Educación y Ciencia AGL2002-11732-E (*Participación de las bacterias lácticas en la salud humana y calidad alimentaria*).

PATENTES

Concedidas y expedidas

Inventores: A.J. Martínez-Rodríguez, A.V. Carrascosa, J.M. Barcenilla, M.C. Polo.

Título: "Microorganismo de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, cepa CECT 1684 utilizable para la realización de la toma de espuma del cava y de otros vinos espumosos".

Nº de solicitud de la patente: 009902446.

Nº de publicación: 2 176 061

Entidad titular: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Fecha de concesión: 1 de febrero de 2004.

Inventores: A. Vián, A.V. Carrascosa, J.L. García-López.

Título: "Un procedimiento para producción de alfa-galactosidasa recombinante de *Thermus* sp.T2 en células hospedantes".

Nº de solicitud: 200000515.

Nº de publicación: 2172380.

Entidad titular: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Fecha de concesión: de junio de 2004.

Inventores: R. González, A. Martínez, A.V. Carrascosa.

Título: "Nuevas levaduras vinicas autolíticas termosensibles "*Saccharomyces cerevisiae*" y su método de obtención".

Nº de solicitud: 200102541

Nº de publicación: 2190370

Entidad titular: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Fecha de concesión: 18 de octubre de 2004.

Solicitadas

Inventor: A. V. Carrascosa.

Título: "Obtención de etanol en condiciones de alta presión osmótica mediante *Schizosaccharomyces pombe* (CECT 12775)".

Nº de solicitud de la patente: 200402882.

Solicitante: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Fecha de presentación: 30 de noviembre de 2004.

* En trámites de transferencia *Empresa:* TOMSA DESTIL S.L.

Inventores: R. Muñoz, B. de las Rivas, A. Marcobal y A. V. Carrascosa.

Título: "Detección de bacterias lácticas productoras de aminas biógenas mediante PCR".

Nº de solicitud de la patente: 200402314.

Solicitante: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Fecha de presentación: 29 de septiembre de 2004.

Inventores: G. Reglero, P. Frial, F.J. Señorans, E. Ibáñez, S. Santoyo, C. Torres, L. Jaime, C. Soler, M.R. García-Risco, F. Marín. A. Ruiz Rodríguez.

Título: “Mezcla oleosa de ingredientes bioactivos naturales para la preparación de un producto alimenticio enriquecido”

Nº de Solicitud: 200402755.

Solicitantes: Universidad Autónoma de Madrid y Embutidos Frial, S.A.

Fecha de Presentación: 2004.

Inventores: M. Miguel, R. López-Fandiño, I. Recio, M. Ramos, M.A. Aleixandre

Título: “Péptidos bioactivos derivados de proteínas de la clara de huevo mediante hidrólisis enzimática”.

Nº de Solicitud Internacional: PCT/ES2004/070059.

Solicitante: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Fecha de Presentación: 23 de julio de 2004.

Inventor: A V. Carrascosa

Título: “Obtención de etanol en condiciones de alta presión osmótica mediante *Saccharomyces pombe* (CECT 12775)”.

Numero de solicitud: 200402314.

Solicitante: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Fecha de presentación: 30 de noviembre de 2004.

Inventores: J. J. Tabera Galván, A. Ruiz Rodríguez, F. J. Señorans Rodríguez, E. Ibáñez Ezequiel, G. J. Reglero Rada, T. Albi Virella, A. Lanzon Rey, M. C. Pérez Camino, M. A. Guinda Garín y M. Rada Rada

Título: “Procedimiento para obtener compuestos de alto valor añadido a partir de hoja de olivo”.

Numero de solicitud: 200400293.

Solicitantes: Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Universidad Autónoma de Madrid.

Fecha de presentación: 9 de febrero de 2004.

PREMIOS

Premio Extraordinario de Doctorado, concedido por la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, para las Tesis defendidas durante el curso académico 2002-2003.

B. Hernández.

“Caracterización y bioactividad de péptidos obtenidos a partir de proteínas lácteas mediante hidrólisis enzimática y procesos fermentativos”.

Premio ITP, al mejor trabajo presentado en el 14th International Symposium on Capillary Electroseparation Tecniques, Roma (Italia).

V. García-Cañas, B. Alarcón, R. González, R. Aznar y A. Cifuentes.

“Simultaneous and sensitive detection of three food-bome pathogens by multiplex PCR-CGE-LIF”.

Premio al mejor póster presentado en el 4th Meeting of the Spanish Society of Chromatography and Related Techniques, Madrid (España).

M.T. Veledo, R. Gonzalez, M. de Frutos, J.C Diez-Masa.

“Protein fingerprinting of staphylococcus species by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection”.

INVESTIGADORES Y TÉCNICOS DE OTROS ORGANISMOS QUE HAN REALIZADO ESTANCIAS CORTAS EN EL INSTITUTO.

