



## **Instituto de Fermentaciones Industriales**

c/Juan de la Cierva, 3  
Madrid-28006 (España)  
Teléfono: +34-915622900  
Fax: +34-915644853



## **MEMORIA DE LA LABOR REALIZADA DURANTE EL AÑO 2005**

|   | Pág.     |
|---|----------|
| <b>ÍNDICE</b>   | <b>2</b> |
| <b>I.- INTRODUCCIÓN</b>   | <b>5</b> |
| <b>II.- ESTRUCTURA Y PERSONAL</b>   |          |
| Presentación  | 7        |
| Organigrama   | 8        |
| Personal  | 9        |
| Líneas de Investigación   | 12       |
| Técnicas instrumentales de investigación  | 13       |
| Departamentos y unidades de apoyo:  |          |
| Departamento de Caracterización de Alimentos  | 14       |
| Departamento de Microbiología   | 21       |
| Departamento de Tecnologías Sectoriales   | 25       |
| Gerencia y Unidad Asociada  | 30       |
| <b>III.- ACTIVIDAD INVESTIGADORA</b>  |          |
| Proyectos financiados por la Unión Europea  | 32       |
| Proyectos financiados por Programas Nacionales  | 34       |
| Proyectos financiados por la Comunidad de Madrid  | 49       |
| Proyectos financiados por el CSIC   | 50       |
| Proyectos financiados por el Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA) | 55       |
| Acciones concertadas  | 56       |
| Acciones integradas   | 56       |
| Proyectos de Cooperación con Iberoamérica   | 57       |
| Colaboración en otros Proyectos de otros Centros  | 58       |
| Investigación contratada  | 60       |
| Informes técnicos   | 60       |
| Publicaciones   | 61       |
| <b>IV.- FORMACIÓN ACADÉMICA</b>   |          |
| Tesis Doctorales  | 116      |
| Diplomas de Estudios Avanzados  | 117      |
| Proyectos de Fin de Carrera   | 119      |
| Cursos impartidos   | 120      |
| Seminarios del Instituto  | 123      |
| <b>V.- OTRAS ACTIVIDADES</b>  |          |
| Conferencias invitadas Internacionales  | 125      |
| Conferencias invitadas Nacionales   | 128      |
| Participación en Congresos Internacionales  | 129      |
| Participación en Congresos Nacionales   | 136      |
| Asistencia a Reuniones Internacionales  | 140      |

|   |            |
|---|------------|
| <b>Patentes</b>                               | <b>141</b> |
| <b>Premios</b>                                | <b>143</b> |
| <b>Estancias de personas de otros Centros</b> | <b>144</b> |
| <b>Participación en Comités Científicos</b>   | <b>146</b> |
| <b>Chairman de sesiones de Congresos</b>      | <b>146</b> |
| <b>Participación en Comités Editoriales</b>   | <b>148</b> |

## **I. INTRODUCCIÓN**

## I. INTRODUCCIÓN

Esta Memoria recoge la actividad científica, en sus principales facetas de investigación, formación y divulgación, que se ha llevado a cabo en el Instituto de Fermentaciones Industriales en el año 2005, año especialmente complejo por la elaboración del Plan Estratégico del Instituto para el periodo 2005-2009.

La investigación científica, primera actividad de nuestro Instituto, se ha visto incrementada, un año más, en lo que respecta a los logros y realizaciones de años anteriores. Hay que destacar que la participación de los investigadores en Proyectos Europeos ha aumentado. La cifra total de Proyectos, la mayoría liderados por investigadores de nuestro Instituto, ha sido de 49, de ellos 29 son proyectos subvencionados por el Ministerio, a los que hay que añadir 1 proyecto más financiado por la Comunidad de Madrid y 6 por el CSIC.

Los resultados conseguidos se han reflejado en la publicación de 114 artículos y capítulos de libros así como en la presentación de numerosas conferencias y comunicaciones en Congresos.

La formación, que es la segunda actividad del Instituto en cuanto a dedicación tanto de personal, como de medios y tiempo, presenta varios aspectos. Uno, la formación de doctores, habiéndose defendido nueve Tesis Doctorales y presentado siete Diplomas de Estudios Avanzados y un Proyecto Final de Carrera. Dos, la formación de especialistas en Ciencia y Tecnología de los Alimentos mediante la impartición de diferentes Cursos de doctorado, Cursos de Especialización y del Gabinete de Formación como el Curso de Análisis Sensorial, que se impartió por segundo año consecutivo. Tres, la formación, que año tras año adquieren en el Instituto alumnos de Educación Secundaria del I.E.S. "Virgen de la Paloma" y "Escuela de la Vid e Industrias Lácteas" y licenciados y Doctores (en número aproximado de 35) que desean ampliar su formación aprendiendo todo tipo de técnicas. El año 2005 se suscribió un convenio con la Asociación de Alumnos de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ALCYTA).

La tercera actividad corresponde a la divulgación científica, habiendo participado, como en ediciones anteriores en la Semana de la Ciencia y en diversas actividades de divulgación.

Se ha incorporado a la plantilla del Instituto el Sr. Sergio Robredo como Titulado de Grado Medio, si bien ha causado baja por jubilación la Sra. M<sup>a</sup> Jesús Martín Sánchez. La Dra. M<sup>a</sup> Luisa Ruiz del Castillo obtuvo, por oposición, una plaza de Científico Titular del CSIC y la Dra. Juana Frías superó el Concurso de acceso a la Escala de Investigadores Científicos del CSIC.

Por último, dar la enhorabuena a todo el personal del Instituto pues gracias a su esfuerzo y dedicación el Instituto ha conseguido el 100 por 100 de la Productividad por Cumplimiento de Objetivos.

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:

Director: Dra. Lourdes Amigo Garrido  
Vicedirector: Dra. Juana Frías Arevalillo  
Gerente: 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, M. Dolores      | CT               | Caracterización de Alimentos                    |
| Estrella Pedrola, M. Isabel          | IC               | Tecnologías Sectoriales                         |
| Frías Arevalillo, Juana              | IC               | Tecnologías Sectoriales                         |
| Gómez-Cordovés de la Vega, 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                    |
| Ruiz del Castillo, Mª Luisa          | CT               | Tecnologías Sectoriales<br>(ingreso 15/06/2005) |
| 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>                           |
|-------------------------------|------------------|---|
| Manso Silván, M. Asunción     | DC               | Caracterización de Alimentos                  |
| Martínez Rodríguez, Adolfo J. | DC               | Caracterización de Alimentos                  |
| Moreno Andujar, Francisco J.  | DC               | Caracterización de Alimentos                  |
| Ruiz del Castillo, Mª Luisa   | DC               | Tecnologías Sectoriales<br>(hasta 15/06/2005) |

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   |
| Craus Hernández, Joaquín        | Ayl              | Caracterización de Alimentos                       |
| 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<br>(jubilación 07/01/2005) |
| Medina Martínez, Ricardo        | Lab              | Tecnologías Sectoriales                            |
| Montilla Corredera, Antonia     | TSE              | 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                       |
| Robredo Brúces, Sergio          | TEGM             | Gerencia<br>(a partir de 15/04/2005)               |
| 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>                                      |
|---------------------------------------|------------------|--|
| Bravo Vázquez, Francisca              | TS               | Caracterización de Alimentos<br>(a partir de 08/06/2005) |
| Cabrera Cantón, Raquel                | TT               | Microbiología<br>(hasta 31/07/2005)                      |
| Cebollero Presmanes, Eduardo          | TS               | Microbiología<br>(a partir de 01/08/2005)                |
| Chaparro Ronda, Carolina              | TT               | Tecnologías Sectoriales                                  |
| Contreras López, Nieves               | TT               | Tecnologías Sectoriales<br>(a partir de 01/09/2005)      |
| De las Rivas González del Rey, Blanca | TS               | Microbiología<br>(a partir de 01/09/2005)                |
| García Fernández, M. Gracia           | TT               | Caracterización de Alimentos<br>(a partir de 08/06/2005) |

|                        |    |   |
|------------------------|----|---|
| Gómez Sanz, Alicia     | TT | Microbiología<br>(hasta 12/06/2005)                 |
| Larraz Zataraín, Elena | TS | Microbiología<br>(hasta 15/09/2005)                 |
| Martín Barragán, Helia | TT | Tecnologías Sectoriales<br>(a partir de 01/09/2005) |
| Pérez Romero, Antonio  | TS | Tecnologías Sectoriales<br>(a partir de 08/06/2005) |

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, M. Dolores     | 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> |
|-------------------------------|------------------|
| Manso Silván, M. Asunción     | DC               |
| Martínez Rodríguez, Adolfo J. | DC               |
| Moreno Andujar, Francisco J.  | DC               |

### **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              |
| Prado Gracia, J. Antonio del | Ayl              |
| Pueyo Pérez, Encarnación     | TSE              |
| Talavera Arboleda, Constanza | Ayl              |

### **Personal de Apoyo a la Investigación. Contratados:**

| <u>Apellidos y Nombre</u> | <u>Categoría</u> |
|---------------------------|------------------|
| Bravo Vázquez, Francisca  | TS               |

**Personal Becario. Postdoctoral:**

Apellidos y Nombre

Hernández Ledesma, Blanca  
Van de Lagemaat, Jürgen

**Personal Becario. Predoctoral:**

Apellidos y Nombre

Alcaide Hidalgo, Juan María  
Amigo Benavent, Miryam (a partir de 07/09/2005)  
Cardelle Cobas, Alejandra (a partir de 01/04/2005)  
Carlavilla Martínez, Davinia  
Casal Banchiella, Enriqueta (hasta 30/04/2005)  
Chicón Arias, Rosa María  
Contreras Gámez, M. Mar (a partir de 01/06/2005)  
Corzo Martínez, Marta (a partir de 01/07/2005 hasta 30/09/2005)  
De Jorge de la Hermosa, Gema (a partir de 01/10/2005)  
Fernández Lázaro, Diego  
Galisteo Ochaita, Juan  
Herrero Calleja, Miguel  
Iglesias Cristóbal, Teresa (hasta 31/08/2005)  
Jiménez Castaño, Laura M.  
López Expósito, Iván  
Mendiola León, José Antonio  
Miguel Castro, Marta (hasta 30/09/2005)  
Montañés Salcedo, Fernando Óscar (a partir de 04/08/2005)  
Morales Ruiz, M. del Valle  
Núñez Gutiérrez, Yolanda  
Quirós del Bosque, Ana  
Ramírez Calvo, Pilar  
Rodríguez Plaza, Pablo (hasta 30/09/2005)  
Rodríguez Meizoso, Irene (a partir de 01/10/2005)  
Silván Jiménez, José Manuel (a partir de 01/04/2005)  
Simó Ruiz, Carolina (hasta 30/11/2005)

**Personal Becario. Técnicos (FINNOVA):**

Apellidos y Nombre

Barroso Quirós, Francisco Javier (a partir de 16/06/2005)  
Rozados Alonso, Amaia (hasta 15/04/2005)

## **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 mediante el empleo de técnicas moleculares.**

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

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 la variedad de uva utilizada en la elaboración de los vinos. Con este objetivo se están realizando investigaciones en el IFI desde hace varios años sin que el tema esté totalmente resuelto. En la actualidad, en colaboración con otros investigadores del IFI, se están aplicando marcadores moleculares, basados en el análisis de ADN. En concreto se está realizando el análisis de microsatélites para la identificación varietal de mostos y vinos monovarietales.

### **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 las actividades antihipertensiva, 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.

### **Biotecnología 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 lado, se están estudiando otras rutas metabólicas de interés desde el punto de vista organoléptico y tecnológico, como son las implicadas en el catabolismo de compuestos nitrogenados, aminoácidos, péptidos y proteínas. Asimismo, en colaboración con investigadores del Dpto. de Tecnologías Sectoriales, se pretende conocer el efecto que tienen los compuestos fenólicos sobre el crecimiento y metabolismo de las bacterias lácticas en el vino, para dilucidar hasta qué punto intervienen en el proceso de fermentación maloláctica, y evaluar el potencial uso de extractos fenólicos con actividad antimicrobiana frente a bacterias lácticas, como nuevos aditivos *naturales* durante la vinificación.

### **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 y glicoproteínas.**

Investigadores responsables: A. Olano, N. Corzo, R. López-Fandiño, M. Villamiel, M.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 soja, proteínas de huevo y beta-lactoglobulina. Asimismo se persigue la obtención de glicoproteínas vía enzimática, partiendo de proteínas de origen vegetal. Se pretende caracterizar los productos obtenidos en los diferentes procesos ensayados así como determinar las modificaciones en las propiedades funcionales debidas a la glicosilación.

### **Síntesis enzimática de carbohidratos prebióticos.**

Investigadores responsables: A. Olano, N. Corzo, M. Villamiel.

En esta línea se estudian procesos de obtención, aislamiento y caracterización de oligosacáridos prebióticos derivados de la lactosa. En una primera fase se pretende obtener galactooligosacáridos mediante transglicosilación utilizando lactasas comerciales de diferente origen (*Kluyveromyces fragilis* y *Aspergillus oryzae*). Las mezclas de oligosacáridos obtenidas se fraccionan bien mediante métodos clásicos bien mediante la aplicación con dióxido de carbono en estado supercrítico para, posteriormente caracterizar los compuestos formados mediante RMN, entre otras técnicas de análisis estructural. Los galactooligosacáridos resultantes se someten a isomerización en medio básico para obtener el correspondiente galactooligosacárido derivado de la lactulosa, con el fin de aislarlo y caracterizarlo.

### **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 péptidos derivados de proteínas alimentarias lácteas y de huevo o productos fermentados, como leche y queso, 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, M.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- $\beta$ -carbolinas y  $\beta$ -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.

**Digestibilidad, absorción gastrointestinal e inmunogenicidad de proteínas vegetales de alto valor añadido.**

Investigadores responsables: F.J. Moreno, M.D. del Castillo.

Se estudia el efecto de la glicosilación sobre la digestibilidad, absorción e inmunogenicidad de las 2S albúmina y 7S globulina procedentes de nuez de nogal (*Juglans regia*) y soja (*Glycine max*), respectivamente, teniendo en cuenta su presencia creciente en alimentos de elevado consumo en los países europeos y dado que su alergenicidad constituye un problema de seguridad alimentaria en la actualidad. Estos alérgenos son resistentes a procesos económicamente factibles y habituales en la industria alimentaria tales como el tratamiento térmico. En este sentido, la glicosilación podría ofrecer una vía alternativa para la obtención de proteínas hipoalergénicas de valor añadido. La digestibilidad y absorción de las proteínas puede verse afectada como consecuencia del cambio estructural causado por la glicosilación modificando a su vez la respuesta inmune. Se obtendrá información relativa a estas propiedades de los alérgenos 2S albúmina y 7S globulina, así como de sus productos de digestión y absorción gastrointestinal utilizando modelos *in vitro*. Los datos de estructura-función podrían ayudar a la mejor comprensión del efecto alergénico de otras proteínas de estructura afín y cómo la presencia de azúcares de naturaleza distinta en la estructura de proteínas glicosiladas y/o glicoproteínas influye en su respuesta inmune.

**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 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. Contratado**

| <u>Apellidos y Nombre</u>   | <u>Categoría</u> |
|---|------------------|
| Cabrera Cantón, Raquel (hasta 31/07/05)                           | TT               |
| Cebollero Presmanes, Eduardo<br>(a partir de 01/08/2005)          | TS               |
| De las Rivas González del Rey, Blanca<br>(a partir de 01/09/2005) | TS               |
| Gómez Sanz, Alicia (hasta 12/06/2005)                             | TT               |
| Larraz Zatarain, Elena (hasta 07/10/2005)                         | TS               |

### **Personal Becario. Predoctoral:**

| <u>Apellidos y Nombre</u>                             |
|---|
| Almeida Joao, Francisca Branca (hasta 01/05/2005)     |
| Cebollero Presmanes, Eduardo (hasta 31/07/2005)       |
| Curiel Gamiz, José Antonio (a partir 05/09/2005)      |
| Filho, Miguel Joao Manuel                             |
| González Ramos, Daniel                                |
| Grazú Bonavia, María Valeria                          |
| Marcobal Barranco, Ángela (hasta 30/11/2005)          |
| Mejía Giraldo, Luis Fernando (a partir de 01/10/2005) |
| Montes Fernández, Tamara                              |
| Pinar González, María José (a partir de 01/07/2005)   |
| Rodríguez López, Hector                               |
| 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 autolisis 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 autolisis de una manera acelerada, ya que los compuestos producidos durante la autolisis 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 autolisis.

**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  | IC               |
| Gómez-Cordovés de la Vega, M. Carmen                             | IC               |
| Hernández García, M. Teresa                                      | CT               |
| Herraiz Carasa, Marta  | PI               |
| Ruiz del Castillo, M <sup>a</sup> Luisa (a partir de 15/06/2005) | CT               |
| 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 (hasta 15/06/2005) | DC               |

### **Personal de Apoyo a la Investigación. Funcionarios-Laborales:**

| <u>Apellidos y Nombre</u>                   | <u>Categoría</u> |
|---|------------------|
| Izquierdo Insua, M. Isabel                  | TEGM             |
| Martín Sánchez, M. Jesús (hasta 07/01/2005) | 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> |
|--|------------------|
| Contreras López, Nieves (a partir de 01/09/2005) | TT               |
| Chaparro Ronda, Carolina                         | TS               |
| Martín Barragán, Helia (a partir de 01/09/2005)  | TS               |
| Pérez Romero, Antonio (a partir de 08/06/2005)   | TS               |

**Personal Becario. Predoctoral:**

Apellidos y Nombre

Bustos Sánchez, Irene (a partir de 01/07/2005)  
Dado Ortiz, Diana (hasta 30/09/2005)  
Fernández Orozco, Rebeca  
Flores Monreal, Gema  
Garrido Lafuente, Ignacio (a partir de 01/01/2005)  
Gulewicz, Priotr (a partir de 01/06/2005)  
Martínez Villaluenga, Cristina  
Monagas Juan, María J. (hasta 31/08/2005)  
Núñez Morales, Verónica (hasta 30/06/2005)  
Prieto Álvaro, Maria (hasta 01/04/2005)  
Suárez Colomo, Rafael  
Torres de Ramírez, Alexia (hasta 12/08/2005)

**Personal Becario. Técnicos (FINNOVA):**

Apellidos y Nombre

Valencia Jiménez, Miguel Ángel (a partir de 01/07/2005)

## **LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN**

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

Investigadores responsables: M. Herraiz, G.P. Blanch, M.L. Ruiz del Castillo.

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. Herraiz, G. Santa-Maria.

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 pueden 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.**

Investigador responsable: M.C. Gómez-Cordovés, B. Bartolomé.

A partir de la composición fenólica (antociánica y no antociánica) se estudian factores como: variedad de uva, clones, tipo y edad del roble durante 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. Además, en colaboración con investigadores del Dpto. de Caracterización de Alimentos, se pretende conocer el efecto que tienen los polifenoles sobre el crecimiento y metabolismo de las bacterias lácticas en el vino, y evaluar el potencial uso de extractos fenólicos como aditivos antimicrobianos *naturales* durante la vinificación.

#### **Obtención de ingredientes antioxidantes (polifenoles) a partir de fuentes vegetales.**

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

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. En la actualidad, nuestro trabajo se centra en la almendra, tanto en el fruto como en los subproductos (cáscara, hueso y piel).

**Estudio de la bioactividad y biodisponibilidad de los Polifenoles.**

Investigadores responsables: M.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 evaluó 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.

**Estudio de metabolitos secundarios de germinados comerciales.**

Investigadores responsables: Dra. Vidal y J. Friás.

El consumo de germinados de semillas está aumentando considerablemente. Se pretende optimizar condiciones de germinación de diferentes semillas (soja verde, altramuz, alfalfa, sésamo, brócoli y rábano) en relación con el contenido en aminoácidos libres no proteicos, aminas biogénas y calidad higiénico-sanitaria. Se está aplicando procedimientos de higienización como altas presiones con objeto de aumentar la vida útil de las semillas germinadas.

## **GERENCIA**

**Gerente: José L. Andreu Martín**

**Personal:**

| <u>Apellidos y Nombre</u>                       | <u>Categoría</u> |
|---|------------------|
| Chueca Edo, Antonio                             | Ayl              |
| González Fernández, M. Ángeles                  | Adm              |
| López Marugán, Antonio                          | Aux. Adm.        |
| Luque Sánchez, José                             | Lab              |
| Robredo Brúces, Sergio (a partir de 15/04/2005) | TEGM             |

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

## **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.

**Investigador:** Dra. M.D. del Castillo

**Científico Responsable:** Dr. A. Olano.

**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 u otra fuente de proteínas.

**Título:** "Mannoproteins in food security".

**Referencia:** MERG-CT-2004-513472.

**Organismo financiador:** Unión Europea.

**Fecha:** Octubre 2004 - Septiembre 2005.

**Investigador:** Dr. A. Martínez.

**Científico Responsable:** Dra. C. Polo.

**Resumen:** Las manoproteínas de levadura podrían utilizarse para prevenir o reducir la colonización intestinal por parte de bacterias enteropatogénicas. 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:** “Food-Processing approaches to reduce allergenic potential of proteins”.

**Referencia:** MERG-CT-2004-011700.

**Organismo financiador:** Unión Europea.

**Fecha:** Junio 2005 - Mayo 2006.

**Investigador:** Dr. J. Moreno.

**Científico Responsable:** Dr. A. Olano.

**Resumen:** La incidencia de alergia a alimentos (alrededor de un 2% en adultos y hasta un 8% en niños), incluyendo los frutos secos, está aumentando rápidamente y es considerada como un serio problema de seguridad alimentaria. Las proteínas son los principales ingredientes causantes de las reacciones alérgicas en alimentos. Actualmente, el único tratamiento efectivo es evitar el consumo del alimento alergénico, provocando importantes limitaciones sobre la diversidad de la dieta para los alérgicos y, frecuentemente, para sus familias. Esta es una de las razones por la que están realizándose esfuerzos importantes dirigidos a la alteración estructural del alérgeno antes de interaccionar con el sistema inmunológico.

En España, las almendras y nueces se encuentran entre los frutos secos de mayor consumo y, junto con los cacahuetes y las avellanas, son los que más frecuentemente inducen reacciones alérgicas mediadas por inmunoglobulinas E (IgE). Sin embargo, hasta el momento, se han realizado muy pocos estudios sobre la alteración de la alergenicidad en almendras/nueces en comparación con los realizados sobre cacahuetes/avellanas.

El trabajo descrito en esta memoria es una investigación original multidisciplinar y trans-sectorial que estudiará los cambios producidos en la actividad

alergénica de las proteínas de nueces y almendras y la determinación de medios para su reducción. El objetivo principal es obtener información sobre el efecto del procesamiento y la naturaleza/extensión de las interacciones entre componentes sobre la estructura y posterior digestión de las proteínas de almendras y nueces. Se estudiará el efecto del [a] procesamiento térmico y altas presiones y de [b] las interacciones con carbohidratos sobre la estructura de los alérgenos y su reactividad IgE. Se llevarán a cabo estudios estructurales y se caracterizarán las interacciones entre carbohidratos y alérgenos utilizando una combinación de métodos espectroscópicos y bioquímicos; para el estudio de la digestión de alérgenos se utilizarán técnicas avanzadas de espectrometría de masas.

## **PROYECTOS FINANCIADOS POR PROGRAMAS NACIONALES**

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

**Referencia:** AGL2002-02905.

**Fecha:** Diciembre 2002 - Diciembre 2005.

**Investigador Principal:** Dra. M.C. 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. G.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. A. 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 CO<sub>2</sub> 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. M. 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 ópticos, 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. B. 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. T. 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 tetrahidro- $\beta$ -carbolina y  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -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. R. 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 las 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 aminas biógenas durante la elaboración del vino".

**Referencia:** AGL2003-02436.

**Fecha:** Diciembre 2003 - Noviembre 2006.

**Investigador Principal:** Dra. M.V. Moreno-Arribas.

**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 aminas 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 aminas 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 aminas 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 lias".

**Referencia:** AGL2003-07394-C02-02.

**Fecha:** Diciembre 2003 - Noviembre 2006.

**Investigador Principal:** Dra. M.C. 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 lias. 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 acetaldehido 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 autolisis de levaduras y bacterias.

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

El consumo de oxígeno por parte de las lias 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 autolisis celular, se producen algunos compuestos que enriquecen y mejoran el perfil aromático y el color del vino.

El uso sinérgico de ambas técnicas (microoxigenación y crianza sobre lias) 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. J.G. Santa-María.

**Resumen:** El objetivo primordial de este proyecto se centra en el estudio de la viabilidad técnica del empleo de CO<sub>2</sub> y mezclas CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub> 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. J. Friás.

**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. R. López-Fandiño.

**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 desnaturización 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.D. 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 aptitud 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. E. 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 ( $\text{CO}_2$ ).
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. I. 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 allá 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. A.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-C02-02.

**Fecha:** Diciembre 2004 - Diciembre 2007.

**Investigador Principal:** Dra. B. Bartolomé.

**Resumen:** En este proyecto se obtendrán, mediante extracción con disolventes y con fluidos 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. A. 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:** "Metabolismo de compuestos fenólicos de *Lactobacillus plantarum*: Análisis proteómico, genético y funcional".

**Referencia:** AGL2005-00470.

**Fecha:** Octubre 2005 - Octubre 2008.

**Investigador Principal:** Dra. R. Muñoz.

**Resumen:** Los compuestos fenólicos influyen en las características sensoriales (color, sabor, aroma,...) y nutricionales (antioxidantes, antinutrientes,...) de los alimentos. En la actualidad no se conoce ninguna ruta metabólica completa de biosíntesis o de degradación de compuestos fenólicos en bacterias lácticas. La especie *Lactobacillus plantarum*, modelo de cultivo iniciador en biotecnología de alimentos vegetales, es la única especie conocida de bacteria láctica capaz de metabolizar algunos de los compuestos fenólicos presentes en estos sustratos (por ejemplo, en uvas o aceitunas de mesa). La disponibilidad de la secuencia completa de *L. plantarum* permitirá, mediante un análisis proteómico, conocer las proteínas que resultan inducidas en presencia de compuestos fenólicos, clonar los genes que las codifican, hiperproducir estas proteínas y caracterizar su función enzimática. El conocimiento de estas rutas metabólicas permitirá la producción de proteínas, como por ejemplo la tanasa, y la construcción de cepas con potencial biotecnológico y comercial, utilizables en la elaboración de productos alimentarios con características sensoriales o nutricionales mejoradas.

**Título del Proyecto:** "Alimentos funcionales: Aplicación de procesos tecnológicos para la obtención de ingredientes bioactivos".

**Referencia:** AGL2005-03381.

**Fecha:** Octubre 2005 - Octubre 2008.

**Investigador Principal:** Dra. I. Recio.

**Resumen:** Una de las estrategias usadas en Tecnología de los Alimentos para el desarrollo de alimentos funcionales es el empleo de ingredientes funcionales, es decir, componentes alimentarios con actividades biológicas específicas. A pesar de la diversidad y multifuncionalidad de los ingredientes de naturaleza proteica, su uso en alimentos está, en la práctica, bastante limitado debido a los elevados costes de producción y aplicación. El objetivo global del proyecto es la obtención de ingredientes de naturaleza proteica con distintas actividades biológicas para su empleo en alimentos funcionales. Para ello, el proyecto propone el desarrollo de métodos rápidos y económicamente rentables para la

producción de ingredientes conteniendo péptidos bioactivos con actividad antihipertensiva y antioxidante a partir de hidrolizados de proteínas lácteas y de huevo. Asimismo, se plantea el estudio de la actividad biológica de estos ingredientes durante el procesado y la conservación de los alimentos. Por otra parte, en el presente proyecto se pretende utilizar procesos tecnológicos alternativos, tales como la Alta Presión, para producir cambios conformacionales en proteínas alimentarias que conduzcan al aumento de la actividad antimicrobiana de las mismas. También se estudiará la potenciación de la actividad antimicrobiana de agentes proteicos usados en la conservación de alimentos, como lisozima y nisina, mediante el empleo conjunto de estos compuestos con péptidos bioactivos derivados de proteínas alimentarias que presenten un espectro antimicrobiano más amplio.

**Título del Proyecto:** "Efecto de la digestión y del tratamiento térmico previo en la alergenicidad de las proteínas de clara de huevo".

**Referencia:** AGL2005-03384.

**Fecha:** Octubre 2005 - Octubre 2008.

**Investigador Principal:** Dra. R. López-Fandiño.

**Resumen:** La alergia al huevo es una de las causas más frecuentes de hipersensibilidad inmediata a alimentos en Europa y Estados Unidos, sobre todo durante la infancia. Debido a su importancia, existe un gran interés en definir las características fisicoquímicas de las proteínas alergénicas y encontrar modos de disminuir los riesgos que ocasionan. Se admite que la resistencia a la digestión es una de las propiedades comunes a los alergenos alimentarios, sin embargo, la información disponible sobre las bases de la estabilidad de los alergenos frente a la digestión es limitada y a veces contradictoria. Esto puede deberse a que los modelos de digestión *in vitro* empleados habitualmente utilizan concentraciones inadecuadas de proteinasas y abordan la digestión como un proceso en una sola etapa, sin considerar la complejidad de los medios estomacal y duodenal, la participación de otras enzimas digestivas, la matriz del alimento o las interacciones de las proteínas con otros componentes, como los lípidos. Además, a la hora de emplear la estabilidad a la digestión para estimar el potencial alergénico de las proteínas de los alimentos, es necesario tener en cuenta el procesado al que suelen someterse y la presencia, conjuntamente con las proteínas, de otros componentes, fundamentalmente azúcares, con los que podrían interaccionar durante el tratamiento térmico o conservación. El objetivo del proyecto es lograr una mayor comprensión de los cambios que ocurren en la estructura de los alergenos durante el procesado y la digestión gastrointestinal para dilucidar hasta qué punto intervienen en la respuesta alérgica en humanos. El proyecto se centrará en proteínas muy alergénicas, como son la ovoalbúmina, el ovomucoide y la lisozima de la clara de huevo de gallina. Para ello, se evaluará el impacto de las interacciones carbohidrato-proteína, mediante reacción de Maillard, que puedan producirse bajo las condiciones de tratamiento térmico y almacenamiento a las que se someten normalmente las ovoproteínas y se usarán sistemas de digestión *in vitro* relevantes fisiológicamente, que imitan el paso sucesivo del alimento a través del estómago y el duodeno. También se emplearán técnicas de proteómica para identificar nuevos alergenos en la clara de huevo, definir el patrón de fragmentación de los alergenos del huevo

durante la digestión y relacionar la alergenicidad de los productos de degradación con su tamaño, secuencia y conformación.

**Título del Proyecto:** "Seguridad y trazabilidad en alimentos transgénicos".

**Referencia:** AGL2005-05320-C02-01.

**Fecha:** Diciembre 2005 - Diciembre 2008.

**Investigador Principal:** Dr. A. Cifuentes.

**Resumen:** El objetivo del proyecto es el desarrollo de una nueva metodología para evaluar la seguridad de soja y maíz transgénicos para consumo humano, corroborando o no su inocuidad y facilitando su trazabilidad mediante el desarrollo de nuevos procedimientos de análisis más potentes capaces de aportar mayor información sobre los mismos. Para ello, en el presente proyecto, se propone una estrategia multidisciplinar que engloba el estudio comparativo de las variedades transgénicas maíz Bt11, maíz NK603 y soja Roundup Ready, frente a las mismas variedades no transgénicas, incluyendo el análisis de sus perfiles proteicos, metabólicos, su contenido en residuos de plaguicidas, especialmente los procedentes de glifosato, así como el estudio de la toxicidad asociada a las diferencias entre perfiles. Para llevar a cabo el análisis comparativo (*"profiling"*) entre los perfiles proteico, metabólico y de residuos de plaguicidas de las distintas variedades de soja y maíz se propone el desarrollo y aplicación de nuevas técnicas de extracción (como fluidos presurizados), junto con técnicas de separación cromatográficas y electroforéticas capilares empleando distintos tipos de detección especialmente por espectrometría de masas. El estudio de la toxicidad de los extractos en los que se detecten diferencias entre variedades transgénicas y no transgénicas se llevará a cabo mediante ensayos de toxicidad "test límite oral" y/o "toxicidad oral dosis repetida durante 28 días" en animales de experimentación (roedores). También se llevará a cabo un estudio sobre biodisponibilidad secundaria en roedores (análisis cinético y distribución tisular) del plaguicida glifosato y sus metabolitos, incluyendo el desarrollo de nuevos ensayos para determinar su neurotoxicidad. Es interesante remarcar que la presente metodología, una vez desarrollada, podría utilizarse como procedimiento de rutina para establecer con mayor seguridad la inocuidad de otros alimentos transgénicos, favoreciendo su trazabilidad y permitiendo de esta manera la consecución de los más elevados niveles de protección del consumidor.

**Título del Proyecto:** "Metabolitos fenólicos de la acción de *Bretanomices/Dekkera* en vinos: Identificación y condensación de pigmentos".

**Referencia:** AGL2005-06640-C02-02.

**Fecha:** Diciembre 2005 - Diciembre 2008.

**Investigador Principal:** Dra. I. Estrella.

**Resumen:** El origen de los etil y vinil fenoles en vinos se relaciona con la acción de dos enzimas (hidroxicinamildescarboxilasa y reductasa) sobre ácidos hidroxicinámicos, como ferúlico, *p*-cumárico y cafético). Las levaduras presentes en vinos como *Bretanomyces* o su forma esporulada *Dekkera*, intervienen en las reacciones enzimáticas citadas, en las condiciones enológicas.

Para contrarrestar la producción de estos volátiles, desfavorables en el vino, se ha de favorecer la formación de aductos con los antocianos, responsables del color de los vinos, dando lugar así a formas más estables.

En este Subproyecto se pretende identificar los etil y vinil fenoles, los compuestos fenólicos intermedios en la formación de los fenoles volátiles, fundamentalmente ácidos hidroxicinámicos, así como los antocianos presentes y los posibles complejos que se formen.

La separación e identificación de los compuestos se realizará por HPLC-PAD y HPLC-MS.

**Título del Proyecto:** "Microalgas y cianobacterias como fuente de ingredientes alimentarios funcionales. Desarrollo de procesos limpios empleando extracción con fluidos subcríticos y caracterización química".

**Referencia:** AGL2005-06726-C04-02.

**Fecha:** Diciembre 2005 - Diciembre 2008.

**Investigador Principal:** Dra. E. Ibáñez.

**Resumen:** El objetivo del proyecto es la obtención de nuevos ingredientes alimentarios funcionales (antioxidantes, antivirales, y reguladores del sistema inmune) a partir de nuevas cepas de microalga mediante el desarrollo de procesos de extracción basados en el empleo de la tecnología de fluidos sub- y supercríticos. El proyecto plantea 4 aspectos claramente diferenciados, cada uno de ellos con unos objetivos novedosos y concretos que se exponen a continuación:

1. El estudio de las condiciones de producción a escala piloto de distintas cepas de microalgas y cianobacterias muy poco estudiadas pero con potencial actividad antioxidante, antiviral y reguladora del sistema inmune (*Leptolyngbya spp*, *Chlamydomonas spp*, *Asterarcys spp*, *Porphyridium spp*, *Nostoc spp*, *Nostoc spp-perlas*, *Nostoc spp-palm*, *Spirulina spp*, *Haematococcus spp*, *Haematococcus spp clon N*, *Chroococcus spp*).
2. El estudio y desarrollo de procesos de extracción basados en el empleo de disolventes seguros (GRAS): a) la extracción acelerada con agua, etanol y mezclas agua:etanol en condiciones subcríticas (ASE) y b) la extracción mediante CO<sub>2</sub> supercrítico (SFE), para la obtención de fracciones con funcionalidades de interés (antioxidantes, etc.) a partir de las microalgas mencionadas para su posible uso como ingredientes alimentarios naturales.
3. La caracterización química y funcional de los extractos obtenidos y el aislamiento y purificación de los componentes más interesantes. Para llevar a cabo este objetivo se emplearán técnicas instrumentales avanzadas (p.ej. cromatografía de líquidos de alta eficacia-espectrometría de masas (HPLC-MS), electroforesis capilar (EC), etc.), cromatografía preparativa y ensayos *in vitro* que permitan evaluar las distintas actividades funcionales de interés (principalmente, antioxidantes, antivirales y de regulación del sistema inmune) de los distintos extractos obtenidos.
4. Estudio del efecto de la incorporación de los ingredientes alimentarios desarrollados en el perfil metabólico de ratas diabéticas. Para ello previamente se llevará a cabo un estudio del perfil metabólico de ratas control y ratas con diabetes inducida para, de esta manera, conocer la evolución de los mismos mediante la aplicación de terapias antioxidantes (con los extractos procedentes de microalgas).

**Título del Proyecto:** "Formación de aminas biogénas por las bacterias lácticas durante la vinificación. Desarrollo de estrategias para evitar su producción".

**Referencia:** PTR1995-0736-OP.

**Fecha:** Mayo 2004 - Abril 2006.

**Investigador Principal:** Dra. M.V. Moreno-Arribas.

**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:** PTR1995-0759-OP.

**Fecha:** Abril 2004 - Abril 2006.

**Investigador Principal:** Dra. M.V. Moreno-Arribas.

**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.

### **Acciones Complementarias**

**Título del Proyecto:** "Biodiversidad de las bacterias lácticas implicadas en la elaboración del vino".

**Referencia:** AGL2004-0394-E.

**Fecha:** Septiembre 2005 - Diciembre 2007.

**Investigador Principal:** Dra. M.V. Moreno-Arribas.

**Resumen:** El objetivo de esta acción es establecer una nueva relación científica de cooperación entre investigadores del Instituto de Fermentaciones Industriales del CSIC y del *Institute for Wine Biotechnology* (Sudáfrica). La colaboración se basará en el estudio de la diversidad y el potencial metabólico de bacterias lácticas salvajes aisladas de vinos tintos y de vinos base para la elaboración de brandies, procedentes de zonas geográficas ubicadas en países distintos. Dada la experiencia complementaria de ambos grupos se obtendrá un beneficio en el estudio de estos microorganismos que repercutirá en la calidad organoléptica del vino.

**Título del Proyecto:** “Equipo CE-TOF-MS”. (Ayuda Complementaria)

**Referencia:** AGL2005-23691-E.

**Fecha:** Diciembre 2005 - Diciembre 2006.

**Investigador Principal:** Dr. A. Cifuentes

## **PROYECTOS FINANCIADOS POR LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE MADRID.**

**Título:** “Efectos beneficiosos para la salud de la leche humana. Ensayo de actividades biológicas e identificación de péptidos activos”.

**Referencia:** GR/SAL/0739/2004.

**Fecha:** Enero 2005 - Enero 2006.

**Investigador Principal:** Dra. R. López-Fandiño.

**Resumen:** Los péptidos bioactivos son secuencias peptídicas que se liberan mediante proteólisis de las proteínas, ejerciendo funciones biológicas que pueden ser positivas para la salud. La proteólisis que ocurre en la leche humana da lugar una proporción considerable de péptidos, de los que se tiene poca información, y que pueden tener implicaciones fisiológicas. Aunque estudios previos han demostrado la presencia de péptidos potencialmente activos en leche humana, no se ha comprobado la bioactividad de la fracción peptídica ni se ha estudiado su variación a lo largo de la lactancia. Este proyecto plantea la investigación de las propiedades beneficiosas para la salud de los péptidos presentes en leche humana y el estudio de su variación en función de la lactancia. Para ello se abordarán los siguientes objetivos concretos: 1) determinación de la actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina I, actividad antioxidante y actividad antimicrobiana en la fracción peptídica de leche humana 2) identificación de secuencias peptídicas bioactivas en las muestras que exhiban mayor actividad 3) elucidación de la evolución de la fracción de péptidos de la leche humana durante la lactación. La consecución de estos objetivos contribuirá al conocimiento de la función fisiológica de los péptidos presentes en la leche humana y proporcionará información para imitar su valor nutricional y biológico en fórmulas infantiles, para aquellos casos en que la lactancia materna no pueda darse o esté contraindicada. Además, en el caso de que se descubrieran nuevas secuencias con propiedades beneficiosas para la salud, éstas podrían usarse como sustancias terapéuticas en otros productos alimentarios, como aditivos o ingredientes o en productos farmacéuticos.

## **PROYECTOS PARA LA CREACIÓN Y CONSOLIDACIÓN DE GRUPOS DE INVESTIGACIÓN DE LA COMUNIDAD DE MADRID**

**Título:** "Digestibilidad, absorción gastrointestinal e inmunogenicidad de proteínas vegetales de alto valor añadido".

**Referencia:** 200570M066.

**Fecha:** Diciembre 2005 - Noviembre 2006.

**Investigador Principal:** Dr. F.J. Moreno.

**Resumen:** El objetivo fundamental de la presente memoria es el estudio del efecto de la glicosilación, enzimática y no-enzimática, sobre la digestibilidad, absorción e inmunogenecidad de proteínas de interés para la industria alimentaria. Se han seleccionado la 2S albúmina y 7S globulina procedentes de nuez de nogal (*Juglans regia*) y soja (*Glycine max*), respectivamente, teniendo en cuenta su presencia creciente en alimentos de elevado consumo en los países europeos y dado que su alergenicidad constituye un problema de seguridad alimentaria en la actualidad. La información bibliográfica disponible hasta el momento en esta temática es escasa y contradictoria. Estos alérgenos son resistentes a procesos económicamente factibles y habituales en la industria alimentaria tales como el tratamiento térmico. En este sentido, la glicosilación podría ofrecer una vía alternativa para la obtención de proteínas hipoalergénicas de valor añadido. La digestibilidad y absorción de las proteínas puede verse afectada como consecuencia del cambio estructural causado por la glicosilación modificando a su vez la respuesta inmune. Se obtendrá información relativa a estas propiedades de los alérgenos 2S albúmina y 7S globulina, así como de sus productos de digestión y absorción gastrointestinal utilizando modelos *in vitro*. Se emplearán anticuerpos policlonales antiproteínas y antiproductos de digestión obtenidos a partir de los compuestos purificados y caracterizados en el laboratorio para evaluar la respuesta inmune de los productos de digestión y absorción de las proteínas glicosiladas mediante ELISA indirecto. Esta información podría ser de utilidad en la elaboración de alimentos hipoalergénicos y por tanto más seguros y de mayor calidad. Los datos de estructura-función podrían ayudar a la mejor comprensión del efecto alergénico de otras proteínas de estructura afín y cómo la presencia de azúcares de naturaleza distinta en la estructura de proteínas glicosiladas y/o glicoproteínas influye en su respuesta inmune.

## **PROYECTOS FINANCIADOS POR EL C.S.I.C**

### **PROYECTOS INTRAMURALES DE FRONTERA:**

**Título del Proyecto:** "Caracterización varietal de vinos a través del análisis del ADN".

**Referencia:** 200470F0370.

**Fecha:** Octubre 2004 - Septiembre 2005.

**Investigador Principal:** Dra. M.C. 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 substancias 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.

**Referencia Subproyecto:** 200470F0371.

**Fecha:** Octubre 2004 - Septiembre 2005.

**Investigador Principal:** Dra. M.C. Polo.

**Referencia Subproyecto:** 200470F0374.

**Fecha:** Octubre 2004 - Septiembre 2005.

**Investigador Principal:** Dr. A. Cifuentes.

**Título del Proyecto:** "Vectores virales y no virales en terapia génica. Aplicación de sistemas poliméricos inteligentes para la formación de complejos de baja toxicidad".

**Referencia Subproyecto:** 200470F0292.

**Fecha:** Octubre 2004 - Septiembre 2005.

**Investigador Principal:** Dr. Cifuentes.

**Resumen:** En este proyecto se pretende evaluar el uso en terapia génica de nuevos sistemas poliméricos sintéticos como soportes para el transporte de ADN hasta las células (transfección). Los nuevos polímeros serán sintetizados a partir de monómeros que aportan al sistema polimérico funcionalidad (grupos amina terciarios ionizables para formar sistemas catiónicos con carga controlada por la composición del propio sistema polimérico en medio neutro o débilmente ácido), así como sensibilidad a la temperatura (sistemas que pueden experimentar fenómenos de expansión o de contracción en un intervalo de temperaturas próximo a la temperatura

fisiológica). Las características más sobresalientes que pueden aportar estos sistemas son: 1) su capacidad de formar complejos moleculares con ADN o con virus mediante la ionización del grupo amina terciario, 2) autoprotección de los complejos como consecuencia del efecto de contracción asociado al incremento de temperatura desde 25 a 37º C, 3) una previsible menor toxicidad en comparación con los sistemas poliméricos que actualmente se emplean en transfección (p.ej., polietilenimina), 4) evaluación de la viabilidad y actividad de los complejos con ADN y virus, tanto en su fase de transporte y vectorización, como en la de actuación a nivel intracelular. Como acción complementaria un objetivo con carácter muy aplicado será la encapsulación de variantes del coronavirus de la gastroenteritis porcina transmisible con diferente grado de atenuación en nanopartículas de polímeros y el estudio de la viabilidad y actividad de los complejos polímero-virus *in vitro* e *in vivo*. Los estudios propuestos serían de gran utilidad en la producción de vacunas que se administran por vía oral.

El proyecto es muy ambicioso puesto que supone el desarrollo de sistemas que puedan ser aplicados en la práctica biomédica más avanzadas, por lo que se requiere considerar un periodo de dos años para conseguir resultados con garantía, que permitan un planteamiento a nivel Europeo. Es por ello, que aunque se presenta un cronograma adaptado a 12 meses y la correspondiente solicitud de financiación, se deberá de considerar la ampliación del plazo de ejecución y la financiación para el segundo año.

**Título del Proyecto:** "Desarrollo de microsistemas en carburo de silicio para aplicaciones biomédicas y de seguridad alimentaria".

**Referencia Subproyecto:** 200450F0224.

**Fecha:** Octubre 2004 - Diciembre 2005.

**Investigador Principal:** Dr. R. González.

**Resumen:** La presente propuesta plantea el desarrollo de una nueva tecnología (basada en el carburo de silicio, SiC) ya usada en aplicaciones microelectrónicas de potencia, como base de una futura generación de microsistemas que rivalicen con la actual generación de microsistemas basados en silicio (Si), mejorando las prestaciones actuales y promoviendo la creación de nuevas aplicaciones que permitan situar a España, y en consecuencia a Europa, a la cabeza de un mercado emergente, con una ventaja tecnológica suficiente como para consolidar una posición sólida en el mercado.

Aunque el reto planteado por el proyecto (desarrollar una nueva base tecnológica para la fabricación de microsistemas) conlleva un alto grado de riesgo, la propuesta basa su énfasis en ciertas presunciones que apuntan a la viabilidad de los objetivos propuestos y a una alta rentabilidad en su consecución.

Así pues, el enfoque básico del proyecto consiste en el desarrollo y la adaptación de los procesos tecnológicos en SiC necesarios para el desarrollo de microsistemas. No obstante, esta propuesta no se centra únicamente en el desarrollo tecnológico, sino que incluye también el desarrollo de aplicaciones específicas dentro áreas de alto interés en biomedicina. Las tres aplicaciones propuestas como demostradores de la tecnología de SiC en microsistemas son: una aguja multi-sensor para la monitorización de órganos para trasplante, un sistema de identificación de patógenos en alimentos por huella proteica y un

sistema de cultivo celular y monitorización de células nerviosas y cancerosas. Con la inclusión de estas aplicaciones no se pretende simplemente conseguir demostradores funcionales de la tecnología SiC de microsistemas al final del proyecto, sino que se persigue también obtener la retroalimentación necesaria entre los diferentes grupos participantes, mediante la creación de un consorcio multidisciplinar, con el fin de mejorar los dispositivos propuestos, sugerir nuevas ideas y generar, basándose en los resultados obtenidos dentro de este proyecto, una plataforma sólida desde la cual promover una propuesta más amplia, incluyendo a otros grupos europeos pero liderada desde el CSIC, a las convocatorias de proyectos del VI Programa Marco de la UE.

**Título del Proyecto:** "Proteínas y péptidos alimentarios como antivirales de interés en acuicultura".

**Referencia:** 200570F0111.

**Investigador Principal:** Dra. I. Recio.

**Fecha:** Noviembre 2005 - Octubre 2007.

**Resumen:** La fracción proteica de los alimentos tiene una indudable importancia desde el punto de vista nutricional pero en los últimos años se está prestando especial atención al papel fisiológico de la misma. Se ha demostrado que determinadas proteínas alimentarias y péptidos derivados de las mismas pueden ejercer distintas funciones fisiológicas en el organismo tales como opíacea, antihipertensiva, inmunomodulante, antimicrobiana, etc. Resultados previos de nuestro grupo de investigación nos han permitido concluir que las proteínas lácteas y proteínas de huevo son excelentes sustratos para la producción de péptidos bioactivos con actividad antioxidante y antihipertensiva y /o antimicrobiana. La mayoría de las investigaciones realizadas han estado encaminadas a la utilización de estos péptidos como ingredientes en alimentos funcionales. Sin embargo, la utilización de los péptidos y proteínas alimentarios como agentes antimicrobianos en otras aplicaciones ha suscitado un notable interés dada la inocuidad de estos compuestos. Recientemente, se ha empezado a explorar la posible actividad antivírica de distintos fragmentos derivados de proteínas lácteas frente a algunos virus de mamíferos. Asimismo, modificaciones químicas de proteínas alimentarias, como la lactoferrina, encaminadas a modificar la carga superficial de la proteína han demostrado una notable actividad frente al virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1. Sin embargo, no existe ningún dato sobre la actividad de proteínas y péptidos alimentarios frente a virus implicados en enfermedades de peces.

Los virus que afectan a peces teleósteos ofrecen gran interés ya que la acuicultura se ha intensificado y diversificado en todo el mundo, y los movimientos de animales vivos o sus productos, han acelerado la dispersión accidental de enfermedades, que ocasionan graves pérdidas económicas. Estos virus constituyen un modelo innovador para la determinación de la actividad biológica de péptidos y proteínas alimentarias, que pueden presentar características antivíricas o inmunoestimulantes y que podrían constituir un recurso como fármaco o como coadyuvante de vacunas DNA. Hasta ahora, el planteamiento del uso de posibles antivíricos en peces de consumo no se ha desarrollado por ser moléculas tóxicas, o poco activas o demasiado costosas. Pero los péptidos y proteínas objeto de este proyecto derivan de alimentos, lo que les haría aptos para ser utilizados en peces de consumo y si fuesen activos, se pueden llegar a producir a bajo costo.

A la vista de las bases teóricas y conceptuales de la propuesta, consideramos que el tema del proyecto “Búsqueda de péptidos y proteínas alimentarias con actividad antiviral y/o inmunoestimulante frente a virus implicados en enfermedades de peces” es un tema nuevo del que no existen resultados previos. Para abordarlo se requiere un equipo multidisciplinar con experiencia en bioquímica de alimentos (Grupo I), en química de péptidos y proteínas (Grupo II) y en la evaluación de antivíricos (Grupo III). El grupo I abordará la obtención de proteínas y péptidos de leche y huevo, el grupo II llevará a cabo las modificaciones químicas de las proteínas y péptidos encaminadas a potenciar la actividad antiviral y el grupo III se encargará de ensayar la actividad antiviral e inmunoestimulante en líneas celulares y peces teleósteos. Además en el grupo III se ha incorporado un grupo experto en acuicultura, liderado por la Dra. M.C. Sarasquete del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, que evaluará la capacidad de protección de estos péptidos y proteínas mediante estudios histopatológicos en los animales tratados.

**Título del Proyecto:** “Desarrollo de nuevas técnicas analíticas de ultrasonidos para microbiología molecular y estructural”.

**Referencia:** 200570F0192.

**Investigador Principal:** Dr. Ramón González.

**Fecha:** Noviembre 2005 - Octubre 2007.

**Resumen:** En la producción de vinos espumosos por el método tradicional, que en el caso de España corresponde con la denominación “cava”, una de las etapas limitantes del proceso, que conlleva una importante inversión en gastos de almacenamiento, es la crianza en las cavas, que debe tener lugar durante al menos nueve meses para garantizar la calidad del producto.

Además de la segunda fermentación que tiene lugar durante los dos primeros meses tras el embotellado, el proceso fundamental que tiene lugar en las botellas durante el periodo de crianza es la autolisis de las levaduras que han llevado a cabo la fermentación. Este proceso de autolisis permite la liberación al medio de cultivo de sustancias procedentes de la degradación intracelular de los constituyentes de la levadura. Estas sustancias son las responsables de algunas de las características distintivas de estos vinos (sabor, aroma y propiedades espumantes).

El grupo del departamento de Microbiología del IFI lleva varios años trabajando en el desarrollo de estrategias biotecnológicas para la aceleración del proceso de maduración de los vinos espumosos. En general estas estrategias coinciden en el uso de a caracterización *in vitro* de la capacidad autolítica de las levaduras, con el fin de seleccionar las más autolíticas para su uso industrial, ya sean cepas naturales u obtenidas por mejora genética en el laboratorio. Sin embargo se trata de un proceso trabajoso y poco preciso, en el que la necesidad de tomar muestras puntuales para hacer las correspondientes determinaciones bioquímicas (por ejemplo medida de nitrógeno total o de aminoácidos en el sobrenadante) resta posibilidades a la comparación de los resultados obtenidos con diferentes cepas de levadura.

Uno de los objetivos de este proyecto es pues el desarrollo de un método no invasivo, basado en el uso de ultrasonidos, que permita el seguimiento continuo del proceso de autolisis. Este método debería ser aplicable para comparar la capacidad autolítica de diferentes cepas de levadura en condiciones de laboratorio, pero además, una vez puesto a punto podría

permitir el seguimiento continuo del proceso de autolisis ayudando a la toma de decisiones y a la optimización del proceso durante la crianza de las botellas de cava en el proceso industrial. Así como para verificar de manera sencilla en botella los resultados obtenidos *in vitro* con las cepas mejoradas en el laboratorio. Por último, el sistema se podría adaptar a la monitorización de otros procesos enológicos en los que también tiene lugar la autolisis de las levaduras, ya sea de forma cíclica (vinos de crianza biológica) como de forma continua (vinos tranquilos criados sobre lías).

## **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.C. Gómez-Cordovés.

**Resumen:** En este proyecto se propone establecer la composición fenólica y coordenadas cromáticas (CIELAB) de mieles españolas obtenidas a partir de Ericáceas, Azahar, Eucalipto y Romero. En relación con ello, se determinará también la capacidad antioxidante de las mieles y su posible relación con la flor y el lugar de procedencia, y los compuestos fenólicos presentes. Por lo que se tratará de establecer su composición fenólica no flavonoide para:

- su caracterización floral y variaciones que puedan experimentar anualmente.
- relación entre los compuestos estudiados en función de su estructura química (p.e. hidroxilados y guayacil).
- la capacidad antioxidante de las mieles y su posible relación con:
- la flor y el lugar de procedencia.
- los compuestos fenólicos presentes.

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

**Referencia:** VIN03-006-C2-1.

**Fecha:** Enero 2004 - Diciembre 2006.

**Investigador principal:** Dra. M.C. 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. R. 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 2007.

**Investigador principal:** Dra. M.C. 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. R. López-Fandiño.

**Título:** "Thermally processed foods. Possible health implications".

**Referencia:** COST Action 927.

**Organismo Financiador:** U.E.

**Investigador responsable del IFI:** Dra. D. del Castillo.

**Fecha:** 2004-2009.

## ACCIONES INTEGRADAS

**Título:** "Diferencias de pigmentos y copigmentos entre vinos uruguayos y españoles. Su influencia en la estabilidad y calidad de los vinos".

**Referencia:** 2004UY0016

**Organismo financiador:** CSIC/Universidad de la República. (Uruguay).

**Fecha:** 2004-2005.

**Investigador responsable en el IFI:** Dra. C. Gómez-Cordovés.

**Título:** "Chiral CE-ESI-MS: development of new chiral methods compatible with capillary electrophoresis-electrospray-mass spectrometry (CE-ESI-MS)".

**Organismo financiador:** CSIC-CNR.

**Referencia:** 2004IT0037.

**Fecha:** Enero 2005 - Enero 2007.

**Investigador principal:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** "Tecnologías limpias de extracción de cera del laurel (*Morella pubescens*). Estudio y caracterización química de la cera y su aroma".

**Referencia:** 2004CO0015.

**Organismo financiador:** MEC/ COLCIENCIAS. Colombia.

**Fecha:** Enero 2005 - Enero 2007.

**Investigador principal:** Dra. E. Ibáñez.

**Título:** " $\alpha$ -Galactosidos como ingredientes de la dieta para prevenir el cáncer de colon".

**Referencia:** 2004PL0005.

**Organismo financiador:** CSIC/Polish Academy of Sciences (Polonia).

**Fecha:** 2005-2006.

**Investigador principal:** Dra. J. Frías / Dr. K. Gulewiczt.

**Título:** "Ascorbinógeno, un compuesto antioxidante y anticancerígeno en crucíferas procesadas".

**Referencia:** 2004PL0006.

**Organismo financiador:** CSIC/Polish Academy of Sciences (Polonia).

**Fecha:** 2005-2006.

**Investigador principal:** Dra. C. Vidal / Dr. M.K. Piskula.

**Título:** "Antioxidantes de interés alimentario procedentes de microalgas".

**Referencia:** 2004MX0008

**Organismo financiador:** MCYT/ CONACYT (México).

**Fecha:** Enero 2004-Enero 2006

**Investigador responsable:** Dra. E. Ibáñez

**Título:** "Identificación de compuestos bioactivos en alimentos de origen vegetal causantes de efectos sensoriales negativos".

**Referencia:**

**Organismo financiador:** CSIC/Polish Academy of Sciences (Polonia).

**Fecha:** 2005-2006I.

**Investigador principal:** Dra. Isabel Estrella/ Dr. Agnieszka Troszynska.

## 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. I. Recio.

## **COLABORACIÓN EN PROYECTOS DE OTROS CENTROS DE INVESTIGACIÓN**

**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. R. González.

**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. Marcelli del Olmo (Universidad de Valencia).

**Investigadores Responsables en el IFI:** Dr. A.V. Carrascosa y Dra. R. 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. M. Orejas (Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, CSIC).

**Investigador Responsable en el IFI:** Dr. R. González.

**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. E. Carretero. Facultad de Farmacia (UCM).

Subproyecto 1: Dr. M. Prodanov. IMIDRA. Madrid.

**Investigadores Responsables en el IFI:** Dra. T. Hernández y Dra. I. 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. I. Martínez-Castro (Instituto de Química Orgánica General, CSIC).

**Investigador Responsable en el IFI:** Dra. N. Corzo.

**Título:** Análisis del riesgo de intoxicación por botulismo en malvasía cabeciblanca y otras especies de aves acuáticas en las Tablas de Daimiel y humedales cercanos.

**Referencia:** 99/2003.

**Organismo financiador:** Parques Nacionales-MMA.

**Fecha:** Enero 2005 - Enero 2008.

**Investigador principal:** Dr. R. Mateo.

**Investigador responsable en el IFI:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** "Evaluación del estado actual, mantenimiento y conservación de la colección de levaduras del IMIDRA. Estudio de propiedades autolíticas de cepas autóctonas de *Saccharomyces cerevisiae*".

**Referencia:** FP05-AGR1-LEV.

**Organismo financiador:** Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural Agrario y Alimentario (IMIDRA).

**Fecha:** Enero 2005 - Enero 2007.

**Investigador principal:** Dra. E. Valero (IMIDRA).

**Investigador responsable en el IFI:** Dres. A.V. Carrascosa, R. González.

## **INVESTIGACIÓN CONTRATADA**

- **BODEGAS FAUSTINO, S.L.**  
**Fecha:** Enero 2003 - Enero 2005.  
**Investigador Responsable:** M.V. Moreno-Arribas.
- **EMBUTIDOS LOS CERROS, S.L.**  
**Fecha:** Abril 2005 - Abril 2008.  
**Investigador Responsable:** A.V. Carrascosa.
- **GRUPO FRIAL**  
**Fecha:** Mayo 2003 - Enero 2006  
**Investigador Responsable:** G. Reglero (Universidad Autónoma de Madrid).  
**Investigadores que participan del IFI:** A. Cifuentes,, E. Ibáñez.
- **INNAVES, S.A.**  
**Fecha:** Septiembre 2004 - Septiembre 2007.  
**Investigador Responsable:** A. Carrascosa.
- **INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA AGRARIA Y ALIMENTARIA**  
**Fecha:** Noviembre 2004 - Diciembre 2006.  
**Investigador Responsable:** M.T. Hernández.
- **MIGUEL TORRES, S.A.**  
**Fecha:** Octubre 2005-Octubre 2008.  
**Investigador Responsable:** R. González.
- **LABORATORIO MIRET, S.A.**  
**Fecha:** Noviembre 2005- Mayo 2006.  
**Investigador Responsable:** G.P. Blanch.

## **INFORMES TÉCNICOS**

**Autores:** M.V. Moreno-Arribas, M.C. Polo y P.J. Martín-Álvarez.

**Título:** "Las aminas biógenas del vino".

**Destinatario:** Subdirección General de Calidad y Promoción Agroalimentaria.  
Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

**Fecha:** Marzo 2005.

## PUBLICACIONES

### Publicaciones en Revistas

**ARIAS, M., SIMÓ, C., ORTIZ, L.T., MOZOS-PASCUAL, M., BARBAS, C., CIFUENTES, A.**

“Detection and quantitation of a bioactive compound in *Vicia narbonensis* L. seeds by capillary electrophoresis-mass spectrometry: A comparative study with UV detection”.

Electrophoresis (2005) **26** 2351-2359.

**Abstract:** Capillary zone electrophoresis with mass spectrometry (CE-MS) and UV detection (CE-UV) was applied to the quantitative determination of  $\gamma$ -glutamyl-S-ethenyl-cysteine (GEC), a bioactive and unstable compound present in *Vicia narbonensis* L. seeds. This compound is responsible for, among other negative effects, palatability reduction and grain toxicity. In order to carry out the quantitative analysis of GEC, different conditions (such as composition, concentration and pH of the background electrolyte, and type and time of extraction) were studied. Also, adequate conditions for electrospray-mass spectrometry of this bioactive compound were investigated. The best extraction conditions of GEC from *V. narbonensis* L. seeds flour were obtained using ethanol-water (70:30 v/v) for 45 min. The use of a 20 mM ammonium hydrogen carbonate at pH 7 provided adequate analytical conditions compatible with the unstable nature of GEC as well as with the requirements of CE-UV and CE-MS analysis. A comparative study was carried out between the different figures of merit of CE-UV and CE-MS for quantitative purposes. Both techniques provided similar limit of detection and can be applied with confidence within the same linear dynamic range. However, reproducibility and speed of analysis were better using CE-UV. The developed methods were readily applied to quantify GEC in seeds of 21 genotypes of *V. narbonensis* L. A good agreement between CE-MS and CE-UV results was observed corroborating the usefulness of both approaches for quantitative purposes.

**BAENA, B., CIFUENTES, A., BARBAS, C.**

“Analysis of carboxylic acids in biological fluids by capillary electrophoresis”.

Electrophoresis (2005) **26** 2622-2636.

**Abstract:** This review article addresses the different capillary electrophoretic methods that are being used for the study of both short-chain organic acids (including anionic catecholamine metabolites) and fatty acids in biological samples. This work intends to provide an updated overview (including works published until November 2004) on the recent methodological developments and applications of such procedures together with their main advantages and drawbacks. Moreover, the usefulness of CE analysis of organic acids to study and/or monitor different diseases such as diabetes, new-borns diseases or metabolism disorders is examined. The use of microchip devices and CE-MS couplings for organic acid analysis is also discussed.

**CALVO, M.M.**

“Lutein: A valuable ingredient of fruit and vegetables”.

Crit. Rev. Food Sci. Nutr. (2005) **45** 671-696.

**Abstract:** Lutein is a human serum carotenoid which is not synthesized by humans and thus must be obtained by the ingestion of food containing it such as fruits and vegetables. Lutein is present in different forms in those foods as all-trans-lutein, cis-lutein, epoxi-lutein, and lutein linked to proteins. It discusses if the intake of lutein or diets supplemented with lutein or diets rich in fruits and vegetables are important in the prevention of diseases like some cancers, cardiovascular diseases, etc., that may be affected by the antioxidant effect of lutein; or in the prevention of age-related macular degeneration and other eye diseases. The concentration of lutein in fruits and vegetables depends on the species. We've included the concentration of lutein in 74 species reported by different authors since 1990. Currently the quantification of lutein is mainly performed by HPLC, but more investigations into a quantification method for lutein, lutein isomers, and epoxi-lutein are necessary. Improvement of lutein extraction methods is important as well. Methods commonly used in the vegetable and fruit industry like heat treatment, storage conditions, etc. can change lutein concentrations; other factors depend on the plant, for instance the variety, the stage of maturity, etc.

**CARDELLE-COBAS, A., MORENO, F.J., CORZO, N., OLANO, A., VILLAMIEL, M.**

“Assessment of initial stages of Maillard reaction in dehydrated onion and garlic samples”.

J. Agric. Food Chem. (2005) **53** 9078-9082.

**Abstract:** The initial steps of the Maillard reaction in freshly laboratory-freeze-dried and commercial dehydrated onion and garlic samples have been assessed by quantitative determination of 2-furoylmethylamino acids, obtained after acid hydrolysis of the corresponding Amadori compound. In freshly prepared samples, hardly any presence of 2-furoylmethylamino acids was detected, whereas in commercial samples, onion contained much more important levels of 2-furoylmethylamino acids as compared to garlic species. 2-Furoylmethyl- $\gamma$ -aminobutyric acid (1), 2-furoylmethyl-lysine (furosine; 2), and 2-furoylmethylarginine (3) were identified in all commercial dehydrated onion samples, with compound 3 being the most abundant. All garlic samples presented slightly higher levels of 2 than 3 with no presence of 1. The observed differences between onion and garlic commercial samples may be due to their very different content of reducing sugars. Moreover, some variations found in 2-furoylmethyl derivatives within both onion and garlic species could be also attributed to different processing and storage conditions during the manufacture of these products. The findings of this study show the first evidence of important levels of Amadori compounds in dehydrated garlic and onion samples, as well as the usefulness of 2-furoylmethyl derivatives as quality indicators for the early detection of the Maillard reaction in onion and garlic products.

**CARDELLE-COBAS, A., VILLAMIEL, M.**

“Evaluación del pardeamiento no enzimático en alimentos derivados de cereales”.

Alim. Nutri. Salud (2005) **12** 91-100.

**Resumen:** Las galletas, crackers y cereales para desayuno pueden elaborarse mediante procesos convencionales o mediante extrusión, siendo esta última la principal opción a nivel industrial. En general, las condiciones que se emplean en los procesos convencionales suelen ser más energéticas que las utilizadas durante la extrusión. Durante la aplicación de estos tratamientos y, debido a las altas temperaturas empleadas, junto con los bajos porcentajes de humedad, pueden llegar a producirse diferentes reacciones químicas como, por ejemplo, el pardeamiento no enzimático que engloba la reacción de Maillard y la caramelización. Los cambios químicos que tienen lugar durante los procesos tecnológicos utilizados en este tipo de alimentos, contribuyen, en cierto modo, a sus características organolépticas pero, a la vez, pueden provocar una disminución del valor nutritivo de estos alimentos por la participación de la lisina en la reacción de Maillard. Con el fin de evaluar el avance de estas reacciones, existen indicadores químicos que pueden resultar de gran ayuda en el control de los procesos de elaboración. En este trabajo se ha llevado a cabo una amplia revisión sobre la utilidad de la determinación de lisina disponible, furosina, hidroximetilfurfural, color, fluorescencia, acrilamida y maltulosa como indicadores del pardeamiento no enzimático en alimentos derivados de cereales.

**CASAL, E., CORZO, N., MORENO, F.J., OLANO, A.**

“Glycation of caseinmacropeptide”.

Food Chem. (2005) **92** 33-36.

**Abstract:** Glycation of caseinmacropeptide (CMP) during storage with lactose at 40 and 50° C and water activity 0.33-0.65 was studied by measurement of furosine. At pH 8.0 and  $a_w$  0.44, maximum levels of furosine up to 1.9 mg/100 mg CMP were obtained within five days at 50° C, while this value had not been reached at 40° C after 13 days of storage. Increasing pH up to 11 caused considerable increase in the rate of furosine formation and maximum values were obtained after 9 h at 50° C. The rate of furosine formation was also enhanced with increasing  $a_w$  up to 0.65. These results showed that lactosylated CMP can be efficiently prepared during short time storage of CMP-lactose mixtures under appropriate pH, water activity and temperature conditions.

**CASAL, E., CORZO, N., MORENO, F.J., OLANO, A.**

“Selective recovery of glycosylated caseinmacropeptide with chitosan”.

J. Agric. Food Chem. (2005) **53** 1201-1204.

**Abstract:** The use of chitosan, a partially deacetylated chitin, to fractionate aqueous solutions of caseinmacropeptides (CMPS) was studied. The polycationic character of chitosan at acidic pH values allows the formation of complexes with negatively charged CMP molecules, inducing their

flocculation. Glycosylated CMP (GMP) has higher affinity for chitosan than nonglycosylated forms (NGMP). The carboxylic groups in the carbohydrate moiety of the GMP increase the negative charge of the molecule and may play a role in the selective precipitation. At pH 5.0, 0.08 mg/mL of chitosan completely removed the GMP whereas 70% of NGMP remained in solution. As the pH increased, the amount of chitosan to ensure complete removal of GMP increased up to 0.19 and 0.34 mg/mL for pH 6.0 and 6.6, respectively.

**CAVERO, S., JAIME, L., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., SEÑORÁNS, F.J., REGLERO, G., IBÁÑEZ, E.**

“In vitro antioxidant analysis of supercritical fluid extracts from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)”.

Eur. Food Res. Technol. (2005) **221** 478-486.

**Abstract:** Different supercritical fluid extraction conditions were tested on rosemary leaves using a pilot-plant-scale extractor. Each of them provided two separated fractions which were characterized chemically by liquid chromatography-diode-array detection-mass spectrometry using electrospray in the positive mode. Twelve compounds were identified, including phenolic diterpenes and flavonoids. Owing to the lack of available standards, only carnosic acid could be quantified. The antioxidant activity of the extracts was determined by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) test and the β-carotene bleaching test was used to study the differences in behavior of antioxidants in an emulsified medium for some of the extracts obtained. The results of the correlation studies to examine the relationship between the antioxidant activity (EC<sub>50</sub>), obtained by using the DPPH test, and the concentration of all the compounds detected in the extracts showed that carnosic acid was the more correlated compound, with a coefficient of correlation of -0.87. Using forward stepwise multiple linear regression, carnosic acid, methyl carnosate and carnosol were the compounds selected to predict the mentioned activity, with a value of 0.95 for the coefficient of determination.

**CEBOLLERO, E., CARRASCOSA, A.V., GONZALEZ, R.**

“Evidence for yeast autophagy during simulation of sparkling wine aging: A reappraisal of the mechanism of yeast autolysis in wine”.

Biotechnol. Prog. (2005) **21** 614-616.

**Abstract:** Yeast autolysis is the source of several molecules responsible for the quality of wines aged in contact with yeast cells. However, the mechanisms of yeast autolysis during wine aging are not completely understood. All descriptions of yeast autolysis in enological conditions emphasize the disturbance of cell organization as the starting event in the internal digestion of the cell, while no reference to autophagy is found in wine-related literature. By using yeast mutants defective in the autophagic or the Cvt pathways we have demonstrated that autophagy does take place in wine production conditions. This finding has implications for the genetic improvement of yeasts for accelerated autolysis.

**CEBOLLERO, E., MARTINEZ-RODRIGUEZ, A., CARRASCOSA, A.V., GONZALEZ, R.**

“Over expression of *csc1-1*. A plausible strategy to obtain wine yeast strains undergoing accelerated autolysis”.

FEMS Microbiol. Lett. (2005) **246** 1-9.

**Abstract:** The potential of several alternative genetic engineering based strategies in order to accelerate *Saccharomyces cerevisiae* autolysis for wine production has been studied. Both constitutively autophagic and defective in autophagy strains have been studied. Although both alternatives lead to impaired survival under starvation conditions, only constitutively autophagic strains, carrying a multicopy plasmid with the *csc1-1* allele under the control of the TDH3 promoter, undergo accelerated autolysis in the experimental conditions tested. Fermentation performance is impaired in the autolytic strains, but industrial strains carrying the above-mentioned construction are still able to complete second fermentation of a model base wine. We suggest the construction of industrial yeasts showing a constitutive autophagic phenotype as a way to obtain second fermentation yeast strains undergoing accelerated autolysis.

**CHÁFER, A., FORNARI, T., BERNA, A., IBÁÑEZ, E., REGLERO, G.**

“Solubility of solid carnosic acid in supercritical CO<sub>2</sub> with ethanol as a co-solvent”.

J. Supercrit. Fluid (2005) **34** 323-329.

**Abstract:** The present study is devoted to the experimental measurement and thermodynamic modelling of solid carnosic acid solubility in supercritical CO<sub>2</sub> + ethanol as a co-solvent. Measurements were carried out at temperatures in the range of 313.15 and 333.15 K, pressures ranging from 280 to 400 bar, and at different content of the modifier ethanol (from 0.7 to 10%).

The Group Contribution Associating Equation of State (GCA-EoS) [H.P. Gros, S.B. Bottini, E.A. Brignole, High pressure phase equilibrium modeling of mixtures containing associating compounds and gases, Fluid Phase Equilibria **139** (1997) 75-87] was applied in this work to represent the experimental solubility data obtained. Due to the lack of information in the literature about pure carnosic acid parameters, its solid volume, critical properties, and sublimation pressures were estimated in this work. The key step in the thermodynamic modelling proved to be the introduction of a solute hard-sphere parameter in the Carnahan-Starling repulsive term of the model, which depends on both temperature and pressure.

**CIESIOLKA, D., GULEWICZ, P., MARTINEZ-VILLALUENGA, C., PILARSKI, R., BEDNARCZYK, M., GULEWICZ, K.**

“Products and biopreparations from alkaloid-rich lupin in animal nutrition and ecological agriculture”.

Folia Biol. - Kraków (2005) **53** 59-66.

**Abstract:** This paper presents a new approach to utilization of alkaloid-rich lupin as a high protein and ecological plan!. After processing of bitter lupin

seeds, many valuable products are obtained, i.e. protein concentrate, high dietary fiber product, raffinose family oligosaccharides (RFbs), and lupin extract. The described debittering process is fully ecological without waste and all obtained products may be utilized in different domains. Therefore, (i) the lupin protein concentrate may be a soybean substitute for feeding animals. (ii) high dietary fiber product improves rheological properties of dough and quality of bakery products, (iii) RFOs are prebiotics, (iv) lupin extract may be used for ecological plant cultivation, as a plant protection preparation and as a medium for the production of yeast, gibberellic acid ( $GA_3$ ), etc.

**CORZO, N.**

“Indicadores de calidad de productos derivados de la pasta”.

<http://www.siicsalud.com/dato/dat042/05317017.htm>

**Resumen:** La presencia de maltulosa en pasta seca y su ausencia en pasta fresca indican que su formación tiene lugar solo durante el proceso de secado, la maltulosa podría ser considerada como un indicador de los cambios sufridos por los constituyentes de la pasta debido al proceso de elaboración. La utilización conjunta de la maltulosa y la furosina puede emplearse como indicador de calidad de pasta seca y predecir el tipo de secado empleado.

**COTTET, H., SIMÓ, C., VAYABOURY, W., CIFUENTES, A.**

“Nonaqueous and aqueous capillary electrophoresis of synthetic polymers”.

J. Chromatogr. A. (2005) **1068** 59-73.

**Abstract:** In this work, the use of capillary electrophoresis (CE) to analyze synthetic polymers is reviewed including works published till February 2004. The revised works have been classified depending on the CE mode (e.g., free solution capillary electrophoresis, capillary gel electrophoresis, etc.) and type of buffer (i.e., nonaqueous, aqueous and hydro-organic background electrolytes) employed to separate synthetic macromolecules. Advantages and drawbacks of these different separation procedures for polymer analysis are discussed. Also, physicochemical studies of complex polymer systems by CE are reviewed, including drug release studies, synthetic polyampholytes, dendrimers, fullerenes, carbon nanotubes and associative copolymers.

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

“Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars”.

Food Chem. (2005) **93** 325-330.

**Abstract:** Antioxidant activity of commercial red ( $n = 5$ ) and white ( $n = 5$ ) grape juices and wine vinegars ( $n = 5$ ) were determined by the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay using fluorescein (FL) as fluorescent probe. The ORAC-FL values varied from 14.6 to 25.0  $\mu\text{mol}$  of trolox equivalents/ml for red grape juices, from 3.5 to 11.1  $\mu\text{mol}$  of trolox equivalents/ml for white grape juices, and from 4.5 to 11.5  $\mu\text{mol}$  of trolox equivalents/ml for wine vinegars. Differences in the antioxidant activities among grape juice, wine, and vinegar were attributed to their different

phenolic contents and compositions and to other non-phenolic antioxidants present in the samples. These data confirm grape juice and wine vinegar as good dietary sources of antioxidants.

**DE BOER, A.R., ALCAIDE-HIDALGO, J.M., KRABBE, G., KOLKMAN, J., VAN EMDE BOAS, C.N., NIJESSEN, W.M.A., LINGEMAN, H., IRTH, H.**

"High-temperature liquid chromatography coupled on-line to a continuous-flow biochemical screening assay with electrospray ionization mass spectrometric detection".

Anal. Chem. (2005) **77** 7894-7900.

**Abstract:** The potential of high-temperature liquid chromatography (HTLC) was investigated in an on-line combination with a screening system for bioactive compounds against the enzyme cathepsin B. Samples were separated by HTLC and subsequently analyzed by an on-line continuous-flow enzymatic assay. Detection was performed by electrospray ionization mass spectrometry, revealing both the bioactivity and the molecular mass of the bioactive compounds. Compared to conventional reversed-phase liquid chromatography, the amount of methanol necessary for separation could be decreased to only 10%, which improved the compatibility of LC with a biochemical assay. Sufficient preheating of the mobile phase prior to the separation and postcolumn cooling to prevent deactivation of the enzyme, even at column temperatures as high as 208° C, was achieved as indicated by the reliable peak shapes obtained. The sensitivity was comparable with previously described systems operating at ambient temperatures as similar IC<sub>50</sub> values were obtained. Exposing the inhibitors to high temperatures did not lead to thermal decomposition. The separation of inhibitors and the subsequent biochemical assay was performed either isothermally at various temperatures or by applying various temperature gradients as well as at various flow rates. The results obtained clearly show the compatibility of HTLC with an enzymatic screening assay.

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

"Improved multiplex-PCR method for the simultaneous detection of food bacteria producing biogenic amines".

FEMS Microbiol. Lett. (2005) **244** 367-372.

**Abstract:** This study describes a simple and rapid multiplex-PCR method to determine the ability to produce histamine, tyramine and putrescine by bacteria. The assay is an improved method based on an assay designed for lactic acid bacteria. This improved method includes a pair of primers based on sequences from histidine decarboxylases from Gram-negative bacteria. Under the optimised conditions, the assay yielded a 367-bp DNA fragment from histidine decarboxylases of Gram-positive bacteria, 534-bp fragment from histidine decarboxylases of Gram-negative bacteria, 924-bp from bacterial tyrosine decarboxylases, and 1446-bp fragment from bacterial ornithine decarboxylases. The method was successfully applied to several biogenic amine-producing bacterial strains, even when DNAs of several target organisms were included in the same reaction. This simple

method could be easily incorporated in food control laboratories to detect potentially biogenic amine-producing bacteria in foods.

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

“Characterization of ISLp14, a functional insertion sequence in *Lactobacillus plantarum*”.

Gene (2005) **363** 202-210.

**Abstract:** A *Lactobacillus plantarum* strain, CECT 4645, was found to have insertions of a sequence (985 bp in length) at least in eight loci in its genome. The prototype copy (Lp1) of this insertion sequence (named ISLp14) has one open reading frame encoding a putative protein that is 292 amino acids in length with significant levels of similarity with IS982 family transposases. Perfect 16-bp inverted repeats were found at its termini. Upon transposition, generates 8-bp direct repeats of the target sequence, but no consensus sequences could be identified at either insertion site. The ISLp14 pattern changed over many generations on the CECT 4645 strain. This finding strongly supports our hypothesis that ISLp14 is a functional element in *L. plantarum*. Some of these elements may be cryptic, since point mutation or 1-nucleotide deletions were found in their transposase encoding genes. ISLp14 copies have been detected in *Leuconostoc mesenteroides*, *Oenococcus oeni*, and *Lactobacillus sakei*. An ISLp14 copy of *O. oeni* contained a +1 nucleotide insertion on its transposase encoding gene and, by using an experimental system, we were able to demonstrate that this specific sequence originates a +1 programmed translational frameshifting. Although the frameshifting process reported here operates at a low rate, this description might represent the first case of a functional +1 frameshifting among IS.

**DEL CASTILLO, M.D.**

“Utilización de la cáscara de huevo en la producción de lactulosa (carbohidrato prebiótico)”.

<http://www.siicsalud.com/dato/dat044/05802024.htm>

**Resumen:** La cáscara de huevo y los permeados de quesería pueden emplearse como materias primas adecuadas en la producción de lactulosa (Carbohidrato Prebiótico), la cual puede ser utilizada como ingrediente en alimentos, proporcionando una vía alternativa para el uso racional de estos residuos de la industria alimentaria.

**DEL CASTILLO, M.D., GORDON, M.H., AMES, J.M.**

“Peroxyl radical-scavenging activity of coffee brews”.

Eur. Food Res. Technol. (2005) **221** 471-477.

**Abstract:** The ORAC<sub>FL</sub> assay was used in non-automated mode to evaluate the specific peroxyl radical scavenging properties of the aqueous soluble components of green and roasted Arabica and Robusta coffee samples. A relationship between ORAC<sub>FL</sub> and the concentration of CQAs (caffeooyl quinic acids) was found for the extracts from green coffee beans. Aqueous extracts from roasted coffee beans possessed equal or stronger

scavenging power than that obtained for the green coffee beans extracts and the scavenging activity depended on the variety of coffee and the roasting conditions. Brews from Robusta coffee beans showed the highest ORAC<sub>FL</sub>. The best scavenging properties for the brews from Arabica coffee beans were detected in samples prepared from coffee beans roasted under light conditions. The data indicate that, during roasting, a complex network of reactions takes place leading to the formation of a wide number of compounds possessing specific scavenging properties. Under mild roasting conditions, caffeoyl quinic acids appear to be the main components responsible for the free radical scavenging power of coffee brews. In contrast, Maillard reaction products may be the principal components with free radical scavenging activity in more severely (medium and dark) roasted coffees.

**DOBLADO, R., ZIELINSKI, H., PISKULA, M., KOZLOWSKA, H., MUÑOZ, R., FRÍAS, J., VIDAL-VALVERDE, C.**

"Effect of processing on the antioxidant vitamins and antioxidant capacity of *Vigna sinensis* var. Carilla".

J. Agric. Food Chem. (2005) **53** 1215-1222.

**Abstract:** Cowpea (*Vigna sinensis* L. var. Carilla) flours obtained by fermentation with inoculum *Lactobacillus plantarum* (PF) or with the natural microorganisms present in the flour (NF) and subsequent heat treatment in an autoclave were prepared to study the effect of fermentation on the antioxidant vitamin content and on the antioxidant capacity. Bacterial counts and pH values, vitamins C and E, carotenoids, glutathione (GSH), superoxide dismutase-like activity (SOD-like activity), peroxyl radical-trapping capacity (PRTC), lipid peroxidation in unilamellar liposomes, and Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) were evaluated in raw and processed cowpea flours.  $\gamma$ -Tocopherol and  $\delta$ -tocopherol were found in raw cowpea, whereas vitamin C and carotenoids were not detected. An increase in the vitamin E activity was observed in PF, whereas vitamin C and carotenoids were not detected in fermented cowpea flours. Fermentation or heat treatment in an autoclave after fermentation produced processed cowpea flours with lower PRTC, glutathione content, and SOD-like activity than those of the raw seeds. However, those processes increased the capacity to inhibit the lipid peroxidation in unilamellar liposomes and TEAC. According to the results obtained in this study, the fermentation of cowpeas (naturally or with *L. plantarum*) and fermentation and subsequent heat treatment in an autoclave are good processes to obtain functional cowpea flours having higher antioxidant capacity than the raw legume.

**DUEÑAS, M., FERNÁNDEZ, D., HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA. I., MUÑOZ, R.**

"Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917".

J. Sci. Food Agric. (2005) **85** 297-304.

**Abstract:** In this work we have determined the phenolic composition of raw cowpeas (*Vigna sinensis* L) of the variety Carilla by HPLC/PAD/MS and have studied the effect of fermentation, both spontaneous and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917, on the phenolic compounds. This variety contains mainly ferulic and *p*-coumaric acids esterified with aldaric acids, together with the *cis* and *trans* isomers of the corresponding free acids. Hydroxybenzoic acids such as gallic, vanillic, *p*-hydroxybenzoic and protocatechuic were also found, along with flavonols such as amyricetin glucoside, mono- and diglycosides of quercetin and a quercetin diglycoside acylated with ferulic acid. Fermentation, both spontaneous and inoculated, modifies the content of phenolic compounds, but differently in each case. The antioxidant activity as free radical-scavenging activity has also been evaluated. Fermentation followed by heating has been shown to be a very effective process to increase the functionality of this variety of *V sinensis*. For this reason, this cowpea variety could be used as an ingredient to obtain high value-added flours.

**ELVIRA, C., GALLARDO, A., SAN ROMAN, J., CIFUENTES, A.**

“Covalent polymer-drug conjugates”.

Molecules (2005) **10** 114-125.

**Abstract:** In this work, polymer-drugs conjugates used as drug delivery systems (DDS) are revised attending to their chemical conjugation. Namely, the classification of this type of DDS is based on the conjugation sites of the reactive groups (i.e., via end groups or pendant polymer groups). Advantages and limitations of these types of DDS are discussed through representative examples of polymer-drugs and polymer-proteins conjugates recently developed.

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

“Probing the determinants of substrate specificity of a feruloyl esterase, AnFaeA, from *Aspergillus niger*”.

FEBS Journal (2005) **272** 4362-4371.

**Abstract:** Feruloyl esterases hydrolyse 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 glycoside hydrolases. Here we describe the crystal structure of inactive S133A mutant of type-A feruloyl esterase from *Aspergillus niger* (AnFaeA) in complex with a feruloylated trisaccharide substrate. Only the ferulic acid moiety of the substrate is visible in the electron density map, showing interactions through its OH and OCH<sub>3</sub> groups with the hydroxyl groups of Tyr80. The importance of aromatic and polar residues in the activity of AnFaeA was also evaluated using site-directed mutagenesis. Four mutant proteins were heterologously expressed in *Pichia pastoris*, and their kinetic properties determined against methyl esters of ferulic, sinapic, caffeic and *p*-coumaric acid. The  $k_{cat}$  of Y80S, Y80V, W260S and W260V was drastically reduced compared to that of the wild-type enzyme. However, the replacement of Tyr80 and Trp260 with smaller residues broadened the substrate specificity of the enzyme, allowing the hydrolysis

of methyl caffeate. The role of Tyr80 and Trp260 in AnFaeA are discussed in light of the three-dimensional structure.

**FLORES, G., BLANCH, G.P., RUIZ DEL CASTILLO, M.L., HERRAIZ, M.**  
“Enantiomeric composition studies in *Lavandula* species using supercritical fluids”.  
J. Sep. Sci. (2005) **28** 2333-2338.

**Abstract:** Characteristic aroma compounds in plants and essential oils of *Lavandula* from different varieties were examined. The study of the qualitative and quantitative composition of the major volatile components was faced by developing a method based on the use of supercritical fluid extraction-GC-MS (SFE-GC-MS). The optimization of a variety of parameters affecting SFE extraction enabled RSDs from three replicates lower than 2% to be achieved. Equally, recoveries of up to 59% were obtained by applying the proposed method. The use of multidimensional GC was necessary to enantiomerically resolve the target compounds. The obtained results showed enantiomeric purities >90% for all studied compounds in all varieties considered, proving the natural invariability of the enantiomeric composition of the compounds of interest. This information can be useful in authenticity studies as well as in selecting natural sources of enantiomerically pure compounds.

**FRÍAS, J., MIRANDA, M.L., DOBLADO, R., VIDAL-VALVERDE, C.**  
“Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa”.  
Food Chem. (2005) **92** 211-220.

**Abstract:** The present work studies the antioxidant capacity as well as the vitamin C and E contents of raw, fermented and germinated seeds of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. Vitamin C was quantified by micellar electrokinetic capillary electrophoresis and vitamin E isomers by high performance liquid chromatography. The antioxidant capacity was determined by spectrophotometry and expressed as trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) and by liposome methods using phospholipids bilayers. Germination, in general, brought about an increase in the content of  $\alpha$ -tocopherol, a decrease in the content of  $\gamma$ -tocopherol and did not affect the content of  $\delta$ -tocopherol, which resulted in an increment in the vitamin E activity. Vitamin C increased sharply but gradually after germination. Fermentation caused a drastic reduction in the antioxidant vitamin content, vitamin C was not detected and Tocopherol isomers decreased significantly. Germination processes caused a significant increase in antioxidant capacity (TEAC) of both hydrophilic and lipophilic extracts and fermentation produced slight changes or total reduction in TEAC, depending on process conditions. The peroxidation of egg yolk phosphatidyl-choline (PC) was inhibited by all lupin extracts in comparison with control assay. Germination was selected as a good treatment to increase antioxidant capacity and vitamin C and E contents.

**FRIAS, J., ZIELINSKI, H., PISKULA, M.K., KOZLOWSKA, H., VIDAL-VALVERDE, C.**

"Inositol phosphate content and trypsin inhibitor activity in ready-to-eat cruciferous sprouts".

Food Chem. (2005) **93** 331-336.

**Abstract:** Four cruciferous seeds (small radish, radish, white mustard and rapeseed) were germinated in order to study the fate of inositol hexaphosphate (IP-6, phytic acid) and activity of trypsin inhibitor (TIA). Reduction in the content of phytic acid depended on the time of germination. After four days of germination, when sprouts were ready-to-eat, the amount of this compound was about 50% lower in three out of the four seeds evaluated. Next, a sharp reduction in phytic acid occurred during thermal treatments (pasteurization and sterilization) of germinated rapeseed and radish sprouts. In thermal processes, a decrease in inositol hexaphosphate content was accompanied by the appearance of lower forms of inositol phosphates: IP-5, IP-4 and IP-3.

The analysis of TIA, in rapeseed and radish seeds, in four-day sprouts and in these sprouts after thermal treatment, showed that only thermal processes caused complete disappearance this activity.

**GARCÍA-BAÑOS, J.L., DEL CASTILLO, M.D., SANZ, M.L., OLANO, A., CORZO, N.**

"Maillard reaction during storage of powder enteral formulas".

Food Chem. (2005) **89** 555-560.

**Abstract:** Mono- and disaccharide compositions and Maillard reaction development in four powder enteral formulas were determined. Also, a study of the changes in this carbohydrate fraction as well as the progress of Maillard reaction during storage of two samples, under different temperature and time conditions and water activity of 0.44, was carried out. Variable amounts of fructose, glucose, lactose, sucrose, maltose and maltulose were detected in the studied samples. Furosine ( $\epsilon$ -2-furoylmethyl lysine), was present in the four enteral samples studied whereas 2-furoylmethyl alanine (2-FM-Ala) and  $\alpha$ -2-furoylmethyl lysine were only present in two samples. Storage at 30 and 50°C produced slight changes in carbohydrate composition. At the two temperatures assayed the same level of carbohydrate was found at the end of storage period studied. The maltose/maltulose ratio did not suffer notable changes under moderately-severe conditions of storage. Furosine, 2-FM-Ala and  $\alpha$ -2-furoylmethyl lysine content increased during storage, and the formation of 2-furoylmethyl arginine was detected in one stored sample. Results seem to indicate that 2-furoylmethyl derivatives of lysine, alanine and arginine could be used as good indicators of storage conditions of powder enteral formulas. Moreover, the maltose/maltulose ratio may be a quality indicator of the processing conditions during manufacture of commercial enteral products.

**GARCÍA-MORUNO, E., CARRASCOSA, A.V., MUÑOZ, R.**

"A rapid and inexpensive method for the determination of biogenic amines from

bacterial cultures by thin-layer chromatography".  
J. Food Protect. (2005) **68** 625-629.

**Abstract:** This study describes a simple, rapid, and inexpensive method to determine the ability to produce biogenic amines (BA) by bacteria in liquid culture media containing the corresponding amino acid precursor. In view of their role as starters in food fermentation, BA formation by these microorganisms has to be taken into consideration by selecting appropriate strains. For the standardization of the assay pure BA were mixed. The method avoids a prior extraction step of the amines and allows the separation and identification of the amines histamine, tyramine, putrescine, and phenylethylamine using thin-layer chromatography. The method was successfully applied to several BA-producer bacterial strains. This method constitutes a simple solution to the previous reports describing false-positive reactions in routine screening procedures generally involving the use of a differential medium containing a pH indicator.

**GÓMEZ-RUIZ, J.A., RECIO, I., PIHLANTO, A.**  
"Antimicrobial activity of ovine casein hydrolysates. A preliminary study".  
Milchwissenschaft (2005) **60** 41-44.

**Abstract:** A cation exchange Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC) method on semi-preparative scale was optimised to obtain different casein fractions from whole ovine casein. The method provided sufficient quantities of three different fractions ( $\beta$ -,  $\kappa$ - and  $\alpha_s$ -CN) in few analyses. These three fractions and whole casein were hydrolysed with pepsin, trypsin and chymotrypsin for 6 hours. The effect of casein fractions and casein hydrolysates on *Escherichia coli* JM103, a microorganism containing a luciferase structural gene, was tested *in vitro* with a bioluminescence assay. The casein fractions did not decrease the metabolic activity of *E. coli* JM 103. However,  $\beta$ -CN hydrolysates provided a strong inhibition of this activity at different concentrations. The observed effect was dose dependent, the lowest concentration (1 mg/ml) provided only a slight inhibition of bioluminescent activity (about 59.8% of the control after 4 hours), whereas 2 and 10 mg/ml showed a stronger effect on the metabolic activity of *E. coli* JM103.

**GRANITO, M., MICHEL, C., FRÍAS, J., CHAMP, M., GUERRA, M.**  
"Fermented *Phaseolus vulgaris*: acceptability and intestinal effects".  
Eur. Food Res. Technol. (2005) **220** 182-186.

**Abstract:** Dry beans such as *Phaseolus vulgaris* are an important source of nutrients, especially in developing countries. However, their consumption is limited by the flatulence problem, which occurs in the gut after their ingestion, owing to the presence of highly fermentable compounds, such as  $\alpha$ -galactosides, soluble dietary fiber, and resistant starch. It has been shown that natural fermentation reduces the content of these compounds by about 90%. In the present work, the effects of the consumption of unfermented and fermented beans (*P. vulgaris*) on the

bowel habits (frequency and faecal volume) and on the main adverse intestinal symptoms usually associated with bean consumption were compared. This study was carried out for 28 days with ten women, whose age ranged between 25 and 40 years, eating 45 g of fermented-cooked and cooked beans for 7 days, with a 2-week break between the experimental periods. A sensorial evaluation with 51 panellists was performed revealing that 56% of the panel gave the fermented samples a score between 6 and 9, corresponding to "slightly like it" and "really like it", respectively. The consumption of fermented beans significantly decreased the flatulence problem by 56.1%, the intestinal noises by 48% and the nausea by 80%. Abdominal bloating was reduced by 11%. It was concluded that the fermented and cooked beans were palatable and that the process could decrease the flatulence problem that is usually caused by the consumption of *P. vulgaris* by humans.

**GRANITO, M., TORRES, A., FRIAS, J., GUERRA, M., VIDAL-VALVERDE, C.**  
"Influence of fermentation on the nutritional value of two varieties of *Vigna sinensis*".

Eur. Food Res. Technol. (2005) **220** 176-181.

**Abstract:** Cowpeas (*Vigna sinensis*) are a good source of protein and energy. They are widely consumed all over the world, mainly in rural populations, and satisfy a considerable proportion of the protein requirements. However, like other pulses, cowpeas contain several antinutritional factors, which limit their consumption and affect the digestibility and bioavailability of nutrients. Fermentation seems to enhance the nutritive value of legumes. The present work studies the effect of natural fermentation and subsequent cooking process of two varieties of *Vigna sinensis* on the content of protein, minerals, ash, fat, soluble and insoluble dietary fiber,  $\alpha$ -galactosides, inositol phosphates, trypsin inhibitor activity (TIA), water-soluble vitamins (thiamin and riboflavin) and protein quality parameters, in vivo digestibility and PER (protein efficiency ratio). The processes applied caused a significant increase of vitamin B<sub>2</sub>, and significant reductions in the contents of TIA (40%) and phytates (100%), main antinutritional factors present in cowpeas. Likewise, the soluble fiber and  $\alpha$ -galactosides compounds that produce flatulence diminished (67 and 100%, respectively). Protein digestibility for Orituco variety was adequate among legumes (82.8-88.4%), although only *Vigna sinensis* var. Orituco showed an acceptable PER value (1.63).

**GUÉRIN-DUBIARD, C., PASCO, M., HIETANEN, A., QUIROS DEL BOSQUE, A., NAU, F., CROGUENNNEC, T.**  
"Hen egg white fractionation by ion-exchange chromatography".  
J. Chromatogr. A. (2005) **1090** 58-67.

**Abstract:** Major hen egg white proteins have been widely studied for their functional properties but these studies still are unable to explain, alone, all of the biological properties of hen egg white. Hence, it is still interesting to produce pure and non-altered proteins to improve our knowledge on the biological properties of hen egg white. Presently, identification and

characterization of both bioactive peptides and minor proteins from hen egg white is essential work for progressing in the understanding of hen egg white biological properties. With this objective in mind, a new process for a complete "mucin free" hen egg white fractionation based on ion exchange chromatography is proposed. "Mucin free" egg white is fractionated into six different fractions. Four of them are high-recovery yield purified fractions of lysozyme, ovotransferrin, ovalbumin and flavoprotein. The two other fractions are enriched in recently detected minor proteins in hen egg white.

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

"Combining solid-phase microextraction and on-line preconcentration-capillary electrophoresis for sensitive analysis of pesticides in foods".  
Electrophoresis (2005) **26** 980-989.

**Abstract:** The combined use of solid-phase microextraction (SPME) and different on-line preconcentration strategies for ultrasensitive capillary electrophoresis-ultraviolet (CE-UV) analysis of five pesticides in a single run is investigated. Normal stacking mode (NSM), field-enhanced sample injection (FESI), and stacking with matrix removal (SWMR) are explored to increase the sensitivity of the CE-UV analysis of a selected group of pesticides (cyprodinil, cyromazine, pyrifenoxy, pirimicarb, and pyrimethanil). It could be observed that reverse polarity-stacking with matrix removal (RP-SWMR) provided the best results in terms of sensitivity (enhancement was up to 272-fold compared with normal injection). The separation buffer consisted of 0.4 mM cetyltrimethylammonium chloride (CTAC), 0.4 M acetic acid at pH 4 containing 5% v/v 2-propanol. This approach was then combined with SPME to determine the pesticides in water, apple, and orange juice. The combination of both preconcentration procedures allowed the determination of these pesticides at concentrations down to 2.5 mg/L in water and 3.1 mg/L in juices (*i.e.*, levels well below the maximum residue limits allowed for these compounds). To our knowledge, this is the first report showing the great possibilities of the combined use of SPME, on-line sample preconcentration, and CE for pesticide analysis.

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

"Analysis of triazolopyrimidine herbicides in soils using field-enhanced sample injection-coelectroosmotic capillary electrophoresis combined with solid-phase extraction".

J. Chromatogr. A. (2005) **1100** 236-242.

**Abstract:** In this work, a combined methodology using off-line solid-phase extraction (SPE), on-line field-enhanced sample injection (FESI) and coelectroosmotic capillary electrophoresis with UV detection (CE-UV) is developed for the trace analysis of five triazolopyrimidine sulfonanilide pesticides (*i.e.*, flumetsulam, florasulam, cloransulam-methyl, diclosulam and metosulam). An adequate background electrolyte (BGE) was obtained for the separation of these pesticides using hexadimethrine bromide (HDB)

as electroosmotic flow(EOF) modifier. This BGE consisted of 0.00042% HDB, 11mM formic acid, 16 mM ammonium carbonate and 2.5 mM  $\alpha$ -CD solution at pH 7.6. The use of this running buffer together with the FESI preconcentration method provided limits of detection (LODs) in the low  $\mu\text{g/L}$  range (i.e., between 13.0 and 31.5  $\mu\text{g/L}$ ). The optimized FESI-CE-UV method was combined with off-line SPE using C18 cartridges and applied to the determination of the selected group of pesticides in soil samples. Recovery percentages ranged between 50 and 84% in these samples with LODs between 18 and 34  $\mu\text{g/kg}$ . This work shows the great possibilities of the combined use of SPE-FESI-CE-UV to improve CE sensitivity allowing the achievement of LODs similar to other analytical techniques as GC or HPLC.

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

“Determination of herbicides in mineral and stagnant waters at ng/L levels using capillary electrophoresis and UV detection combined with solid-phase extraction and sample stacking”.

J. Chromatogr. A. (2005) **1070** 171-177.

**Abstract:** In this work, the combined use of solid-phase extraction (SPE) and on-line preconcentration strategies as normal stacking mode (NSM) and stacking with matrix removal (SWMR) for the ultrasensitive and simultaneous capillary electrophoresis-ultraviolet analysis (CE-UV) of five triazolopyrimidine sulfonanilide pesticides (i.e., diclosulam, cloransulam-methyl, flumetsulam, metosulam and florasulam) in different types of water is investigated. An adequate separation electrolyte for the separation and stacking of these pesticides was obtained, considering also its compatibility with MS detection, which consisted of 24mM formic acid and 16mM ammonium carbonate at pH 6.4. It was observed that the use of this running buffer together with the SWMR preconcentration method provided the best results in terms of sensitivity (between 6.54 and 11.9  $\mu\text{g/L}$ ) and peak efficiency (up to 550.000 theoretical plates per meter, NTP/m). When this on-line preconcentration procedure was combined with an off-line sample preconcentration step as SPE using C18 cartridges, the selected herbicides could be detected in the ng/L range. The optimized SPE-SWMR-CE-UV method was applied to the determination of the selected group of pesticides in spiked and non-spiked mineral and stagnant waters. Recoveries ranged between 55 and 110% and limits of detection between 131 and 342 ng/L. This work shows the great possibilities of the combined use of SPE-SWMR-CE-UV to overcome the sensitivity problems usually linked to CE analysis.

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

“Analysis of pesticides in soy milk combining solid phase extraction and capillary electrophoresis-mass spectrometry”.

J. Sep. Sci. (2005) **28** 948-956.

**Abstract:** In this work, the determination of a group of triazolopyrimidine sulfoanilide herbicides (cloransulam-methyl, metosulam, flumetsulam, florasulam, and diclosulam) in soy milk by capillary electrophoresis-mass spectrometry (CE-MS) is presented. The main electrospray interface (ESI) parameters (nebulizer pressure, dry gas flow rate, dry gas temperature, and composition of the sheath liquid) are optimized using a central composite design. To increase the sensitivity of the CE-MS method, an off-line sample preconcentration procedure based on solid-phase extraction (SPE) is combined with an on-line stacking procedure (i.e. normal stacking mode, NSM). Samples could be injected for up to 100 s, providing limits of detection (LODs) down to 74 µg/L, i.e., at the low ppb level, with relative standard deviation values (RSD,%) between 3.8% and 6.4% for peak areas on the same day, and between 6.5% and 8.1% on three different days. The usefulness of the optimized SPE-NSM-CE-MS procedure is demonstrated through the sensitive quantification of the selected pesticides in soy milk samples.

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

“Chiral analysis of pollutants and their metabolites by capillary electromigration methods”.

Electrophoresis (2005) **26** 3799-3813.

**Abstract:** Chiral separation of enantiomers is one of the most challenging tasks for any analytical technique including CE. Since the first report in 1985 showing the great possibilities of CE for the separation of chiral compounds, the amount of publications concerning this topic has quickly increased. Although chiral electromigration methods have mainly been used for enantioseparation of drugs and pharmaceuticals, they have also been applied to analyze chiral pollutants. This article intends to provide an updated overview, including works published till January 2005, on the principal applications of CE to the chiral analysis of pollutants and their metabolites, with especial emphasis on articles published in the last 10 years. The main advantages and drawbacks regarding the use of CE for chiral separation of pollutants are addressed including some discussion on the foreseen trends of electromigration procedures applied to chiral analysis of contaminants.

**HERNÁNDEZ-LEDESMA, B., DÁVALOS, A., BARTOLOMÉ, B., AMIGO, L.**

“Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS”.

J. Agric. Food Chem. (2005) **53** 588-593.

**Abstract:** We have investigated the antioxidant activity of hydrolysates from whey proteins bovine  $\alpha$ -lactalbumin ( $\alpha$ -La) and  $\beta$ -lactoglobulin A ( $\beta$ -Lg A) by commercial proteases (pepsin, trypsin, chymotrypsin, thermolysin, and Corolase PP). Corolase PP was the most appropriate enzyme to obtain antioxidant hydrolysates from  $\alpha$ -La and  $\beta$ -Lg A (ORAC-FL values of 2.315 and 2.151 µmol of Trolox equivalent/mg of protein, respectively). A total of 42 peptide fragments were identified by HPLC-

MS/MS in the  $\beta$ -Lg A hydrolysate by Corolase PP. One of the sequences (Trp-Tyr-Ser-Leu-Ala-Met-Ala-Ala-Ser-Asp-Ile) possessed radical scavenging (ORAC-FL value of 2.621  $\mu\text{mol}$  of Trolox equivalent/ $\mu\text{mol}$  of peptide) higher than that of butylated hydroxyanisole (BHA). Our results suggest that whey protein hydrolysates could be suitable as natural ingredients in enhancing antioxidant properties of functional foods and in preventing oxidation reaction in food processing.

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

“Identification of antioxidant and ACE-inhibitory peptides in fermented milk”.  
J. Sci. Food Agric. (2005) **85** 1041-1048.

**Abstract:** The angiotensin-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity and antioxidant properties of a commercial fermented milk from Europe were evaluated. This dairy product showed moderate ACE-inhibitory activity and ABTS<sup>+</sup> radical-scavenging capacity. The peptides from most active fractions collected by reverse phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) were sequenced by RP-HPLC-tandem mass spectrometry. This technique allowed rapid identification of peptides included in the most active fractions, and various potentially active peptides were recognised according to previous studies of structure-activity relationship. Three of the identified sequences had previously been described as potent ACE inhibitors. The structure of some sequences substantiated the presence of peptides with ACE-inhibitory, antioxidant and immunomodulatory activities.

**HERRAIZ, T., CHAPARRO, C.**

“Human monoamine oxidase is inhibited by tobacco smoke: beta-carboline alkaloids act as potent and reversible inhibitors”.  
Biochem. Biophys. Res. Commun. (2005) **326** 378-386.

**Abstract:** Monoamine oxidase (MAO) is a mitochondrial outer-membrane flavoenzyme involved in brain and peripheral oxidative catabolism of neurotransmitters and xenobiotic amines, including neurotoxic amines, and a well-known target for antidepressant and neuroprotective drugs. Recently, positron emission tomography imaging has shown that smokers have a much lower activity of peripheral and brain MAO-A (30%) and -B (40%) isozymes compared to non-smokers. This MAO inhibition results from a pharmacological effect of smoke, but little is known about its mechanism. Working with mainstream smoke collected from commercial cigarettes we confirmed that cigarette smoke is a potent inhibitor of human MAO-A and -B isozymes. MAO inhibition was partly reversible, competitive for MAO-A, and a mixed-type inhibition for MAO-B. Two  $\beta$ -carboline alkaloids, norharman ( $\beta$ -carboline) and harman (1-methyl- $\beta$ -carboline), were identified by GC-MS, quantified, and isolated from the mainstream smoke by solid phase extraction and HPLC. Kinetics analysis revealed that  $\beta$ -carbolines from cigarette smoke were competitive, reversible, and potent inhibitors of MAO enzymes. Norharman was an inhibitor of MAO-A ( $K_i =$

$1.2 \pm 0.18 \mu\text{M}$ ) and MAO-B ( $K_i = 1.12 \pm 0.19 \mu\text{M}$ ), and harman of MAO-A ( $K_i = 55.54 \pm 5.3 \text{ nM}$ ).  $\beta$ -Carboline alkaloids are psychopharmacologically active compounds that may occur endogenously in human tissues, including the brain. These results suggest that  $\beta$ -carboline alkaloids from cigarette smoke acting as potent reversible inhibitors of MAO enzymes may contribute to the MAO-reduced activity produced by tobacco smoke in smokers. The presence of MAO inhibitors in smoke like  $\beta$ -carbolines and others may help us to understand some of the purported neuropharmacological effects associated with smoking.

**HERRERO, M., ARRÁEZ-ROMÁN, D., SEGURA, A., KENNDLER, E., GIUS, B., RAGGI, M.A., IBÁÑEZ, E., CIFUENTES, A.**

"Pressurized liquid extraction-capillary electrophoresis-mass spectrometry for the analysis of polar antioxidants in rosemary extracts".

J. Chromatogr. A. (2005) **1084** 54-62.

**Abstract:** A method based on capillary electrophoresis-electrospray-mass spectrometry (CE-ESI-MS) was developed to qualitatively characterize natural antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in different fractions obtained by pressurized liquid extraction (PLE) using subcritical water. The parameters of CE-ESI-MS were adjusted allowing the separation and characterization of different compounds from rosemary in the PLE fractions. These parameters for CE are kind, pH and concentration of the separation buffer, parameters for ESI-MS are dry gas temperature and flow, nebulizing gas pressure, and make-up flow. The following analytical conditions were found most favorable: aqueous CE buffer (40mM ammonium acetate/ammonium hydroxide, pH 9); sheath liquid containing 2-propanol-water (60:40, v/v) and 0.1% (v/v) triethylamine at a flow rate of 0.24 mL/h; drying gas flow rate equal to 7 L/min at 350 °C, nebulizing gas pressure of 13.8 kPa (2 psi), using a compound stability of 50%. Different antioxidant compounds (e.g., rosmarinic acid and carnosic acid) could be detected in the rosemary extracts by CE-ESI-MS without any additional treatment, enabling the determination of variations in the extract composition caused by the different PLE conditions (i.e., 60 and 100° C). The results provide complementary information to HPLC analysis.

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

"Analysis of natural antioxidants by capillary electromigration methods".

J. Sep. Sci. (2005) **28** 883-897.

**Abstract:** In this work, an exhaustive survey of capillary electromigration methods used to analyze natural antioxidants is presented together with some discussion of the use of these substances as functional foods. This review provides an updated and exhaustive overview of the separation and identification by capillary electrophoresis of natural compounds with antioxidant activity found in natural matrices and/or foods. The compounds concerned are catechins, isoflavones, anthocyanins, phenolic acids, vitamins, as well as other less common natural substances that have shown antioxidant activity.

**HERRERO, M., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., SEÑORÁNS, F.J., CIFUENTES, A., IBÁÑEZ, E.**

“Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga”.

Food Chem. (2005) **93** 417-423.

**Abstract:** An experimental design has been used to optimize the extraction of antioxidants from the microalga *Spirulina platensis* using accelerated solvent extraction (ASE) with four different solvents (hexane, petroleum ether, ethanol and water). The optimization of the main variables involved in the ASE process (extraction temperature and time) has been done by means of a full factorial (three levels) design using, as responses, the extraction yield and the antioxidant activity of the extracts (determined as EC<sub>50</sub>, i.e., efficient concentration, using an in vitro assay based on a free radical method). The parameters of the model, for each response variable, were estimated by multiple linear regression (MLR). The statistical analysis of the results provided mathematical models that allowed prediction of the behaviour of the different responses selected, as a function of the main variables involved in the process. It was observed that the optimum conditions that maximize yield and minimize EC<sub>50</sub> depend on the polarity of the solvent used to perform the extractions. Extraction temperature had an enormous influence in both responses while the effect of extraction time was almost negligible. Ethanol was finally selected as the extracting solvent for its GRAS (Generally Recognized as Safe) status and because it provides higher yields with medium antioxidant activities. The results presented in this work show the possibility of using a fast and easy process to recover natural antioxidants from natural sources such as microalgae.

**HERRERO, M., SIMÓ, C., IBÁÑEZ, E., CIFUENTES, A.**

“Capillary electrophoresis-mass spectrometry of *Spirulina platensis* proteins obtained by pressurized liquid extraction”.

Electrophoresis (2005) **26** 4215-4224.

**Abstract:** In this work, the usefulness of CE-MS to monitor and optimize the pressurized liquid extraction (PLE) of proteins from *Spirulina platensis* microalga is demonstrated. Crude and purified PLE extracts from microalga were analyzed by CE-MS. It was observed that the use of purification protocols of phycobiliproteins (namely, ultrafiltration or precipitation-dialysis-freeze drying) resulted in better CE resolution and MS signals, demonstrating that sample matrix plays an important role in CE-MS of proteins in real samples. Ultrafiltration was found less laborious and much faster than precipitation-dialysis-freeze drying (1 vs. 48 h). Direct analysis of crude extracts was demonstrated to be also possible by CE-MS, providing less-quality information but enough to characterize PLE extracts in a much faster way. Therefore, the latter protocol was selected to monitor and optimize the extraction process of phycobiliproteins from *S. platensis*. To do that, different extraction conditions were tested, including time, temperature and pressure of extraction, nature of pressurized liquid,

distribution of microalga inside the extraction cell, type of packing, etc. It is demonstrated that the combined use of PLE and CE-MS allows the attainment of extracts rich in phycobiliproteins in short extraction times (namely, yields of 20% can be obtained in less than 2 h under the optimum PLE process in an automatic way). To our knowledge, this work shows for the first time the usefulness of CE-MS for monitoring and optimizing a PLE process.

**JAIME, L., MENDIOLA, J.A., HERRERO, M., SOLER-RIVAS, C., SANTOYO, S., SEÑORANS, F.J., CIFUENTES, A., IBÁÑEZ, E.**

“Separation and characterization of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga combining pressurized liquid extraction, TLC, and HPLC-DAD”.

J. Sep. Sci. (2005) **28** 2111-2119.

**Abstract:** A new procedure has been developed to separate and characterize antioxidant compounds from *Spirulina platensis* microalga based on the combination of pressurized liquid extraction (PLE) and different chromatographic procedures, such as TLC, at preparative scale, and HPLC with a diode array detector (DAD). Different solvents were tested for PLE extraction of antioxidants from *S. platensis* microalga. An optimized PLE process using ethanol (generally recognized as safe, GRAS) as extraction solvent has been obtained that provides natural extracts with high yields and good antioxidant properties. TLC analysis of this ethanolic extract obtained at 1158C for 15 min was carried out and the silica layer was stained with a DPPH<sup>\*</sup> (diphenyl-pycrilhydrazyl) radical solution to determine the antioxidant activity of different chromatographic bands. Next, these colored bands were collected for their subsequent analysis by HPLC-DAD, revealing that the compounds with the most important antioxidant activity present in *Spirulina* extracts were carotenoids, as well as phenolic compounds and degradation products of chlorophylls.

**JIMÉNEZ-CASTAÑO, L., LÓPEZ-FANDIÑO, R., OLANO, A., VILLAMIEL, M.**

“Study on β-lactoglobulin glycosylation with dextran: effect on solubility and heat stability”.

Food Chem. (2005) **93** 689-695.

**Abstract:** In this paper, the characteristics of purified conjugates formed between b-lactoglobulin (β-Ig) and a high molecular weight dextran under different dry heating conditions were investigated. SDS-PAGE analyses under non-reducing and reducing conditions showed that glycation of β-Ig led to the formation of high molecular weight complexes and induced polymerization of the protein by disulfide bonds. The fluorescence emission spectra did not show changes in  $\lambda_{\text{max}}$ , which was indicative of a similar conformation around Trp residues. The conjugate formed at 60° C, 0.44  $a_w$  and 2:1 weight ratio of dextran to β-Ig (conjugate 1) exhibited a fluorescence intensity very similar to that of the native protein and was selected to study the influence of glycosylation on the solubility and heat-stability properties. Solubility of conjugate 1 was higher than that of the dry-heated β-Ig in the pH range from 3 to 9 and, particularly, around the

isoelectric point of the protein. As compared to the native protein, the solubility of the conjugate decreased at pH 4. The glycated  $\beta$ -Ig presented lower stability to heating at pH 7.0 than native  $\beta$ -Ig, but its thermal stability was higher at pH 5.0 at temperatures above 85° C.

**JIMÉNEZ-CASTAÑO, L., VILLAMIEL, M., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., OLANO, A., LÓPEZ-FANDIÑO, R.**

“Effect of the dry-heating conditions on the glycosylation of  $\beta$ -lactoglobulin with dextran through the Maillard reaction”.

Food Hydrocoll. (2005) **19** 831-837.

**Abstract:** The effect of the reactants weight ratio, temperature, water activity ( $a_w$ ) and heating time on the degree of conjugation of  $\beta$ -Lg with a high molecular weight dextran was investigated. A central composite face design was used to carry out an optimisation of the reaction conditions leading to the maximum formation of the Amadori compound, with the concentration of furosine as response variable. According to the model, the optimum conditions to achieve maximum formation of the Amadori compound were 60° C, 0.44  $a_w$  and 2:1 weight ratio of dextran to  $\beta$ -Lg. In addition, a different combination of conditions (55° C, 0.65  $a_w$  and 6:1 weight ratio of dextran to  $\beta$ -Lg) was selected to investigate its effects on the characteristics of the conjugates formed during 14 days of dry-heating. The former conditions led to a quick conjugation that then slowed down due to further modification of the amino groups to give protein aggregation. The combination of lower temperature and higher  $a_w$ , and dextran concentration promoted brown colour development and polymerization of the protein, probably through an increase in the number or reactive intermediates.

**MAESO, N., GARCÍA-MARTÍNEZ, D., RUPÉREZ. F.J., CIFUENTES, A., BARBAS, C.**

“Capillary electrophoresis of glutathione to monitor oxidative stress and response to antioxidant treatments in an animal model”.

J. Chromatogr. B. (2005) **822** 61-69.

**Abstract:** Glutathione plays a central role in metabolism and antioxidant defence. Several factors can influence the analytical efficiency and rapidity of the quantitative determination of glutathione. Procedures in sample pre-treatment have been compared in order to minimize analytical errors. Capillary electrophoresis has been chosen as a more adequate technique for obtaining a rapid and simple method for glutathione and glutathione disulfide determination in the blood and liver of the rat. The methods, once optimised, have been validated and applied for monitoring the oxidative stress in an animal model, such as the rat made diabetic by streptozotocin injection, when the animals are treated with antioxidants and compared with the corresponding controls.

**MANCA DE NADRA, M.C., FARÍAS, M.E., PUEYO, E., POLO, M.C.**

“Protease activity of *Oenococcus oeni* viable cells on red wine nitrogenous macromolecular fraction in presence of SO<sub>2</sub> and ethanol”.

**Abstract:** The protease activity of *Oenococcus oeni* X<sub>2</sub>L viable cells on red wine nitrogenous macromolecular fraction (NMF) as sole nitrogen source was determined. The enzyme releases growth factors for *Oenococcus oeni*. In presence of SO<sub>2</sub> and ethanol the rate of amino acids liberation was twofold higher. A peptide peak analyzed by HPLC with a retention time of 47 min diminishes markedly during the first 2 h incubation. *O. oeni* X<sub>2</sub>L living cells are able to produce the exoprotease and to act on the red wine NMF in the presence of SO<sub>2</sub> and ethanol releasing essential amino acids for its survival.

**MARCOBAL, A., DE LAS RIVAS, B., MORENO-ARRIBAS, M.V., MUÑOZ, R.**  
"Multiplex PCR method for the simultaneous detection of histamine-, tyramine-, and putrescine-producing lactic acid bacteria in foods".  
J. Food Prot. (2005) 68 874-878.

**Abstract:** In a screening of primers, we have selected three pairs of primers for a multiplex PCR assay for the simultaneous detection of lactic acid bacteria (LAB) strains, which potentially produce histamine, tyramine, and putrescine on fermented foods. These primers were based on sequences from histidine, tyrosine, and ornithine decarboxylases from LAB. Under the optimized conditions, the assay yielded a 367-bp DNA fragment from histidine decarboxylases, a 924-bp fragment from tyrosine decarboxylases, and a 1,446-bp fragment from ornithine decarboxylases. When the DNAs of several target organisms were included in the same reaction, two or three corresponding amplicons of different sizes were observed. This assay was useful for the detection of amine-producing bacteria in control collection strains and in a LAB collection. No amplification was observed with DNA from nonproducing LAB strains. This article is the first describing a multiplex PCR approach for the simultaneous detection of potentially amine-producing LAB in foods. It can be easily incorporated into the routine screening for the accurate selection of starter LAB and in food control laboratories.

**MARCOBAL, A., POLO, M.C., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., MORENO-ARRIBAS, M.V.**  
"Biogenic amine content of red Spanish wines: comparison of a direct ELISA and an HPLC method for the determination of histamine in wines".  
Food Res. Int. (2005) 38 387-394.

**Abstract:** Biogenic amines were determined in 61 commercial red Spanish wines from various winemaking areas and elaborated with different vinification/ageing procedures. Biogenic amines (histamine, methylamine, ethylamine, tyramine, phenylethylamine, putrescine and cadaverine) analysis was carried out by RP-HPLC with *o*-phthaldialdehyde precolumn derivatization and fluorescence detection. Overall, histamine and putrescine were the most prevalent amines, being present in 75% and 71%, respectively, of the wines, followed by tyramine (56% of the wines). There were no significant differences between biogenic amine levels and

ageing characteristics of the wines tested. Moreover, it was found that amines suspected to cause toxicological effects (histamine, tyramine and phenylethylamine) are no cause for concern in these Spanish wines as they are present in amounts well below the limit considered as physiological. A commercial competitive direct ELISA immunoassay method specific for the detection of histamine has also tested on these wines and the results were compared with the RP-HPLC method. Both methods showed a good agreement for histamine analysis of wines.

**MARTÍNEZ-RODRIGUEZ, A., MACKEY, B.M.**

“Factors affecting the pressure resistance of some *Campylobacter* species”.

Lett. Appl. Microbiol. (2005) **41** 321-326.

**Abstract:** To compare pressure resistance between strains of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* and *Campylobacter fetus*, and to investigate the effect of suspending medium on pressure resistance of sensitive and more resistant strains. Methods and Results: Six strains of *C. jejuni* and four each of *C. coli*, *C. lari* and *C. fetus* were pressure treated for 10 min at 200 and 300 MPa. Individual strains varied widely in pressure resistance but there were no significant differences between the species *C. jejuni*, *C. coli* and *C. lari*. *Campylobacter fetus* was significantly more pressure sensitive than the other three species. The pressure resistance of *C. jejuni* cultures reached a maximum at 16-18 h on entry into stationary phase then declined to a minimum at 75 h before increasing once more. Milk was more baroprotective than water, broth or chicken slurry but did not prevent inactivation even of a resistant strain at 400 MPa. Conclusions: Pressure resistance varies considerably between species of *Campylobacter* and among strains within a species, and survival after a pressure challenge will be markedly influenced by culture age and food matrix. Significance and Impact of the Study: Despite the strain variation in pressure resistance and protective effects of food, *Campylobacter* sp. do not present a particular problem for pressure processing.

**MARTÍNEZ-RODRIGUEZ, A., MACKEY, B.M.**

“Physiological changes in *Campylobacter jejuni* on entry into stationary phase”.

Int. J. Food Microbiol. (2005) **101** 1-8.

**Abstract:** *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 does not exhibit the general increase in cellular stress resistance on entry into stationary phase that is seen in most other bacteria. This is consistent with the lack of global stationary phase regulatory elements in this organism, deduced from an analysis of its genome sequence. We now show that *C. jejuni* NCTC 11168 does undergo certain changes in stationary phase, of a pattern not previously described. As cells entered stationary phase there was a change in membrane fatty acid composition, principally a decrease in the proportion of unsaturated fatty acids and an increase in the content of cyclopropane and short-chain fatty acids. These changes in membrane composition were accompanied by an increase in the resilience of the cell membrane towards loss of integrity caused by pressure and an increase in

cellular pressure resistance. By contrast, there were no major changes in resistance to acid or heat treatment. A similar pattern of changes in stress resistance on entry into stationary phase was seen in *C. jejuni* NCTC 11351, the type strain. These changes appear to represent a restricted physiological response to the conditions existing in stationary phase cultures, in an organism having limited capacity for genetic regulation and adaptation to environment.

**MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C., FRÍAS, J., VIDAL-VALVERDE, C.**

“Raffinose family oligosaccharides and sucrose contents in 13 Spanish lupin cultivars”.

Food Chem. (2005) **91** 645-649.

**Abstract:** The contents of raffinose family oligosaccharides (RFOs) and sucrose in 13 Spanish cultivars of lupin (*Lupinus albus*, *Lupinus luteus* and *Lupinus angustifolius*) were studied, with the aim of selecting those with highest amounts of these oligosaccharides in order to obtain pure RFOs for use as ingredients in functional foods. The levels of sucrose and RFOs (raffinose, stachyose and verbascose) were determined using high performance liquid chromatography (HPLC). There were large variations in the levels of individual RFOs between lupin cultivars. *L. albus* seeds were characterised by the lowest verbascose content (~0.4%), *L. luteus* seeds by the highest contents of stachyose (~7.4%) and verbascose (~3.1%) and the lowest of sucrose (~1.2%), and *L. angustifolius* seeds by the highest sucrose (~3.4%) and the lowest stachyose (~4.6%) contents. Furthermore, there was a wide variation in total  $\alpha$ -galactosides between species, with a remarkably high content found in *L. luteus* (9.5-12.3%) which was about twice that of other lupin cultivars. For this reason, *L. luteus* seeds are the best choice for obtaining pure RFOs for use as prebiotics in functional foods.

**MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C., FRÍAS, J., VIDAL-VALVERDE, C., GÓMEZ, R.**

“Raffinose family of oligosaccharides from lupin seeds as prebiotics: Application in dairy products”.

J. Food Protect. (2005) **68** 1246-1252.

**Abstract:** The raffinose family of oligosaccharides (RFOs) isolated from lupin seeds (*Lupinus albus* var. Multolupa) was evaluated for bifidogenic effects during the manufacture of probiotic fermented milk. A mixed starter inoculum was composed of *Bifidobacterium lactis* Bb-12 and *Lactobacillus acidophilus* (1:1). Lupins are a rich source of RFOs that can be used as functional food ingredients. The addition of RFOs to milk increased *B. lactis* Bb-12 and *L. acidophilus* populations at the final fermentation time compared with controls. Final fermentation products are positively affected by addition of RFOs, and time of fermentation was reduced from 12 to 10 h. When RFOs were added to milk, they were preferentially used as a carbon source (57.7%) compared with lactose (23.7%) at the end of fermentation. These results suggest that the eventual choice of *B. lactis* Bb-12 and *L. acidophilus* in a mixed culture at a 1:1 ratio and addition of

RFOs to produce a fermented milk product would have the advantages of rapid growth and acidification rate and would likely increase the probiotic effect of the final functional product.

**MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C., FRIAS, J., VIDAL-VALVERDE, C., GÓMEZ, R.**

“Alpha-galactosides from lupin: a new prebiotic for application in dairy products”.

<http://www.feedinfo.com> (Octubre 2005).

**Abstract:** The maintenance of the intestinal bacterial population, which mostly contains beneficial microorganisms and minimal putrefactive microbial flora, is important for intestinal well-being [1]. Recent research has focused on the ability of probiotic bacteria to ferment oligosaccharides considered as prebiotics, which are not hydrolyzed by the intestinal enzymes, having influence on the selective growth of bifidobacteria in the colon without being utilised by other intestinal bacteria [2-4], which support the intestinal well-being. The most studied prebiotics are inulin and fructo-oligosaccharides but legumes, specially lupin seeds, are a rich source of  $\alpha$ -galactosides or raffinose family of oligosaccharides (RFOs) which are utilised by bifidobacteria [5,6]. The ethanolic extraction of RFOs from lupin seeds produces both functional ingredients: lupin seeds with much higher protein content which can be utilised for nutritional purposes, and RFOs rich extract that can be incorporated into milk to enhance the numbers and acidification activity of bifidobacteria during manufacture of probiotic fermented milk [7,8].

**MENDIOLA, J.A., MARÍN, F.R., HERNÁNDEZ, S.F., ARREDONDO, B.O., SEÑORÁNS, F.J., IBAÑEZ, E., REGLERO, G.**

“Characterization via liquid chromatography coupled to diode array detector and tandem mass spectrometry of supercritical fluid antioxidant extracts of *Spirulina platensis* microalga”.

J. Sep. Sci. (2005) **28** 1031-1038.

**Abstract:** *Spirulina platensis* microalga has been extracted on a pilot scale plant using supercritical fluid extraction (SFE) under various extraction conditions. The extraction yield and the antioxidant activity of the extracts were evaluated in order to select those extracts with both the highest antioxidant capacity and a good extraction yield. These extracts were characterized using LC coupled to diode array detection (DAD) and LC coupled to mass spectrometry (MS) with two different interfaces, atmospheric pressure chemical ionization (APCI) and electrospray (ESI) which allowed us to perform tandem MS by using an ion trap analyzer. The best extraction conditions were as follows: CO<sub>2</sub> with 10% of modifier (ethanol) as extraction solvent, 55° C (extraction temperature) and 220 bar (extraction pressure). Fractionation was achieved by cascade depressurization providing two extracts with different activity and chemical composition. Several compounds have been identified in the extracts, corresponding to different carotenoids previously identified in *Spirulina platensis* microalga along with chlorophyll a and some degradation

products. Also, the structure of some phenolic compounds could be tentatively identified. The antioxidant activity of the extracts could be attributed to some of the above mentioned compounds.

**MIGUEL, M., DÁVALOS, A., RECIO, I., RAMOS, M., BARTOLOMÉ, B., ALEIXANDRE, A., LÓPEZ-FANDIÑO, R.**

“Obtención de péptidos con actividad antihipertensiva y antioxidante a partir de proteínas de clara de huevo”.

Alimentaria (2005) (362) 44-51.

**Resumen:** En los últimos años, los alimentos funcionales han interrumpido con fuerza en el sector alimentario, debido a la mayor concienciación de los consumidores de la relación existente entre la dieta y la salud. Dentro de los ingredientes funcionales, es decir, componentes que, incorporados al alimento, proporcionan al mismo actividades biológicas específicas que van más allá de la mera nutrición, ocupan un lugar destacado los péptidos bioactivos, por su diversidad y multifuncionalidad. La producción de péptidos bioactivos a partir de las proteínas de la clara de huevo permitiría encontrar nuevos usos I huevo de gallina, mas allá de su valor alimenticio clásico. El Presente trabajo muestra que el tratamiento de la clara de huevo con diferentes enzimas da lugar a hidrolizados contenido péptidos bioactivos. Algunos de dichos péptidos fueron identificados y se demostró que poseen actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina *in vitro*, actividad antioxidante *in vitro* y actividad antihipertensiva en ratas espontáneamente hipertensas. Estos ovoproductos: los hidrolizados completos, las fracciones de los mismos de bajo peso molecular, o sus péptidos constituyentes, podrían utilizarse, ya sea como ingredientes alimenticios funcionales o productos farmacéuticos, para el tratamiento y prevención de la hipertensión arterial.

**MIGUEL, M., LÓPEZ-FANDIÑO, R., RAMOS, M., ALEIXANDRE, A.**

“Short-term effect of egg-white hydrolysate products on the arterial blood pressure of hypertensive rats”.

Brit. J. Nutr. (2005) **94** 731-737.

**Abstract:** In the present study we evaluate the blood pressure-lowering effect of the following products: the hydrolysate obtained from egg white (EW) by enzymatic treatment with pepsin (HEW), the peptide fraction of HEW with molecular mass lower than 3000 Da (HEW<3000 Da), and three peptide sequences isolated from HEW<3000 Da (Tyr-Ala-Glu-Glu-Arg-Tyr-Pro-Ile-Leu: YAEERYPIL); (Arg-Ala-Asp-His-Pro-Phe-Leu: RADHPFL); and (Ile-Val-Phe (IVF)). These peptides, and also HEW and HEW<3000 Da, had been characterized previously *in vitro* as potent inhibitors of angiotensin-converting enzyme (ACE). EW and the products mentioned earlier were orally administered by gastric intubation, to 17-20-week-old male spontaneously hypertensive rats (SHR) and normotensive Wistar-Kyoto (WKY) rats. We measured the systolic blood pressure (SBP) and the diastolic blood pressure (DBP) of the rats by the tail cuff method before administration and also 2, 4, 6, 8 and 24 h post-administration. Distilled

water served as negative control, and we used captopril (50 mg/kg) as positive control to carry out similar experiments with a known ACE inhibitor. HEW, HEW<3000 Da and the three peptide sequences decreased SBP and DBP in SHR but they did not modify these variables in WKY rats. The peptide sequences YAEERYPIL, RADHPFL and IVF showed a potency to decrease blood pressure greater than HEW or HEW<3000 Da. The results obtained suggest that the studied products could be used as a functional food with potential therapeutic benefit in the prevention and treatment of hypertension.

**MIGUEL, M., LÓPEZ-FANDIÑO, R., RAMOS, M., ALEIXANDRE, M.A.**

“Efecto de la clara de huevo tratada con pepsina sobre el desarrollo de hipertensión arterial en ratas hipertensas”.

Cienc. Tecnol. Aliment. (2005) **4** 368-372.

**Abstract:** The effect of the hydrolysate obtained from egg white by enzymatic treatment with pepsin (HEW) on the development of hypertension of spontaneously hypertensive rats (SHR) was evaluated. Male 3-week-old SHR were randomized in five groups until the 20<sup>th</sup> week of life with the following drinking fluids: tap water, non-treated egg white (1 g/kg/day), captopril (100 mg/kg/day), HEW (0.5 g/kg/day), HEW (1 g/kg/day). The drinking fluid was tap water for all groups from the 20 to 25<sup>th</sup> week of life. Systolic (SBP) and diastolic (DBP) blood pressure were measured in the 5-, 10-, 15-, 20- and 25-week old SHR, by the tail cuff method. SBP and DBP decreased in the SHR treated with captopril and in the SHR that received HEW. SBP and DBP increased when we took away the antihypertensive treatments. HEW may be therefore a successful strategy to produce a functional food with antihypertensive activity.

**MIGUEL, M., MANSO, M.A., LÓPEZ-FANDIÑO, R., RAMOS, M.**

“Comparative study of egg white proteins from different species by chromatographic and electrophoretic methods”.

Eur. Food Res. Technol. (2005) **221** 542-546.

**Abstract:** This work describes the use of different high resolution techniques to study egg white proteins from hen, quail, duck, pheasant and ostrich. For this purpose, reversed-phase high-performance liquid chromatography, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and isoelectric focusing (IEF) were used to compare egg white proteins from these poultry species. The major proteins, lysozyme, ovalbumin, ovomucoid and ovotransferrin, were separated and identified using the three techniques. Isoforms of ovotransferrin and ovalbumin in some species were observed when IEF with gels of pH 4-6 were used. Qualitative and quantitative differences were observed among the individual proteins of the different species investigated.

**MIGUEL, M., MUGUERZA, B., SÁNCHEZ, E., DELGADO, M.A., RECIO, I., RAMOS M., ALEIXANDRE, M.A.**

“Changes in arterial blood pressure in hypertensive rats caused by long-term intake of milk fermented by *Enterococcus faecalis* CECT 5728”.

**Abstract:** We have evaluated the changes in arterial blood pressure caused in spontaneously hypertensive rats (SHR) by long-term intake of an *Enterococcus faecalis* CECT 5728-fermented milk with significant angiotensin-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity. After being weaned, male 3-week-old SHR were randomized into five groups. Until the 20th week of life, rats in each group were given one of the following drinking fluids: tap water (negative control!), a fermented milk without ACE-inhibitory activity (negative control 2), captopril (100 mg/kg) (positive control), the *E. faecalis* CECT 5728-fermented milk that had significant ACE-inhibitory activity, or Ca-enriched *E. faecalis* CECT 5728-fermented milk. Animals in the different groups were then given tap water as drinking fluid from the 20th to 25th week of life. Systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured weekly in the rats, from the 6th to 25th week of life, by the tail-cuff method. A definite decrease in SBP and DBP could be observed in the rats treated with captopril and also in the rats that received the *E. faecalis* CECT 5728-fermented milks. The greatest antihypertensive effect was observed when the pharmacological treatment was administered. The effect of the Ca-enriched fermented milk was slightly more accentuated and more constant than the effect of the *E. faecalis* CECT 5728-fermented milk that had not been enriched in Ca. SBP and DBP increased in the treated SHR when the corresponding antihypertensive treatment was removed. Fermentation of milk with *E. faecalis* CECT 5728 may therefore be a successful strategy to produce a functional food with antihypertensive activity.

**MIQUEL, E., GÓMEZ, J.A., ALEGRÍA, A., BARBERÁ, R., FARRÉ, R., RECIO, I.**

"Identification of casein phosphopeptides released after simulated digestion of milk-based infant formulas".

J. Agric. Food Chem. (2005) 53 3426-3433.

**Abstract:** Adapted, follow-up, probiotic follow-up, toddler, and probiotic toddler infant formulas were subjected to an in vitro enzymatic procedure simulating physiological digestion. The formation and identification of casein phosphopeptides (CPPs) in the milk-based infant formulas were studied using reversed phase high-performance liquid chromatography coupled on line to an ion trap mass spectrometer. Most CPPs formed contained the cluster sequence SpSpSpEE, a mineral binding site. Phosphopeptide  $\alpha_{s2}$ -CN(1-19)4P was present in all formulas analyzed. Probiotic formulas released CPPs not detected in nonprobiotic formulas and probably formed by bifidobacteria action. These observations suggest that physiological digestion of these products promotes the formation of bioactive peptides with mineral carrier properties in the gastrointestinal tract, which resist further proteolysis.

**MIRALLES, B., RAMOS, M., AMIGO, L.**

"Characterization of fresh cheeses by capillary electrophoresis".

Milchwissenschaft (2005) 60 278-282.

**Abstract:** Capillary electrophoresis was evaluated as a technique to determine the different technologies and origin of milk in fresh cheeses. Capillary electrophoresis analysis of the casein fraction of commercial samples of Quarg, Burgos and Mozzarella cheese samples showed different electrophoretic patterns depending on the elaboration process. The presence of intact  $\kappa$ -casein (CN) in the electropherograms revealed an acid coagulation while para- $\kappa$ -CN and the absence of  $\kappa$ -CN was characteristic of rennet coagulated cheeses. Presence of the whey proteins  $\alpha$ -lactalbumin ( $\alpha$ -La) and  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -Lg) indicated the use of ultrafiltration in the manufacture. Distorted whey and casein peaks were the result of a high heat treatment applied to cheese milk. In the case of Mozzarella fresh cheeses, cow's milk could be distinguished from buffalo milk cheese by the migration times of caseins. The quantification of  $\beta$ -Lg and para- $\kappa$ -CN in the electropherograms allowed to determine the different technologies and origin of milk in fresh cheeses.

**MONAGAS, M., BARTOLOMÉ, B., GÓMEZ-CORDOVÉS, C.**

"Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle. II. Non-anthocyanin phenolic compounds".

Eur. Food Res. Technol. (2005) **220** 331-340.

**Abstract:** The evolution of non-anthocyanin phenolic compounds (as measured by high-performance liquid chromatography) in young red wines from *Vitis vinifera* L. cv Tempranillo, Graciano and Cabernet Sauvignon (vintage 2000) from Navarra (Spain) was studied during 26 months of aging in the bottle. Hydroxybenzoic acids and derivatives (gallic, protocatechuic, vanillic and syringic acids, and methyl and ethyl gallates), hydroxycinnamic acids and derivatives (*trans*-caftaric, cutaric, caffeic and  $\rho$ -coumaric acids, and hexose esters of *trans*- $\rho$ -coumaric acid), stilbenes (*trans*- and *cis*-resveratrol-3-*O*-glucosides, and *trans*- and *cis*-resveratrol), phenolic alcohols and other related compounds (tyrosol and tryptophol), flavanols [procyanidins B1 and B2, (+)-catechin and (-)-epicatechin] and flavonols (myricetin-3-*O*-glucoside, quercetin-3-*O*-galactoside and quercetin-3-*O*-glucuronide, kaempferol-3-*O*-glucoside, myricetin and quercetin) presented different evolution patterns during aging, in some cases also being different depending on the grape variety studied. The changes that occurred during aging in the bottle were the decrease of the concentration of *trans*-caftaric and cutaric acids accompanied by an increase of *trans*-caffeic acid and, especially of *trans*- $\rho$ -coumaric acid. The greater increase of *trans*- $\rho$ -coumaric acid was also associated with the disappearance of  $\rho$ -coumaroyl-acylated anthocyanins that occurs during aging in the bottle. Flavanols registered a major decrease, with the disappearance rate being greater for the dimeric procyanidins than for the monomeric flavanols, and the order of the disappearance rate by variety was as follows: Tempranillo < Graciano  $\cong$  Cabernet Sauvignon. The low disappearance rate of flavanols in wines from Tempranillo was attributed to their low reactivity with anthocyanins, which in turn could be associated

with the particular anthocyanin-to-flavanol ratio and with the high pH value of this variety.

**MONAGAS, M., BARTOLOMÉ, B., GÓMEZ-CORDOVÉS, C.**

“Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine”.

Crit. Rev. Food Sci. Nutrit. (2005) **45** 85-118.

**Abstract:** Phenolic compounds are partly responsible for the colour, astringency, and bitterness of wine, as well as for numerous physiological properties associated with wine consumption. Mass spectrometry has allowed for great progress in the identification and characterization of wine polyphenols. The aim of the present article is to summarize the numerous advances recently achieved in this field. The main type of phenolic compounds found in wine, including hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids, stilbenes, flavones, flavonols, flavanonols, flavanols, and anthocyanins, are firstly described. Chemical reactions and mechanisms involving phenolic compounds during winemaking are also extensively discussed, including enzymatic and chemical oxidation reactions, direct and acetaldehyde-mediated anthocyanin-tannin condensation reactions, acetaldehyde-mediated and glyoxylic acid-mediated tannin-tannin condensation reactions and, C-4/C-5 anthocyanin cycloaddition reactions with 4-vinylphenols, vinylflavanols and pyruvic acid, among others, leading to the formation of pyranoanthocyanins. Useful mass spectral data of well-known and novel phenolic compounds recently identified in wine, and details related to their fragmentation pathway according to different ionization techniques, are given.

**MONAGAS, M., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., BARTOLOMÉ, B.**

“Evolution of polyphenols in red wines from *Vitis vinifera* L. during aging in the bottle. I. Anthocyanins and pyranoanthocyanins”.

Eur. Food Res. Technol. (2005) **220** 607-614.

**Abstract:** The evolution of anthocyanins and pyranoanthocyanins (as measured by high-performance liquid chromatography) in young red wines from *Vitis vinifera* L. cv Tempranillo, Graciano and Cabernet Sauvignon (vintage 2000) from Navarra (Spain) was studied during 26 months of aging in the bottle. For the anthocyanin pigments of grape origin, a progressive decrease in their concentration, corresponding to first-order kinetics, was observed during this period. Independently of the anthocyanin structure studied, grape anthocyanins in Tempranillo wine presented twofold slower kinetics than those in Graciano and Cabernet Sauvignon wines, which exhibited a very similar disappearance rate. Acylated anthocyanins presented a slightly higher disappearance rate than the nonacylated ones, indicating the possible hydrolysis of the former into the latter forms. However, no distinction was observed in the kinetics of the different anthocyanidin forms (delphinidins, petunidins, peonidins and malvidins). These results indicate that during aging under nonoxidative conditions (bottle), the chemical reactivity of grape anthocyanins in wine is influenced by the grape variety, a factor that imposes over the stability associated with the chemical structure of each anthocyanin form. In

relation to the evolution of pyranoanthocyanins, anthocyanin-pyruvic acid adducts presented a similar or lower disappearance rate than their corresponding anthocyanin precursors during the first months of aging in the bottle, while anthocyanin-vinylphenol and anthocyanin-vinylflavanol adducts did not exhibit significant variations during the whole period studied.

**MONAGAS, M., SUÁREZ, R., GÓMEZ-CORDOVÉS, C., BARTOLOMÉ, B.**

“Simultaneous determination of nonanthocyanin phenolic compounds in red wines by HPLC-DAD/ESI-MS”.

Am. J. Enol. Vitic. (2005) **56** 139-147.

**Abstract:** The nonanthocyanin phenolic compounds of wines from *Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo, Graciano, Cabernet Sauvignon, and Merlot (vintage 2000, Navarra, Spain), vinified under the same conditions, were extracted with ethyl acetate and diethyl ether and analyzed by high-performance liquid chromatography-diode array detection/electrospray ionization-mass spectrometry (HPLC-DAD/ESI-MS) (negative mode). A total of 47 phenolic compounds were identified in the different wines, including nonflavonoids (hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids and their derivatives, stilbenes, and phenolic alcohols and other related compounds) and flavonoids (flavanols, flavonols, and dihydroflavanols). Novel phenolic acid derivatives, such as the methyl and ethyl esters of gallic acid and some hexose esters of vanillic and p-coumaric acids, were also detected. The concentration of nonflavonoid compounds was higher for Cabernet Sauvignon (62.23 mg/L) and Graciano (57.82 mg/L) wines than for Merlot (47.52 mg/L) and Tempranillo (43.70 mg/L). The concentration of flavonoid compounds was highest for Graciano wine (119.41 mg/L), followed by Cabernet Sauvignon (104.58 mg/L), Merlot (77.54 mg/L), and Tempranillo (50.56 mg/L) wines. Differences between wines were found in the quantified proportion of hydroxybenzoic acids (16.3 to 29.5%), stilbenes (0.3 to 2.9%), phenolic alcohols and other related compounds (9.4 to 17.0%), flavanols (42.9 to 56.1 %), and flavonols (10.1 to 15.3%). ESI-MS was confirmed as a valuable tool for obtaining potentially important information on specific phenolic compounds in wine.

**MONTILLA, A., DEL CASTILLO, M.D., SANZ, M.L., OLANO, A.**

“Egg shell as catalyst of lactose isomerisation to lactulose”.

Food Chem. (2005) **90** 883-890.

**Abstract:** A feasible way to produce lactulose, employing milk ultrafiltrate as source of lactose and egg shell as catalyst, is proposed as an alternative means for utilising these industrial wastes. Influences of catalyst loadings, lactose concentration and pH on lactose isomerisation were studied. Optimal production of lactulose was reached at 98° C, employing 6 mg/ml of catalyst loading within 60 min of reaction. Quantities of lactulose of 1.18 g/100 ml and low levels of secondary products (epi-lactose, galactose and organic acids) were produced under these

conditions of reaction. Methodology to remove coloured by-products from lactulose syrup in a range of 65-92% was established.

**MONTILLA, A., MORENO, F.J., OLANO, A.**

"A reliable gas capillary chromatographic determination of lactulose in dairy samples".

Chromatographia (2005) **62** 311-314.

**Abstract:** A gas capillary chromatography of silylated carbohydrates on SPB-17 phase (50% diphenyl/50% dimethylsiloxane) method for the determination of lactulose has been developed. The method has been evaluated for precision and accuracy using phenyl- $\beta$ -D-glucoside as internal standard with satisfactory results and, then, applied to 27 commercial milk samples (pasteurized, UHT, sterilized, powder, condensed and chocolate-based milks). Results showed that it was suitable for the determination of lactulose in milks subjected to heat treatments of different intensity, giving good chromatographic resolution, as well as precise and reproducible results. Thus, lactulose levels found in pasteurised milk ( $n = 6$ ) ranged from 13.0 – 32.1mg L<sup>-1</sup>, UHT milk ( $n = 10$ ) ranged from 95.6-437.1mg L<sup>-1</sup>, sterilized milk ( $n = 2$ ) above 622.7mg L<sup>-1</sup> and reconstituted powder milk ( $n = 3$ ) ranged from 24.2 to 48.8mg L<sup>-1</sup> were similar to those previously reported. In addition, this method provided a good separation between sucrose and lactulose/lactose peaks which allowed the suitable quantification of lactulose in samples such as condensed and chocolate-based milks which contain a high concentration of sucrose.

**MORATA, A., GÓMEZ-CORDOVÉS, M.C., COLOMO, B., SUÁREZ, J.A.**

"Cell wall anthocyanin adsorption by different *Saccharomyces* strains during the fermentation of *Vitis vinifera* L. cv Graciano grapes".

Eur. Food Res. Technol. (2005) **220** 341-346.

**Abstract:** This work reports the adsorption of anthocyanins by the cell walls of different strains of *Saccharomyces* during the production of red wine from *Vitis vinifera* L. cv Graciano grapes. The anthocyanin derivative contents of the yeast cell walls were substantially different to those of their corresponding wines. Cinnamoyl derivatives (6-p-coumaroyl and 6-caffeooyl) were strongly adsorbed while vitisins (adducts of pyruvic acid and acetaldehyde) were weakly adsorbed. The mean total anthocyanin concentration of the wines was 507.64 mg L<sup>-1</sup> with the following distribution: 3-glucosides (3G), 82.2%; vitisins, 0.97%; 6-acetyl derivatives, 7.44%; 6-caffeooyl derivatives, 1.81%; and 6-p-coumaroyl derivatives, 7.54%. A mean of 18.57 mg of anthocyanins were adsorbed by the lees corresponding to 1 L of wine; this quantity was distributed: 3G, 52.60%; vitisins, 0.15%; 6-acetyl derivatives, 4.06%; 6-caffeooyl derivatives, 6.61 %; and 6-p-coumaroyl derivatives, 36.58%. Large differences were seen between the different yeast strains examined with respect to the quantities of anthocyanins adsorbed. The mean adsorption percentage was 3.67%, but this varied between 1.60% (strain 3V A) and 5.85% (strain 9CV). The adsorption percentage of 6-p-coumaroyl derivatives for strain 3V A (7.61 %)

was fourfold less than that of 9CV (28.37%). Strains 2EV and 3VA showed no vitisin adsorption.

**MORENO, F.J., MALDONADO, B.M., WELLNER, N., MILLS, E.N.C.**

"Thermostability and in vitro digestibility of a purified major allergen 2S albumin (Ses i 1) from white sesame seeds (*Sesamum indicum* L.)".

Biochim. Biophys. Acta (2005) **1752** 142-153.

**Abstract:** A major 2S albumin allergen, Ses i 1, from white sesame seeds was purified to homogeneity, characterized and identified using proteomic techniques. Ses i 1 exhibited a molecular weight of 12062 Da, although an extensive C-terminal clipping of the small subunit was observed. In addition, the N-terminal glutamine of the small subunit had been converted to pyroglutamate and a variant of the large subunit which had lost the N-terminal glutamine was also detected. The protein was thermo-stable up to 90° C at neutral and acid pH, retaining its monomeric state and showing minimal alterations, which were reversible on cooling, in a predominantly  $\alpha$ -helical secondary structure, as shown by circular dichroism and Fourier transform-infrared spectroscopy. Ses i 1 was also highly resistant to digestion using a physiologically relevant in vitro gastrointestinal model system. After 2 h of gastric digestion, the allergen remained completely intact and only the small subunit was cleaved during 2 h of subsequent duodenal digestion, leaving a major IgE epitope region of this protein intact. Neither prior heating of the Ses i 1 nor the presence of the physiological surfactant phosphatidylcholine affected the pattern of proteolysis. These findings are consistent with those found for the 2S albumin allergen from Brazil nut, Ber e 1, and suggest that Ses i 1 may preserve its structure from the degradation in the gastrointestinal tract, a property thought to be crucial for both a protein to sensitise the mucosal immune system and provoke an allergic reaction in a sensitised individual.

**MORENO, F.J., MACKIE, A.R., CLARE MILLS, E.N.**

"Phospholipid interactions protect the milk allergen  $\alpha$ -Lactalbumin from proteolysis during in vitro digestion".

J. Agric. Food Chem. (2005) **53** 9810-9816.

**Abstract:** Interactions with food components may alter the resistance of food proteins to digestion, a property thought to play an important role in determining allergenic properties. The kinetics of breakdown of the bovine milk allergen  $\alpha$ -lactalbumin during in vitro gastrointestinal digestion was found to be altered by interactions with physiologically relevant levels of phosphatidylcholine (PC), a surfactant that is abundant both in milk and is actively secreted by the stomach. Breakdown during gastric digestion was slowed in the presence of PC and accompanied by small alterations in the profile of resulting peptides, with little effect being observed during subsequent duodenal digestion.  $\alpha$ -Lactalbumin was found to unfold at gastric (acid) pH, giving a CD spectrum similar to that obtained for the partially folded state it is known to adopt at pH values below its isoelectric point. Fluorescence polarization studies performed at low pH indicated that this partially unfolded form of the protein was able to penetrate into the PC

vesicles. These interactions are probably responsible for the slowing of gastric digestion by reducing the accessibility of the protein to pepsin. These findings show that interactions with other food components, such as lipids, may alter the rate of breakdown of food proteins in the gastrointestinal tract. It underlines the importance of the food matrix in affecting patterns of food allergen digestion and hence presentation to the immune system and that in vitro digestion systems used for assessing digestibility of allergens must take account of surfactants.

**MORENO-ARRIBAS, M. V., POLO, M.C.**

“Estado actual de los conocimientos científicos sobre los aspectos del vino relacionados con la salud del consumidor”.

Alim. Nutri. Salud (2005) **12** 71-81.

**Resumen:** En esta revisión se muestra una visión general del estado actual de los conocimientos científicos más importantes sobre los aspectos del vino que tienen implicación en la salud del consumidor. Además de revisar distintas alternativas y propuestas que permiten evitar la presencia de componentes del vino potencialmente negativos para la salud humana, se recogen los trabajos de investigación emprendidos en los últimos años que han permitido establecer las bases científicas sobre los compuestos del vino con efectos biológicos positivos. Con ello, se pretende aportar un mensaje de tranquilidad a los consumidores que deben de saber que desde la investigación, la tecnología y el control de las Administraciones, se están poniendo todos los medios necesarios para que el vino, además de una bebida placentera, sea una bebida saludable si se consume de forma responsable.

**MORENO-ARRIBAS, M.V., POLO, M.C.**

“Winemaking biochemistry and microbiology: Current knowledge and future trends”.

CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr. (2005) **45** 265-286.

**Abstract:** The fermentation of grape must and the production of premium quality wines are a complex biochemical process that involves the interactions of enzymes from many different microbial species, but mainly yeasts and lactic acid bacteria. Yeasts are predominant in wine and carry out the alcoholic fermentation, while lactic acid bacteria are responsible for malolactic fermentation. Moreover; several optional winemaking techniques involve the use of technical enzyme preparations. Considerable progress has been made recently in understanding the biochemistry and interactions of enzymes during the winemaking process. In this study, some of these recent contributions in the biochemistry of winemaking are reviewed. This article intends to provide an updated overview (including works published until December; 2003) on the main biochemical and microbiological contributions of the different techniques that can be used in winemaking. As well as considering the transformations that take place in traditional winemaking, the production of special wines, such as sparkling wines, 'sur lie' wines, and biologically aged wines, are also studied.

**NUÑEZ, Y., CARRASCOSA, A.V., GONZÁLEZ, R., POLO, M.C., MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.**

“Effect of accelerated autolysis of yeast on the composition and foaming properties of sparkling wines elaborated by a champenoise method”.

J. Agric. Food Chem. (2005) **53** 7232-7237.

**Abstract:** Five mutants (obtained by UV mutagenesis) and the parent strain were selected to produce sparkling wines following the traditional or champenoise method. The wines were aged with the yeast for 9 months, with samples being taken each month for analytical and sensory determinations. The wines elaborated with mutant strain IFI4731 demonstrated an accelerated release of protein, amino acids, and polysaccharides. An analysis of the secreted polysaccharides revealed that mannose was the major sugar present. The effects of the products released by yeasts on the foaming properties of the wines were determined by both sensory and instrumental analysis. In all cases, the wines elaborated with mutant strain IFI4731 showed improved foaming properties as compared to wines fermented without this strain. Similar results were obtained at a decreased aging time of 6 months, thereby confirming the capacity of IFI4731 strain 10 carry out an accelerated autolysis. These results demonstrate that mutant strain IFI4731 can significantly reduce production times of high-quality sparkling wines.

**OLANO, A., DEL CASTILLO, M.D.**

“Carbohidratos prebióticos”.

Alim. Nutri. Salud (2005) **12** 82-90.

**Resumen:** Los carbohidratos prebióticos son ingredientes alimentarios que no son digeridos ni en el estómago ni en el intestino delgado y llegan intactos al colon donde estimulan selectivamente el crecimiento de bacterias beneficiosas para la salud. La lactulosa, obtenida mediante isomerización de la lactosa, la inulina, polisacárido de reserva de vegetales, fructooligosacáridos y galactooligosacáridos, obtenidos mediante síntesis enzimática, constituyen los principales carbohidratos prebióticos utilizados actualmente como ingredientes en alimentación. Los productos originados durante su metabolismo aumentan la presión osmótica del contenido intestinal lo que da lugar a una mayor motilidad aumentando la frecuencia de las deposiciones. Otros efectos beneficiosos atribuidos a los carbohidratos prebióticos incluyen estimulación de la respuesta inmune y reducción del riesgo de osteoporosis, enfermedades cardiovasculares y cáncer. El creciente interés que envuelve a estos ingredientes alimentarios hace que su utilización en el mercado español e internacional sea cada vez mayor. La presencia de ingredientes prebióticos se indica explícitamente en el envase del alimento. Respecto al etiquetado, la presentación y publicidad de estos alimentos la Unión Europea determina que no pueden atribuirse propiedades preventivas, de tratamiento o de curación de enfermedades. En esta línea, la Unión Europea exigirá que las alegaciones sanitarias de todos los alimentos funcionales, incluidos los prebióticos, estén científicamente demostradas.

**POLO, M.C., MORENO-ARRIBAS, M.V.**

"Origen de las aminas biógenas del vino y métodos de cuantificación".

ACE Revista de Enología (Barc., Internet). Abril (2005), nº 56 [consulta 26 abril 2005]

[http://www.acenologia.com/ciencia70\\_02.htm](http://www.acenologia.com/ciencia70_02.htm)

**Resumen:** Las aminas biógenas son bases orgánicas dotadas de actividad biológica que provienen esencialmente de la descarboxilación de los aminoácidos. Están presentes en diversos alimentos y bebidas de forma natural, como consecuencia de un proceso normal de fermentación o de una alteración microbiana. Las principales aminas biógenas descritas en el vino son: putrescina, cadaverina, agmatina, espermidina y espermina (alifáticas), tiramina y 2-feniletilamina (aromáticas) e histamina y triptamina (heterocíclicas). En el vino están presentes además aminas volátiles, con escasa actividad biológica aunque sí sensorial, que proceden de la aminación del correspondiente aldehído o de la transaminación del aldehído a partir de un aminoácido. Entre ellas, se han descrito: metilamina, pirrolidina, morfolina, isoamilamina, etilamina, hexilamina, isopropilamina, isobutilamina, n-butilamina, n-amilamina, dimetilamina, n-propilamina, etanolamina y 3-metiltiopropilamina.

**POZO-BAYÓN, M.A., G-ALEGRIÁ, E., POLO, M.C., TENORIO, C., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., CALVO DE LA BANDA, M.T., RUIZ-LARREA, F., MORENO-ARRIBAS, M.V.**

"Wine volatile and amino acid composition after malolactic fermentation: Effect of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* starter cultures".

J. Agric. Food Chem. (2005) **53** 8729-8735.

**Abstract:** Red wine amino acids and volatile compounds were analyzed before and after malolactic fermentation carried out by four different starter cultures of the species *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum*. The purpose of this study was to determine whether differences can be attributed to the lactic acid bacteria strain used in this important step of the wine-making process. The malolactic cultures selected for this study were indigenous wine lactic acid bacteria strains. The data were evaluated using different multivariate analysis techniques. Results showed different malolactic behaviors for *O. oeni* and *L. plantarum* and significant metabolic differences between both species. A degree of diversity was found within each lactic acid bacteria group, since wines presented specific characteristics depending on the lactic acid bacteria strain used. In all cases, malolactic fermentation seemed to modify the amino acid and volatile composition of the wine.

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

"Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from caprine kefir".

J. Dairy Sci. (2005) **88** 3480-3487.

**Abstract:** In this study, a potent angiotensin-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity was found in a commercial kefir made from caprine milk. The low molecular mass peptides released from caseins during fermentation were mainly responsible for this activity. Sixteen peptides were identified by HPLC-tandem mass spectrometry. Two of these peptides, with sequences PYVRYL and LVYPFTGIPN, showed potent ACE-inhibitory properties. The impact of gastrointestinal digestion on ACE-inhibitory activity of kefir peptides was also evaluated. Some of these peptides were resistant to the incubation with pepsin followed by hydrolysis with Corolase PP. The ACE-inhibitory activity after simulated digestion was similar to or slightly lower than unhydrolyzed peptides, except for peptide  $\beta$ -casein f(47-52) (DKIHPF), which exhibited an activity 8 times greater after hydrolysis.

**RADA-MENDOZA, M., OLANO, A., VILLAMIEL, M.**

“Chemical indicators of heat treatment in fortified and special milks”.

J. Agric. Food Chem. (2005) 53 2995-2999.

**Abstract:** Carbohydrate and furosine contents in 12 commercial fortified and special milk samples (pasteurized goat's and ewe's milks; ultrahigh-temperature (UHT) goat's milk, UHT milks fortified with calcium, magnesium, fiber, or royal jelly and honey; and lactose-hydrolyzed milks) were analyzed. Except for lactose-hydrolyzed milks, furosine, lactose, lactulose, galactose, glucose, N-acetylgalactosamine, N-acetylglucosamine, and myo-inositol contents were similar to the previously reported values for UHT or pasteurized milk samples. In lactose-hydrolyzed milks, lactulose was not detectable and lactose was present in low amount; high levels of glucose, galactose, fructose, tagatose, and furosine were also detected in this type of milk. Results found in commercial milks were compared to those obtained in laboratory-prepared UHT milks with lactose hydrolyzed prior to heating. Hydrolysis of lactose before thermal treatments promoted elevated accumulation of reducing sugars (galactose and glucose) that could be partially converted to the corresponding isomers (tagatose and fructose) during heating. In addition, the reducing sugars could also react with the amino groups of proteins, giving rise to the corresponding Amadori compound. According to the obtained results, heating prior to hydrolysis of lactose is suggested to avoid a considerable loss of available lysine.

**RADA-MENDOZA, M., OLANO, A., VILLAMIEL, M.**

“Estimación de la actividad de agua en confituras, mermeladas y alimentos infantiles derivados de frutas”.

Alimentaria (2005) (360) 81-84.

**Resumen:** En este trabajo se ha estudiado, en confituras, mermeladas y alimentos infantiles, la correlación entre la actividad de agua ( $a_w$ ) y el contenido en humedad (%), con objeto de disponer de un modelo matemático que permita calcular la  $a_w$  sin tener que realizar el análisis directo de la misma. Se han analizado 21 muestras de confituras, 25 de mermeladas y 18 de alimentos infantiles, todos ellos elaborados con

diferentes tipos de frutas. Se ha obtenido una ecuación por cada tipo de alimento con valores del coeficiente de correlación (*r*) comprendido en el intervalo 0,5535-0,8786, encontrándose la mayor dispersión en el caso de las muestras de confituras. Los tres modelos propuestos fueron aceptables, ya que la diferencia en valor absoluto entre los valores experimentales y calculados fue inferior a 0,02 para la mayoría de las muestras estudiadas. Por todo ello, la aplicación de los modelos matemáticos propuestos permiten el cálculo de la  $a_w$  en función del porcentaje en humedad en muestras de confituras, mermeladas y alimentos infantiles.

**RAMÍREZ, P., FORNARI, T., SEÑORÁNS, F.J., IBÁÑEZ, E., REGLERO, G.**

"Isolation of phenolic antioxidant compounds by SFC".

J. Supercrit. Fluids (2005) **35** 128-132.

**Abstract:** Specially designed chromatographic columns were evaluated for antioxidant compounds separation by supercritical fluid chromatography (SFC) with pure CO<sub>2</sub>. Columns studied involved the use of commercial octadecylsilica particles (ODS) and silica particles coated with a stationary phase commonly used in gas chromatography, such as CW20M (polyethylene glycol) of high polarity. In order to select the appropriate chromatographic conditions to elute antioxidant compounds of phenolic structure, carnosic acid was selected as a model molecule and a theoretical study of the solubility of carnosic acid was performed. Carnosic acid was eluted using CO<sub>2</sub> as mobile phase (without modifiers) with a pressure programming up to 37MPa (and at different temperatures) but only when coated particles were used. No elution was possible when ODS particles were tested, probably due to the strong interactions of the acid group of the molecule with the active sites remaining in the column. A separation of a complex mixture of a rosemary antioxidant extract (obtained by supercritical fluid extraction) using the columns designed in the present work is shown.

**RECIO, I., LÓPEZ-FANDIÑO, R.**

"Efectos en la salud de los ingredientes lácteos funcionales".

Alim. Nutri. Salud (2005) **12** 121.131.

**Resumen:** El empleo de productos lácteos funcionales proporciona la oportunidad de combinar alimentos de amplio uso, aceptabilidad y tolerancia, con moléculas biológicamente activas, como estrategia para corregir pequeñas disfunciones metabólicas que pueden conducir a enfermedades crónicas. En este artículo se han revisado los conocimientos actuales sobre los ingredientes funcionales de origen lácteo, fundamentalmente proteínas, péptidos bioactivos, lípidos, carbohidratos, calcio y ácido fólico, destacando aquellos casos en los que las alegaciones funcionales están avaladas por suficientes estudios clínicos controlados en humanos.

**RODRÍGUEZ, I., HERRERO, M., IBÁÑEZ, E., CIFUENTES, A.**

"Las microalgas como fuente de productos bioactivos".

Alimentaria (2005) (362) 52-56.

**Resumen:** El presente trabajo se engloba dentro de una de las líneas de investigación de nuestro laboratorio: la búsqueda de nuevos ingredientes alimentarios con actividad biológica (p.ej., antioxidantes o antimicrobianos) a partir de fuentes naturales como plantas y microalgas. Se presentan algunas ideas generales y resultados relativos a la obtención de ingredientes alimentarios funcionales (o nutraceuticos) a partir de la microalga *Spirulina platensis*. En concreto, en este trabajo se describe el empleo de nuevos procesos de extracción y fraccionamiento empleando fluidos sub- y supercríticos, así como la caracterización química y funcional de los extractos obtenidos. Para la caracterización química se desarrollan y aplican nuevos métodos de análisis basados principalmente en técnicas cromatográficas y electroforéticas capilares acopladas a espectrometría de masas. La caracterización biológica de la actividad antioxidante (y antimicrobiana) se lleva a cabo inicialmente mediante ensayos *in vitro* y posteriormente es corroborada mediante ensayos *in vivo*.

**SANTOYO, S., CAVERO, S., JAIME, L., IBÁÑEZ, E., SEÑORÁNS, F.J., REGLERO, G.**

"Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction".

J. Food Protect. (2005) **68** 790-795.

**Abstract:** The chemical composition and antimicrobial activity of essential oil-rich fractions obtained by supercritical CO<sub>2</sub> extraction from *Rosmarinus officinalis* L. were investigated. Gas chromatography-mass spectroscopy analysis of these fractions resulted in the identification of 33 compounds of the essential oil. The main components of these fractions were α-pinene, l,8-cineole, camphor, verbenone, and borneol, constituting ca. 80% of the total oil. The antimicrobial activity was investigated by the disc diffusion and broth dilution methods against six microbial species, including gram-positive bacteria (*Staphilococcus aureus* and *Bacillus subtilis*), gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*), a yeast (*Candida albicans*) and a fungus (*Aspergillus niger*). All of the essential oil-rich fractions obtained showed antimicrobial activity against all of the microorganisms tested, with inhibition zones and minimal bactericidal and fungicidal concentration values in the range of 17 to 33 mm and 2.25 to 0.25 mg/ml, respectively. The most active fraction was the one obtained in experiment 4 (4% ethanol as modifier; extraction pressure, 25 MPa; extraction temperature, 60°C). *S. aureus* was found to be the most sensitive bacteria to the rosemary extracts, whereas the least susceptible was *A. Niger*. α-Pinene, l,8-cineole, camphor, verbenone, and borneol standards also showed antimicrobial activity against all the microorganisms tested, borneol being the most effective followed by camphor and verbenone. In that way, it was confirmed that essential oil from experiment 4, with the best antimicrobial activity, presented the highest quantity of camphor, borneol and verbenone.

**SANZ, M.L., POLEMIS, N., MORALES, V., CORZO, N., DRAKOULARAKOU, A., GIBSON, G.R., RASTALL, R.A.**

“In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides”.

J. Agric. Food Chem. (2005) **53** 2914-2921.

**Abstract:** The effect of honey oligosaccharides on the growth of fecal bacteria was studied using an in vitro fermentation system. Prior to treatment, glucose and fructose (31.73 and 21.41 g/100 g of product, respectively) present in honey, which would be digested in the upper gut, were removed to avoid any influence on bacterial populations in the fermentations. Nanofiltration, yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) treatment, and adsorption onto activated charcoal were used to remove monosaccharides. Prebiotic (microbial fermentation) activities of the three honey oligosaccharide fractions and the honey sample were studied and compared with fructooligosaccharide (FOS), using 1% (w/v) fecal bacteria in an in vitro fermentation system (10 mg of carbohydrate, 1.0 mL of basal medium). A prebiotics index (PI) was calculated for each carbohydrate source. Honey oligosaccharides seem to present potential prebiotic activity (PI values between 3.38 and 4.24), increasing the populations of bifidobacteria and lactobacilli, although not to the levels of FOS (PI of 6.89).

**SIMÓ, C., BARBAS, C., CIFUENTES, A.**

“Capillary electrophoresis-mass spectrometry in food analysis”.

Electrophoresis (2005) **26** 1306-1318.

**Abstract:** This work provides an updated overview (including works published till June 2004) on the principal applications of capillary electrophoresis-mass spectrometry (CE-MS) together with their main advantages and drawbacks in food science. Thus, analysis of amino acids, peptides, proteins, carbohydrates, or polyphenols by CE-MS in different foods is reviewed. Also, other natural compounds (e.g., alkaloids) and toxins analyzed by CE-MS in foods are revised. Moreover, exogenous substances with a potential risk for human health (e.g., pesticides, drugs) detected in foods by CE-MS are included in this work. The usefulness of CE-MS for food analysis and the information that this coupling can provide in terms of processing, composition, authenticity, quality, or safety of foods is also discussed.

**SIMÓ, C., GONZÁLEZ, R., BARBAS, C., CIFUENTES, A.**

“Combining peptide modeling and capillary electrophoresis-mass spectrometry for characterization of enzymes cleavage patterns: Recombinant versus natural bovine pepsin A”.

Anal. Chem. (2005) **77** 7709-7716.

**Abstract:** Nowadays there is an increasing number of recombinant enzymes made available to industry. Before replacing the use of natural enzymes with their cognate recombinant counterparts, one important issue to address is their actual equivalence. For a given recombinant proteolytic

enzyme, its equivalence can be investigated by comparing its cleavage specificity with that obtained from the natural enzyme. This is mostly done by analyzing the fragments (i.e., peptidic map) attained after enzymatic digestion of a given protein used as substrate. The peptidic maps obtained are typically characterized using separation techniques together with MS and MS/MS systems. However, these procedures are known to be difficult and labor intensive. In this work, the combined use of a theoretical model that relates electrophoretic behavior of peptides to their sequence together with capillary electrophoresis-mass spectrometry (CE-MS) is proposed to characterize in a very fast and simple way the cleavage specificity of new recombinant enzymes. Namely, the effectiveness of this procedure is demonstrated by analyzing in few minutes the fragments obtained from a protein hydrolysated using recombinant and natural pepsin A. The usefulness of this strategy is further corroborated by CEMS/MS. The proposed procedure is applicable in many other proteomic studies involving CE-MS of peptides.

**SIMÓ, C., HERRERO, M., NEUSÜß, C., PELZING, M., KENNDLER, E., BARBAS, C., IBÁÑEZ, E., CIFUENTES, A.**

“Characterization of proteins from *Spirulina platensis* microalga using capillary electrophoresis-ion trap-mass spectrometry and capillary electrophoresis-time of flight-mass spectrometry”.

Electrophoresis (2005) **26** 2674-2683.

**Abstract:** In this work, a new capillary electrophoresis-mass spectrometry (CE-MS) procedure is developed to analyze proteins in *Spirulina platensis* microalgae. It is demonstrated that a fine optimization of several separation parameters is essential in order to achieve suitable CE-MS analysis of these proteins in natural extracts from microalgae. Namely, optimization of the composition of the separation buffer, electrospray conditions, and washing routine between runs are required in order to obtain reliable and reproducible CE-MS analyses of the main proteins found in this microalga (namely, allophycocyanin- $\alpha$  chain, allophycocyanin- $\beta$ , c-phycocyanin- $\alpha$  and c-phycocyanin- $\beta$ ). The relative molecular mass of these biopolymers is determined using two different MS instruments coupled to CE, i.e., CE-ion trap-MS and CE-time of flight-MS (CE-TOF-MS). A comparison between the results obtained with both instruments is carried out. The high resolution of the TOF-MS enables the distinction of small modifications in proteins and, thus, a more accurate mass determination. Interestingly, molecular mass values obtained by both CE-MS procedures agree very well while these experimental values are only in partial agreement with those theoretically expected (i.e., genetically derived masses). Some protein modifications due to amino acids exchange induced by nucleotide codon mutations are proposed to explain this difference.

**SIMÓ, C., RIZZI, A., BARBAS, C., CIFUENTES, A.**

“Chiral capillary electrophoresis-mass spectrometry of amino acids in foods”.

Electrophoresis (2005) **26** 1432-1441.

**Abstract:** In this work, the development of a new chiral capillary electrophoresis-mass spectrometry (CE-MS) method to separate D- and L-amino acids is shown. On-line coupling between CE and MS is established through an electrospray-coaxial sheath flow interface. Enantiomer separation is achieved by using a cheap, nonvolatile, chiral selector as  $\beta$ -cyclodextrin in the background electrolyte (BGE) together with a physically coated capillary that is aimed to prevent contamination of the electrospray. The capillary coating is simple and easy to obtain as it only requires flushing of the capillary with a polymer aqueous solution for 3 min. Optimization of CE parameters (pH of BGE, type and concentration of chiral selector, and capillary inner diameter) and electrospray-MS parameters (nature and flow rate of the sheath liquid, nebulizer pressure) is carried out. Two different derivatization protocols of amino acids using dansyl chloride (DNS) and fluorescein isothiocyanate (FITC) are compared in terms of MS sensitivity and chiral resolution. Under optimum CE-MS conditions it is observed that the MS sensitivity obtained for FITC- and DNS-amino acids is similar (with limit of detection (LOD) in the mM range, corresponding to amounts injected in the fmol range) while chiral resolution is better for FITC-amino acids. The optimized method is demonstrated to provide the simultaneous analysis of 15 selected amino acids (i.e., FITC-D/L-Asp, -Glu, -Ser, -Asn, -Ala, -Pro, -Arg, and FITC- $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in a single chiral CE-MS run, corresponding to the main amino acids that can be found in orange. Moreover, as a result of the high resolution achieved, it is possible to detect down to 2% of D-Asp in the presence of 98% of L-Asp. The good possibilities of chiral CE-MS in food analysis are corroborated through the detection of the main amino acids in a commercial orange juice (i.e., FITC-L-Asp, -Glu, -Ser, -Asn, -Pro, -Arg, and the nonchiral FITC-GABA) as well as the determination of the fraudulent addition of synthetic amino acids (containing D- and L-forms) to a fresh orange juice.

**TORRES, A., FRIAS, J., VIDAL-VALVERDE, C.**

"Changes in chemical composition of lupin seeds (*Lupinus angustifolius*) after selective  $\alpha$ -galactoside extraction".

J. Sci. Food Agric. (2005) **85** 2468-2474.

**Abstract:** A selective procedure for the extraction of  $\alpha$ -galactosides has been employed in two sweet lupin seeds (*Lupinus angustifolius* var. Troll and var. Emir) in order to reduce flatulence-causing factors. Different nutritional parameters (proteins, fat, ash, dietary fibre, starch, sucrose, vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, E and C) and antinutritional factors ( $\alpha$ -galactosides, trypsin inhibitor activity and inositol phosphates) were studied in raw and processed seeds. The  $\alpha$ -galactoside content in both varieties was reduced by 87-100%. The extracted lupins seeds presented a high retention in protein and fat (109-136% and 95-104%, respectively). Sucrose and soluble dietary fibre, however, decreased significantly as a result of processing and retentions ranged between 5 and 29%. The vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, and E contents decreased during selective extraction, the retentions being in the ranges 25-47%, 38-40%, and 48-54%, respectively, for var. Troll and Emir. However extracted lupin seeds still contained important amounts of

vitamins and insoluble dietary fibre compounds with nutritional importance. Raw and processed lupins did not contain starch. TIA and vitamin C were not detected, and total inositol phosphates were modified slightly after extraction. In conclusion, the lupin seeds obtained by the extraction of  $\alpha$ -galactosides can be an adequate proteic ingredient to be incorporated in functional foods.

**URBANO, G., LÓPEZ-JURADO, M., FREJNAGEL, S., GÓMEZ-VILLALVA, E., PORRES, J.M., FRÍAS, J., VIDAL-VALVERDE, C., ARANDA, P.**

“Nutritional assessment of raw and germinated pea (*Pisum sativum* L.) protein and carbohydrate by in vitro and in vivo techniques”.

Nutrition (2005) **21** 230-239.

**Abstract:** Objective: We assessed the effect of germinating *Pisum sativum* L. variant Arvense cv. Esla for 3 and 6 d in darkness on the chemical composition and nutritive utilization of protein and carbohydrates.

Methods: Nutritional assessment of protein and carbohydrates was based on chemical analysis of raw and germinated pea flours and in vitro and in vivo rat balance methodologies.

Results: Germination caused a notable decrease in  $\alpha$ -galactoside content and significant increases in sucrose, glucose, and fructose. The ratio of available starch to total starch increased as a consequence of processing. The content of vitamin B<sub>2</sub> increased significantly, whereas no significant change was observed in vitamin B<sub>1</sub> content in germinated peas. Protein digestibility assessed with an in vivo technique (apparent digestibility coefficient) or as the percentage of dialyzable nitrogen increased significantly as a result of germination in contrast to what was observed with the in vitro pH-drop methodology. Daily food intake, nitrogen absorption and balance, percentage of retained versus absorbed nitrogen, protein efficiency ratio, and the index of available carbohydrates were significantly improved by germination for 3 d and significantly decreased by germination for 6 d.

Conclusions: Germination of pea seeds for 3 d significantly improves palatability of these seeds and the nutritive utilization of protein and carbohydrates.

**VALVERDE, S., FRIAS, J., DOBLADO, R., JIMENO, M.L., VIDAL-VALVERDE, C.**

“Inositol phosphate profiling of fermented cowpeas by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy”.

J. Agric. Food Chem. (2005) **53** 4714-4721.

**Abstract:** The inositol phosphate content of naturally fermented cowpeas (*Vigna sinensis* var. Carilla) was studied using ion-pair HPLC and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. The fermented flour was extracted with 0.5 M HCl, and the extract was purified and fractionated by ion-exchange chromatography. <sup>1</sup>H NMR allowed for the identification of two monophosphates [Ins(1 or 3)P1 and Ins(4 or 6)P1], one inositol diphosphate [Ins(1,4)P2], three inositol triphosphates [Ins(1,2,6)P3, Ins(1,5,6)P3, and Ins(1,4,5)P3], one inositol tetraphosphate [Ins(1,3,4,5)P4], and one inositol pentaphosphate [Ins(1,2,3,5,6)P5]. Some of these isomers [Ins(1,4,5)P3 and

Ins(1,3,4,5)P4] are considered to play important biological roles in intracellular signalling.

**VELASCO, A., ACEBO, P., GÓMEZ, A., SCHLEISSNER, C., RODRÍGUEZ, P., APARICIO, T., CONDE, S., MUÑOZ, R., DE LA CALLE, F., GARCIA, J.L., SÁNCHEZ-PUELLES, J.M.**

“Molecular characterization of the safracin biosynthetic pathway from *Pseudomonas fluorescens* A2-2: designing new cytotoxic compounds”.

Mol. Microbiol. (2005) **56** 144-154.

**Summary:** Safracin is an antibiotic with anti-tumour activity produced by *Pseudomonas fluorescens* A2-2. The entire safracin synthetic gene cluster spanning 17.5 kb has been identified, cloned and sequenced. The safracin cluster comprises 10 open reading frames (ORFs) encoding proteins for three non-ribosomal peptide synthetases (NRPS), three safracin precursor biosynthetic enzymes, two safracin tailoring enzymes, a safracin resistance protein and a small hypothetical protein of unknown function. These genes are organized in two divergent operons of eight and two genes respectively. This pathway exhibits unusual features when compared with other NRPS systems. We have demonstrated by heterologous expression of the cluster that it is able to direct the synthesis of safracin in other strains. Cross-feeding experiments have confirmed that 3-hydroxy-5-methyl-O-methyltyrosine is the precursor of two amino acids of the molecule. Genetic analyses have allowed us to demonstrate that the bicistronic operon encodes the hydroxylation and N-methylation activities of the pathway. The cloning and expression of the safracin cluster has settled the basis for the *in vivo* and *in vitro* production of a wide variety of compounds, such as the promising ecteinascidins anti-cancer compounds.

**ZIELINSKI, H., FRIAS, J., PISKULA, M.K., KOZLOWSKA, H., VIDAL-VALVERDE, C.**

“Vitamin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub>, dietary fiber and minerals content of Cruciferae sprouts”.

Eur. Food Res. Technol. (2005) **221** 78-83.

**Abstract:** The contents in selected Cruciferae seeds and ready-to-eat sprouts of thiamine (B<sub>1</sub>) and riboflavin (B<sub>2</sub>) were determined by HPLC methodology. The content of soluble and insoluble fractions of dietary fiber was determined by the enzymatic method. In addition, the calcium, magnesium, zinc, cooper, ferrum and manganese concentrations were determined by atomic absorption spectrometry and after that the correlation between some mineral content and the ability of seeds and sprouts phosphate buffered saline extracts to scavenge the superoxide anion radicals in vitro was investigated. The small radish, radish, rapeseeds and white mustard seeds contained vitamin B<sub>1</sub> in the range from 0.41 up to 0.70 mg/100 g d.m., however its amount found in the ready-to-eat sprouts were lower by 46, 39, 42 and 47%, respectively. In contrast, the content of vitamin B<sub>2</sub> in the ready-to-eat sprouts showed approximately three-fold higher content when compared to its range found in the seeds (0.096 mg/100 g d.m. up to 0.138 mg/100 g d.m.). The total dietary fiber content in ready-to-eat sprouts, including the soluble and

insoluble forms, was 20% higher when compared to the seeds and the proportion of insoluble to soluble fiber was about two-fold higher in radish sprouts, four-fold higher in rapeseed sprouts, and six and nine-fold higher in small radish and white mustard sprouts, respectively. The sprouts contained higher amounts of Ca, Mg, Cu and Zn approximately by 12, 14, 25 and 45%, respectively, when compared to the seeds. The similar beneficial changes were noted for Cu and Zn. Their amount noted in sprouts was higher by average of 25% for Cu and by 45% for Zn. No changes in Mn and Fe levels were found between seeds and sprouts. One exception was only made to Fe content in the white mustard sprouts in which the Fe amount was lower than that found in the seeds. The SOD-like activities of the seed extracts were positively correlated only with the manganese level ( $r=0.94$ ), however, this correlation was not found in ready-to-eat sprouts. No other correlations were found between SOD-like activity and microelements contents in the seeds and sprouts.

### **Libros, Volúmenes colectivos y Monografías**

#### **CARRASCOSA, A.V., MUÑOZ, R., GONZÁLEZ, R.**

“Microbiología del vino”. Editorial: AMV Ediciones. Madrid (España). (2005) 398 páginas. ISBN: 84-87440-06-1.

#### **JUÁREZ, M., OLANO, A., MORAIS, F.**

“Alimentos funcionales”. Editorial: FECYT-MEC. Madrid (España). (2005) 310 páginas. ISBN: 84-689-4204-9.

#### **BLANCH, G.P., RUIZ DEL CASTILLO, M.L., SÁNCHEZ, S., SANTA-MARÍA, G.**

“Estabilización de licopeno por encapsulación mediante fluidos supercríticos”. En: Avances de la Ciencia y Tecnología de los Alimentos en los inicios del siglo XXI. Ed: Universidad de Burgos (España). (2005) pp. 467-469. ISBN: 84-96394-23-9.

**Resumen:** En este trabajo se estudia la estabilización de licopeno procedente de tomate tras su extracción, fraccionamiento y encapsulación, en ciclodextrinas, mediante el empleo de CO<sub>2</sub>-SC. Además, se compara con la estabilización por métodos convencionales. En las condiciones ensayadas, se obtiene un rendimiento de extracción y encapsulación del 30 y de 100% para el licopeno y el resto de carotenoides presentes en el tomate, respectivamente. Además la presencia de los encapsulados se confirma mediante espectroscopía MicroRaman.

#### **CARRASCOSA, A.V., MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.J., CEBOLLERO, E., GONZÁLEZ, R.**

“Levaduras. Saccharomyces II. Levaduras de segunda fermentación”. En: Microbiología del vino. Capítulo 2. Editores: A.V. Carrascosa, R. Muñoz, R.

González. Editorial: AMV, Madrid (España). (2005) pp. 231-269, ISBN: 84-87440-06-1.

**Resumen:** El proceso fundamental de conversión del mosto en vino es de tipo microbiológico. Es preciso conocer a fondo este mecanismo de transformación, si queremos obtener los mejores vinos de calidad. Este libro es de enorme interés para los profesionales del sector, ya que les ayudará a mejorar sus conocimientos sobre los microorganismos presentes en el vino y las acciones que ejercen sobre el mismo, unas veces beneficiosas y otras indeseables. Los aspectos relacionados con la calidad y con la seguridad alimentaria del vino también se tratan en este interesante libro, en cuya redacción han colaborado 33 técnicos y científicos especializados.

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

“Efecto del congelamiento de la muestra en el análisis de compuestos volátiles quirales en alimentos por SPME”. En: Avances de la Ciencia y Tecnología de los Alimentos en los inicios del siglo XXI. Ed: Universidad de Burgos (España). (2005) pp. 357-360. ISBN: 84-96394-23-9.

**Resumen:** En el presente trabajo se trata de mejorar la sensibilidad obtenida por micro-extracción en fase sólida (SPME) para compuestos volátiles minoritarios, como algunos enantiómeros, en matrices complejas, como son los alimentos. Para ello se estudia el efecto de la congelación/descongelación de la muestra antes de llevar a cabo el análisis por SPME-GC-MS considerando diferentes matrices (aceites, zumos y frutas). La optimización del tiempo de descongelación permite aumentar las áreas de los compuestos de interés hasta 9 veces. Como consecuencia, se incrementa la fiabilidad en la identificación de la mayoría de los compuestos e incluso se posibilita la detección de algunos componentes minoritarios que no habían sido detectados a partir del análisis de la muestra sin congelar.

**HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA, I., CARLAVILLA, D., POLO, M.C., MARTÍN-ÁLVAREZ, P.J., MORENO-ARRIBAS, M.V.**

“Evolución de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular durante la fermentación maloláctica y el envejecimiento de los vinos con sus lías”. En: Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. Editor: Grupos de Investigación Enológica. Editorial: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Palencia (España). (2005) pp. 85-86. ISBN: 84-933654-8-3.

**Resumen:** Se han estudiado los cambios que se producen en los compuestos fenólicos de bajo peso molecular durante la fermentación maloláctica y el envejecimiento del vino con lías, empleándose diferentes modalidades tecnológicas para realizar estos procesos. La composición fenólica de los vinos cambia durante la fermentación maloláctica. Durante el envejecimiento en barrica, se han observado diferencias significativas debidas al tiempo, pero no en función del tipo de elaboración.

**HERNÁNDEZ-LEDESMA, B., DÁVALOS, A., BARTOLOMÉ, B., AMIGO, L.**

"Antioxidant peptides from whey proteins. Comparison to plant antioxidants". In Recent Progress in Medicinal Plants. Editor: J.N. Gavil. Editorial: (2005). Vol. 14. pp. 569-584.

**Abstract:** Antioxidant peptides were obtained by enzymatic treatment of whey protein concentrate (WPC) and whey proteins ( $\beta$ -lactoglobulin,  $\alpha$ -lactalbumin, serum albumin and lactoferrin). The oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of the peptide fragments identified, namely WYSLAMAASDI, YVEEL and MHIRL were 2.621, 0.799 and 0.306  $\mu\text{mol}$  of Trolox equivalent /  $\mu\text{mol}$ , respectively. These data were comparable to the value recorded for ascorbic acid (0.781  $\mu\text{mol}$  of Trolox equivalent /  $\mu\text{mol}$ ). However, free radical scavenging activity of the peptide fragments studied were lower than that of other plant antioxidants (polyphenols). The ORAC values of the different phenolic compounds studied (benzoic acids, benzoic aldehydes, cinnamic acids, cinnamic aldehydes, and cinnamic derivatives) varied from 4.20  $\mu\text{mol}$  of Trolox equivalent/ $\mu\text{mol}$  (coniferyl aldehyde) to 14.9  $\mu\text{mol}$  of Trolox equivalent/ $\mu\text{mol}$  ((+)-catechin). Nevertheless, when comparing the *in vivo* antioxidant potential of peptides and plant metabolites, bioavailability and further metabolism considerations should also be taken into account.

**IBÁÑEZ, E., MENDIOLA, J.A., HERRERO, M., SEÑORÁNS, F.J., REGLERO, G.**

"Sub- and supercritical fluid extraction: Two green technologies to extract functional compounds from microalgae". En. Abstract of Papers of de American Chemical Society. Edit.: American Chemical Society. Washington (USA) (2005) ISBN: 0065-7727.

**IBÁÑEZ, E., SEÑORÁNS, F.J.**

"Liquid chromatography. Food applications". En: Encyclopedia of analytical Science. Editors: P.J. Worsfold, A. Townsend, and C.F. Poole. Editorial: Elsevier Ltd. London (UK). (2005) pp. 276-287. ISBN: 0-12-764100-9.

**Abstract:** As with the first edition of the Encyclopedia of Analytical Science, this second edition is designed to provide a detailed and comprehensive publication covering all facets of the science and practice of analysis. The new work has been extensively revised in terms of the titles and content of the first edition, and includes comprehensive coverage of techniques used for the determination of specific elements, compounds and groups of compounds, in physical or biological matrices. It addresses applications of chemical analysis in all areas, ranging from such topics as medicine to environmental science, and geology to food science. Important characterisation techniques, such as microscopy and surface analysis are also included. The complete work consists of around 610 articles, each consisting of about 4000 words, figures and summary tables. These articles are combined to form larger entries providing comprehensive coverage of important topics and assisting the reader in locating material of interest. The entries are arranged in an A to Z format providing a final publication of about two and a half million words in ten volumes. The

articles are structured to allow easy access to information on specific analyzes, instrumental techniques and sample matrices. There is extensive cross-referencing throughout the Encyclopedia and a detailed index.

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

"Caracterización de las proteínas de la miel". En: Avances de la Ciencia y Tecnología de los Alimentos en los inicios del siglo XXI. Ed.: Universidad de Burgos (España). (2005) pp. 1041-1043. ISBN: 84-96394-23-9.

**Resumen:** Se han estudiado 31 muestras de miel artesanales, 14 de ellas florales y 17 mielatos, caracterizadas palinológicamente, procedentes de la Comunidad de Madrid. Las proteínas fueron aisladas mediante dialisis y se analizaron cromatográficamente utilizando una columna de exclusión molecular. Se obtuvieron 8 perfiles cromatográficos diferentes con un total de 8 picos, 4 de ellos comunes en todas las muestras. Con los datos obtenidos no se ha observado una clasificación de las muestras en función de su procedencia floral, sin embargo se han detectado picos cromatográficos característicos de determinadas variedades florales. Mediante el análisis discriminante por pasos sucesivos se ha obtenido un agrupamiento de las muestras atendiendo a su procedencia: mieles florales o mielatos.

**MIGUEL, M., QUIRÓS, A., RECIO, I., RAMOS, M., ALEIXANDRE, A., LÓPEZ-FANDIÑO, R.**

"Use of high pressure to enhance the proteolysis and release of bioactive peptides from ovalbumin and effect of gastrointestinal digestion on the antihypertensive properties of the peptides". En: XI<sup>th</sup> European Symposium on the Quality of Eggs and Eggs Products. Edit.: WPSA. Doorwerth (The Netherlands). (2005) pp. 201-206.

**Summary:** Enzymatic hydrolysis of food proteins can release peptides able to exert different biological activities. Among the bioactive peptides known so far, those with angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory properties are receiving special attention due to their potential beneficial effects in the treatment of hypertension. In previous work we identified active peptide sequences that derive from ovalbumin by enzymatic hydrolysis. We have now explored the possibility of using high hydrostatic pressure to change the proteolytic pattern of ovalbumin and promote the release of bioactive peptides. Pressurization of ovalbumin up to 400 MPa during enzyme treatments greatly enhanced its hydrolysis and the resulting peptides exerted a considerable ACE inhibition *in vitro*. Hydrolysis under high pressure changed the proteolytic pattern and led to the transient accumulation of intermediate hydrophobic peptide products. In addition, we have also evaluated the impact of gastrointestinal digestion on the integrity and activity of two peptides derived from ovalbumin, YAEERYPIL and RADHPFL, that inhibit ACE *in vitro* and exhibit *in vivo* antihypertensive activity in spontaneously hypertensive rats (SHR). Our aim was to further understand the *in vivo* effects and elucidate whether the

intact sequences had physiological relevance in blood pressure regulation. The results showed that both peptides were susceptible to proteolytic degradation after incubation with pepsin and a pancreatic extract. Furthermore, their ACE-inhibitory activity *in vitro* decreased after simulated digestion. The antihypertensive activity on SHR of the end products of the gastrointestinal hydrolysis of YAEERYPIL and RADHPFL, that were YPI and RADHP, respectively, was evaluated. Both significantly decreased blood pressure, 2 hours after administration, at doses of 2 mg/kg, but probably they did not exert their antihypertensive effect through an ACE-inhibitory mechanism.

**MONAGAS, M., MARTÍN-ÁLVAREZ, PJ., BARTOLOMÉ, B., GOMEZ-CORDOVÉS, C.**

“Efecto del modificador (Graciano vs. Cabernet Sauvignon) en la composición fenólica y el color de mezclas de vino de Tempranillo durante el envejecimiento en botella”. En: Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. Editor: Grupos de Investigación Enológica. Editorial: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Palencia (España). (2005) pp. 225-227. ISBN: 84-933654-8-3.

**Resumen:** Se ha encontrado que las mezclas de vinos de Tempranillo con vinos de Graciano y Cabernet Sauvignon modifican selectivamente la composición fenólica (antocianos, piranoantocianos, ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos, estilbenos, flavanoles y flavonoles) del vino base, tanto en el momento de la mezcla como durante su envejecimiento en botella hasta 23 meses. Los cambios en el color resultaron perceptibles al ojo humano, aun empleando un 10% de cualquiera de los vinos modificadores. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el efecto global modificador de los vinos de Graciano frente a los de Cabernet Sauvignon.

**MORATA, A., CALDERÓN, F., GOMEZ-CORDOVÉS, C., GONZÁLEZ, M.C., COLOMO, B., SUÁREZ, J.A.**

“Evolución del contenido de antocianos en mostos de Cabernet-Sauvignon (*Vitis vinifera* L) fermentados y criados con levaduras de velo”. En: Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. Editor: Grupos de Investigación Enológica. Editorial: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Palencia (España). (2005) pp. 188-189. ISBN: 84-933654-8-3.

**Resumen:** Se ha estudiado la evolución de antocianos monoméricos durante la fermentación con 6 levaduras de velo comparado con una levadura no filmógena. Se ha verificado la formación de cantidades importantes de derivados de la vitisina A durante la fermentación con algunas de las levaduras. Se ha analizado la evolución de los contenidos de antocianos durante un periodo de crianza bajo velo de 20 días.

**MORATA, A., CALDERÓN, F., GOMEZ-CORDOVÉS, C., GONZÁLEZ, M.C., COLOMO, B., SUÁREZ, J.A.**

“Formación de piranoantocianos (vitisinas y aductos vinil fenólicos de antocianos) durante la fermentación de vinos tintos con levaduras seleccionadas”. En: Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. Editor:

Grupos de Investigación Enológica. Editorial: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Palencia (España). (2005) pp. 190-192. ISBN: 84-933654-8-3.

**Resumen:** Se ha estudiado la formación de piranoantocianos (vitisinas y aductos vinilfenólicos) durante la fermentación de vinos tintos con dos cepas de levadura, una seleccionada para favorecer la formación de pigmentos de elevada estabilidad y otra cepa comercial que se ha utilizado como testigo. La cepa seleccionada favorece la formación de cantidades mucho más elevadas de vitisinas y la formación de un aducto vinilfenólico.

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

“Bacterias Lácticas”. En: Microbiología del vino, Capítulo 8, Editores: A.V. Carrascosa, R. Muñoz, R. González. Editorial: AMV (Madrid). (2005) pp. 231-269. ISBN: 84-87440-06-1.

**NÚÑEZ, V., BARTOLOMÉ, B., GOMEZ-CORDOVÉS, C.**

“Seguimiento de la composición antociánica de uvas de la variedad Tempranillo en fechas próximas a su madurez tecnológica”. En: Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. Editor: Grupos de Investigación Enológica. Editorial: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Palencia (España). (2005) pp. 21-22. ISBN: 84-933654-8-3.

**Resumen:** La concentración de cada uno de los antocianos individualizados de los hollejos de la variedad Tempranillo se ve directamente afectada por la climatología del año de estudio en fechas próximas a la madurez tecnológica de la uva. Los cambios sucedidos en estas fechas no se pueden explicar a través del efecto de una única variable climática sino del conjunto de ellas.

**NUÑEZ, Y.P., CARRASCOSA, A.V., GONZÁLEZ, R., BARCENILLA, J.M., POLO, M.C., MARTÍNEZ-RODRIGUEZ, A.J.**

“Obtención de vinos espumosos de calidad en un periodo de tiempo más corto utilizando el mutante autolítico *Saccharomyces cerevisiae* IFI 4731”. En: Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. Editor: Grupos de Investigación Enológica. Editorial: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Palencia (España). (2005) pp. 163-164. ISBN: 84-933654-8-3.

**Resumen:** Para realizar este trabajo se seleccionaron cinco cepas de levadura mutantes, obtenidas previamente a través de un proceso de mutagénesis UV, y junto con la cepa parental se utilizaron para preparar vinos espumosos. Los vinos obtenidos se envejecieron durante nueve meses, tomándose muestras periódicamente para realizar determinaciones analíticas y sensoriales. Los vinos elaborados con la cepa IFI4731 presentaron una mayor concentración de proteínas, aminoácidos y polisacáridos después de 6 meses de envejecimiento, evidenciando la presencia de autolisis acelerada en esta cepa. Esto se tradujo en la obtención vinos con mejores propiedades sensoriales en un periodo de tiempo más corto.

**POZO-BAYÓN, M.A., ALCAÍDE, J.M., PUEYO, E., POLO, M.C.**

"Actividad antihipertensiva de péptidos de bajo peso molecular de vinos blancos y tintos". En: Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. Editor: Grupos de Investigación Enológica. Editorial: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Palencia (España). (2005) pp. 310-311. ISBN: 84-933654-8-3.

**Resumen:** Se ha determinado la actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina (IACE) de 41 vinos comerciales elaborados con distintas tecnologías. Uno de los vinos blancos y uno de los vinos tintos, se han fraccionado por ultrafiltración y pasándolos a través de una columna de Sephadex LH-20. En las fracciones obtenidas se han cuantificado el nitrógeno total y amínico y los compuestos fenólicos y se ha determinado la actividad IACE. La actividad IACE de los vinos estudiados es significativamente superior en los vinos tintos. Los aminoácidos mayoritarios de las fracciones con actividad IACE son Asx, Glx, Val, Ser, Lys, Gly y Ala.

**PRIETO, M., BARTOLOMÉ, B., GOMEZ-CORDOVÉS, C.**

"Composición antociánica, color y capacidad antioxidante de un vino tinto envejecido en barrica o macerado con virutas ("chips") de roble". En: Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. Editor: Grupos de Investigación Enológica. Editorial: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Palencia (España). (2005) pp. 249-250. ISBN: 84-933654-8-3.

**Resumen:** Un único vino, mezcla de variedades, se sometió a guarda en depósito, envejecimiento en barricas de roble americano *Q. alba* y roble francés *Q. sessilis*, y maceración con virutas de cada uno de estos robles procedentes de dos tonelerías, durante un período de tres meses. Se tomaron muestras al mes y tres meses de tratamiento. Se determinaron los antocianos más abundantes, el color y la capacidad antioxidante, confirmándose la influencia del tratamiento del vino y el tiempo transcurrido sobre las características de color y el aumento de la capacidad antioxidante.

**PRODANOV, M., VACAS, V., HERNÁNDEZ, T., ESTRELLA, I., LUCENDO, C., ALONSO, G.L.**

"Efecto de la microfiltración tangencial sobre la calidad de extractos ricos en antocianinas". En: Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. Editor: Grupos de Investigación Enológica. Editorial: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Palencia (España). (2005) pp. 106-108. ISBN: 84-933654-8-3.

**Resumen:** Se ha realizado un estudio comparativo de clarificación de extractos ricos en antocianinas entre dos plantas de microfiltración tangencial, una de membranas tubulares de tamaño de poro de 0,45 µm (MF-MT) y otra de membranas capilares de 0,1 µm (MF-MC). Independientemente de las mayores pérdidas de antocianinas producidas en el tratamiento con MF-MC (8,9%), ésta da una mejor claridad (turbidez <1 NTU), así como un menor deterioro del extracto operando a temperaturas más bajas.

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

"Revalorización del suero de quesería. Una fuente de péptidos activos". En: Proteínas alimentarias y coloides de interés industrial. Editores: J. Girón-Calle, J. Pedroche, J.M. Rodríguez Patino, F. Millán. Editorial: Secretariado de Publicaciones, Universidad de Sevilla (España). (2005) pp. . ISBN 84-472-0884-2.

**RECIO, I., LÓPEZ-FANDIÑO, R.**

"Ingredientes y productos lácteos funcionales: Bases científicas de sus efectos en la salud". En: Alimentos funcionales. Editorial: FECYT-MEC. Madrid (España). (2005) pp. 23-100. ISBN: 84-689-4204-9.

**REGLERO, G., SEÑORÁNS, F.J., IBÁÑEZ, E.**

"Supercritical fluid extraction: an alternative for the isolation of natural food preservatives. En: Novel Food Processing Technologies. Editors: G. Barbosa-Cánovas, M.S. Tapia, and M.P. Cano. Editorial: CRC Press. Boca Raton, Florida (USA). (2005) pp. 539-554. ISBN: 0-8247-5333-X.

**Abstract:** Reflecting current trends in alternative food processing and preservation, this reference explores the most recent applications in pulsed electric field (PEF) and high-pressure technologies, food microbiology, and modern thermal and nonthermal operations to prevent the occurrence off food-borne pathogens, extend the self-life of food, and improve the safety, quality, and nutritional value of various food products. Documents the results of the Emerging Technologies for the Food Industry symposium held in Madrid, Spain.

**SIMÓ, C., BARBAS, C., CIFUENTES, A.**

"Analysis of synthetic macromolecules by capillary electrophoresis". En: Recent Research Developments in Macromolecules, Ed. Research Signpost Publisher, Kerala (India). (2005). ISBN: 81-7736-184-8.

**SIMÓ, C., CIFUENTES, A.**

"Electroforesis capilar: detección mediante espectrometría de masas" En: Electroforesis capilar. Aproximación según la técnica de detección. Editores: A. Fernández-Gutiérrez, A. Segura. Editorial: Universidad de Granada, Granada (2005) pp. 409-438. ISBN: 84-338-3649-8.

**Resumen:** En este capítulo se presenta una revisión del estado actual de la técnica CE-ESI-MS, prestando especial atención a los aspectos instrumentales y a las distintas estrategias desarrolladas para mejorar la compatibilidad entre un equipo de CE (que trabaja con los analitos en fase líquida) y un equipo de MS (que trabaja con los analitos en fase gaseosa), incluyendo la adecuada selección del medio de separación, aditivos, disolventes, técnica del llenado parcial del capilar, etc.

**SIMÓ, C., CIFUENTES, A.**

"Mass Spectrometry Detection in Capillary Electrophoresis". En: Analysis and Detection by Capillary Electrophoresis. Editors: M. L. Marina, A. Ríos and M.

Valcárcel. Editorial: Elsevier, Amsterdam (The Netherlands). (2005) pp. 445-520. ISBN: 0-444-51718-9.

**Abstract:** Capillary Electrophoresis (CE) is a powerful analytical technique used to separate compounds and is increasingly being used in routine analytical laboratories. Analysis and Detection by Capillary Electrophoresis presents developments enabling the enhancement of the detection sensitivity in CE, including the different strategies used to achieve sensitivity requirements. It describes techniques allowing sample preconcentration and sensitive continuous detection systems and looks at recent developments such as chiral analysis in CE and electrochemical detection in microchips. UV-Vis absorbance detection, as the most widely used detection system in CE, is also presented. Analysis and Detection by Capillary Electrophoresis delves into the practical approaches used in the field and will greatly benefit analytical chemists, as well as students, teachers, technical analysts, scientists and researchers involved in capillary electrophoresis.

**SUÁREZ, R., BARTOLOMÉ, B., GOMEZ-CORDOVÉS, C.**

"Influencia de la fecha de vendimia sobre las familias fenólicas, los antocianos y el color de vinos de *Vitis vinifera* L. cv. Merlot". En: Avances en ciencias y técnicas enológicas-1. Editor: Grupos de Investigación Enológica. Editorial: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León. Palencia (España). (2005) pp. 299-301. ISBN: 84-933654-8-3.

**Resumen:** En este estudio se analiza la composición fenólica, antociánica y el color de vinos de *Vitis vinifera* L. cv. Merlot de la campaña 2003 elaborados en Navarra bajo las mismas condiciones a partir de bayas vendimiadas en tres fechas distintas: 02-09 (prevendimia), 09-09 (vendimia tecnológica) y 19-09 (postvendimia). La concentración de antocianos totales, polifenoles totales, catequinas y proantocianidinas es máxima en los vinos de vendimia tecnológica. La fecha de vendimia tecnológica presenta una superior concentración antociánica mientras que la fecha de postvendimia ofrece una mayor estabilidad del color así como una intensidad colorante superior.

#### **IV.- FORMACIÓN ACADÉMICA**

## TESIS DOCTORALES

**Título:** "Actividad antihipertensiva y antioxidante de péptidos derivados de proteínas de huevo".

**Doctoranda:** Marta Miguel Castro.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Facultad:** Ciencias.

**Calificación:** Sobresaliente cum laude, Mención de "Doctor Europeus".

**Fecha de lectura:** 27 de Enero de 2005.

**Directoras:** Dras. R. López-Fandiño, M. Ramos y A. Alexandre.

**Título:** "Desarrollo de cultivos iniciadores autóctonos para la elaboración de embutidos ibéricos del Alentejo portugués".

**Doctorando:** Miguel Elías.

**Universidad:** Evora (Evora-Portugal)

**Facultad:** Ciencias Agrarias.

**Calificación:** Sobresaliente cum laude por unanimidad.

**Fecha de lectura:** 12 de Junio de 2005.

**Directores:** Dres. A.V. Carrascosa y Antonio Salvador Henriques Barreto.

**Título:** "Antioxidantes de naturaleza fenólica: desarrollo de metodologías, evaluación de propiedades y primeros estudios de biodisponibilidad".

**Doctorando:** Alberto Dávalos Herrera.

**Universidad:** Complutense de Madrid.

**Facultad:** Farmacia.

**Calificación:** Sobresaliente cum laude.

**Fecha de lectura:** 17 de Junio de 2005.

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

**Título:** "Estudio de pigmentos y copigmentos (taninos) en bayas de *Vitis vinifera* L. cvs: Graciano, Tempranillo y Cabernet-Sauvignon en fechas próximas a la madurez tecnológica".

**Doctoranda:** Verónica Núñez Morales.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Facultad:** Ciencias.

**Calificación:** Sobresaliente cum laude.

**Fecha de lectura:** 4 de Julio de 2005.

**Directores:** Dras. M.C. Gómez-Cordovés y B. Bartolomé.

**Título:** "Aplicación del dióxido de carbono supercrítico a la extracción de compuestos bioactivos de tomate".

**Doctoranda:** Salud Gómez Prieto.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Facultad:** Ciencias.

**Calificación:** Sobresaliente cum laude.

**Fecha de lectura:** 5 de Julio de 2005.

**Directores:** Dres. J.G. Santamaría y G.P. Blanch.

**Titulo:** "Obtención de productos de valor añadido a partir de bagazos de malta

de cebada y de zumo de fruta".

**Doctoranda:** María Santos Sanz.

**Universidad:** de Valladolid.

**Facultad:** Ciencias.

**Calificación:** Sobresaliente cum laude

**Fecha de lectura:** 29 de Septiembre de 2005.

**Directores:** Dres. J.J. Jiménez y M.C. Gómez-Cordovés.

**Título:** "Nuevas aplicaciones del acoplamiento electroforesis capilar-espectrometría de masas en el análisis de alimentos".

**Doctoranda:** Carolina Simó Ruiz.

**Universidad:** Universidad San Pablo CEU.

**Facultad:** Farmacia.

**Calificación:** Sobresaliente cum laude.

**Fecha de lectura:** 7 de Octubre de 2005.

**Directores:** Dres. A. Cifuentes y C. Barbas.

**Título:** "Producción de aminas biógenas por bacterias lácticas durante la elaboración industrial de vinos tintos. Caracterización genética de la producción de putrescina por "*Oenococcus oeni*".

**Doctoranda:** Ángela Marcabal Barranco.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Facultad:** Ciencias.

**Calificación:** Sobresaliente cum laude.

**Fecha de lectura:** 25 de Noviembre de 2005.

**Directores:** Dras. R. Muñoz y M.V. Moreno-Arribas.

**Título:** "Nuevas metodologías de análisis de pesticidas por electroforesis capilar".

**Doctorando:** Javier Hernández Borges.

**Universidad:** La Laguna (Tenerife).

**Facultad:** Química.

**Fecha:** 15 de Diciembre de 2005.

**Calificación:** Sobresaliente cum laudem por unanimidad. (Doctorado Europeo)

**Directores:** Drs. M.A. Rodríguez, F.J. García, A. Cifuentes.

## DIPLOMAS DE ESTUDIOS AVANZADOS

**Título:** "Glicosilación de la  $\beta$ -Lg con dextrano de alto peso molecular mediante reacción de Maillard: Efecto en su estructura y funcionalidad".

**Licenciada:** Laura Jiménez Castaños.

**Facultad:** Ciencias.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Directoras:** Dras. R. López-Fandiño y M. Villamiel.

**Fecha:** 29 de Marzo de 2005.

**Título:** "Estudio de la fracción de carbohidratos y compuestos oxigenados durante la reacción de Maillard para establecer la calidad de la miel".

**Licenciada:** Valle Morales Ruiz.

**Facultad:** Ciencias.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Directora:** Dra. N. Corzo.

**Fecha:** 29 de Marzo de 2005.

**Título:** "Estudio de la viabilidad de materiales absorbentes en la interfase del acoplamiento directo entre cromatografía de líquidos en fase inversa y cromatografía de gases".

**Licenciado:** Gema Flores Monreal.

**Facultad:** Ciencias.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Directoras:** Dras. M. Herraiz y M.L. Ruiz del Castillo.

**Fecha de lectura:** 28 de Septiembre de 2005.

**Título:** "Germinación como proceso para mejorar la capacidad antioxidante del altramuz (*Lupinus angustifolius* var. *Zapaton*)".

**Licenciada:** Rebeca Fernández Orozco.

**Facultad:** Ciencias.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Directoras:** Dras. C. Vidal y J. Frías.

**Fecha:** 29 de Septiembre de 2005.

**Título:** "Estudio de la liberación de manoproteínas en cepas mutantes de *Saccharomyces cerevisiae* y su aplicación en enología".

**Licenciado:** Daniel González Ramos.

**Facultad:** Ciencias.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Director:** Dr. R. González.

**Fecha:** 29 de Septiembre de 2005.

**Título:** "Compuestos de interés alimentario procedentes de microalgas. Extracción con fluidos presurizados, caracterización química y funcional".

**Licenciado:** Miguel Herrero Calleja.

**Facultad:** Ciencias.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Directores:** Dres. A. Cifuentes y E. Ibáñez.

**Fecha:** 29 de Septiembre de 2005.

**Título:** "Caracterización de compuestos del vino con actividad antihipertensiva".

**Licenciado:** Juan M<sup>a</sup> Alcalde Hidalgo.

**Facultad:** Ciencias.

**Universidad:** Autónoma de Madrid.

**Directoras:** Dras. M.C. Polo y E. Pueyo.

**Fecha:** 29 de Septiembre de 2005.

## **PROYECTOS FIN DE CARRERA**

**Título:** "Estudio de la viabilidad de distintas ciclodextrinas como agentes encapsulantes de carotenoides".

**Licenciado:** Olga López Pérez.

**Facultad:** Técnica de Ingenieros Agrícolas.

**Universidad:** Politécnica de Madrid.

**Directoras:** Dras. G. P. Blanch Manzano y M.L. Ruiz del Castillo.

**Fecha:** 18 de Enero de 2005.

## **CURSOS IMPARTIDOS**

### ***Participación en Cursos de Doctorado***

#### **Universidad Autónoma de Madrid**

**Asignatura:** "Ciencia y tecnología de productos lácteos fermentados".

**Duración:** 40 horas.

**Directoras:** Dra. M. Ramos y L. Amigo.

**Asignatura:** "Procesos de conservación de alimentos".

**Duración:** 40 horas.

**Directores:** Dr. A. Olano y N. Corzo.

**Asignatura:** "Tendencias actuales del análisis instrumental de alimentos".

**Duración:** 40 horas.

**Directores:** Dres. A. Cifuentes y E Ibáñez.

**Asignatura:** "Extracción supercrítica en tecnología de alimentos".

**Duración:** 40 horas.

**Directora:** Dra. E. Ibáñez.

**Asignatura:** "Papel de los polifenoles en productos agroalimentarios".

**Duración:** 30 horas.

**Profesoras:** Dras. I. Estrella, T. Hernández, M.C. Gómez-Cordovés, B. Bartolomé.

#### **Universidad Complutense de Madrid**

**Asignatura:** "Metodologías avanzadas en cromatografía".

**Duración:** 8 horas.

**Profesoras:** Dras. M. Herraiz, G. P. Blanch.

**Asignatura:** "Ciencias Veterinarias".

**Duración:** 8 horas.

**Profesoras:** Dras. M.C. Gómez-Cordovés; I. Estrella, T. Hernández, B. Bartolomé. M. Calvo, J.G. Santa María.

**Asignatura:** "Leguminosas: variación de la composición fenólica por diferentes procesos". Programa de Doctorado de "Ciencias Veterinarias".

**Duración:** 4 horas.

**Profesora:** Dra. I. Estrella

#### **Universidad País Vasco**

**Título:** "Fundamentos de las técnicas cromatográficas".

**Duración:** 2 horas.

**Profesor:** Dr. J.G. Santa María.



***Cursos de Formación Ocupacional para Parados de Larga Duración***

**Título:** Especialización en análisis y control de calidad en los sectores agrícola, alimentario y ambiental.

**Duración:** 3 horas.

**Profesoras:** Dras. I. Estrella, M.C. Gómez-Cordovés.

**Título:** Especialización en análisis y control de calidad en los sectores agrícola, alimentario y ambiental.

**Duración:** 2 horas.

**Profesores:** Dras. C. Vidal, J. Frias.

***Cursos del Gabinete de Formación del CSIC e Instituto de Fermentaciones Industriales***

**Título:** Análisis sensorial de alimentos.

**Duración:** 22 horas.

**Directora:** Dra. E. Molina.

**Profesores:** Dras. M. Manso y E. Molina y Dr. P.J. Martín. (16.5 horas).

***Cursos del Instituto de Salud Carlos III y Escuela Nacional de Sanidad***

**Título:** Tecnología de los alimentos y valor nutricional.

**Duración:** 8 horas.

**Profesoras:** Dras. R. López-Fandiño, I. Recio; M. Villamiel.

## **CICLO DE SEMINARIOS DEL INSTITUTO DE FERMENTACIONES INDUSTRIALES.**

10 de Junio.

Professor Salvatore Fanali.

Institute of Chemical Methodologies. Consiglio Nazionale delle Ricerche. Roma.  
(Italia)

**“Recent Results in Chiral Analysis by Using Miniaturized Separation Methods”.**

14 de Julio.

Dr. Owen Catchpole.

Industrial Research Limited, Lower Hutt. (Nueva Zelanda).

**“Supercritical Antisolvent Fractionation Technology for Food Ingredients”.**

6 de Octubre.

Dr. Frantisek Foret.

Institute of Analytical Chemistry. Brno. (República Checa).

**“Miniaturization in Bioanalytical Instrumentation”.**

4 de Noviembre.

Dr. Vaclav Kasicka.

Institute of Organic Chemistry & Biochemistry. Czech Academy of Sciences.  
Praga. (República Checa).

**“Capillary and Free-flow Electrophoresis of Biopeptides”.**

8 de Noviembre.

Dra. Tania Zenteno-Savín.

Centro Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR). La Paz. Baja California. (México).

**“Estrés oxidativo en organismos marinos”.**

2 de Diciembre.

Dr. Gustavo González Neves.

Profesor de la Universidad de la República. Director del Laboratorio Nacional de Vitivinicultura (INAVI). Montevideo (Uruguay).

**“Características de los vinos de las principales variedades de Vitis Vinifera cultivadas en Uruguay”.**

15 de Diciembre

Miguel Herrero Calleja.

Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC).

**“Compuestos de interés alimentario procedentes de microalgas extraídos con fluidos presurizados. caracterización química y funcional”.**

15 de Diciembre.

Juan María Alcaide Hidalgo.

Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC).

**“