Dr. Mario Aranda Bustos.
Universidad de Concepción Chile.
Enero 2004 - Octubre 2004.

Prof. Vincenzo Fogliano.
Università degli Studi de Napoli "Federico II".
Junio 2004.

Professor Josef Fornal
Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy
Sciences. Olstzyn (Polonia).
Julio 2004.

Dra. Wioletta Blaszcak.
Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy
Sciences. Olstzyn (Polonia).
Julio 2004.

Dr. Mariusz Piskula.
Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy
Sciences. Olstzyn (Polonia).
Septiembre 2004.

Dr. Henry K. Zielinski.
Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy
Sciences. Olstzyn (Polonia)
Septiembre 2004.

Dra. Jadwiga Sadowska.
Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy
Sciences. Olstzyn (Polonia).
Septiembre 2004.

Dra. Halina Kozłowska.
Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy
Sciences. Olstzyn (Polonia).
Septiembre 2004.

Dra. Bertha Olivia Arredondo.
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). (Méjico).
Septiembre 2004.

Dr. Alejandro Romero.
Instituto de Ciencia y Tecnología de los alimentos (ICYTAL). Valdivia. (Chile).
Septiembre 2004.

Professor Ernst Kenndler.
Institute for Analytical Chemistry. Universidad de Viena. (Austria).
Noviembre de 2004.

Dra. Carmen García Ruiz.
Universidad de Alcalá de Henares.
Noviembre 2004.

ALUMNOS DE DOCTORADO, DE OTRAS INSTITUCIONES QUE HAN REALIZADO ESTANCIAS CORTAS EN EL INSTITUTO.

M^a del Carmen Fajardo.
Becaria del Instituto Madrileño de Investigación Agraria y Alimentaria (IMIA)
Madrid.
Enero 2004 - Marzo 2004.

Marina Arias Royo
Becaria del INIA. Centro de Investigación Agraria de Albaladejito. Cuenca.
Marzo 2004 - Abril 2004.

Paloma Chouciño Vilela.
Instituto de productos Lácteos de Asturias (IPLA). Villaviciosa. Asturias.
Julio 2004.

Javier Hernández Borges.
Becario de la Universidad de La Laguna. Tenerife.
Septiembre 2004 - Diciembre 2004.

Ana Valeria Colnaghi Simionato.
Becaria del Instituto de Química de Sao Carlos. Universidad de Sao Paulo
(Brasil).
Noviembre 2004.

ALUMNOS DE LICENCIATURA Y DE MASTERS.

Cristina Martinez Fierro
Licenciada en Ciencias Químicas.
Enero 2004 - Diciembre 2004.

Antonella Ferrigno
Becaria Erasmus. Universidad degli Studi di Napoli "Federico II".
Octubre 2004 - Diciembre 2004.

Iolanda Acampa.
Becaria Erasmus. Universidad degli Studi di Napoli "Federico II".
Octubre 2004 - Diciembre 2004.

ALUMNOS DE EDUCACIÓN SECUNDARIA, EN PRÁCTICAS.

Ciclo Formativo Grado Superior. Instituto de Educación Secundaria "Virgen de la Paloma".

Marzo 2004 - Junio 2004.

Isabel Herranz Fernández
Diana Retana Fernández
Susana de Val Pajón
Miguel Angel Valencia Jiménez

Ciclo Formativo Grado Medio. Instituto de Educación Secundaria "Virgen de la Paloma".

Octubre 2004 - Diciembre 2004.

Rebeca Alonso Diaz
Sandra Artaloytia Manrique
Victor Velásquez Liebana

Ciclo Formativo Grado Superior. Instituto de Educación Secundaria "Escuela de la Vid e Industrias Lácteas".

Abril 2004 - Junio 2004.

Patricia de Torres Cabezudo
Alicia García de Castro

PARTICIPACIÓN EN COMITÉS CIENTÍFICOS INTERNACIONALES.

A. Cifuentes

Miembro del “Scientific committee” del IV Scientific Meeting of the Spanish Society of Chromatography and Related Techniques.

Miembro del “Scientific committee” del LACE 2004; 10th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical, and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology.

E. Ibáñez

Miembro del comité organizador de la IV Reunión de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA). Madrid, 5-7 octubre 2004.

CHAIRMAN DE SESIONES DE CONGRESOS INTERNACIONALES.

A. Cifuentes

Chairman de la sesión “Food analysis”. 4th Scientific Meeting of the Spanish Society of Chromatography and Related Techniques, Madrid.

Chairman de la sesión “Micro and nanofluidic chips for separation applications”. 4th Scientific Meeting of the Spanish Society of Chromatography and Related Techniques, Madrid.

E. Ibáñez

Chairman del 4th Scientific Meeting of the Spanish Society of Chromatography and Related Techniques, Madrid.

PARTICIPACIÓN EN COMITÉS EDITORIALES.

A. Cifuentes, E. Ibáñez

Miembros del Comité Editorial de la revista “Cromatografía y Técnicas Afines” de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA).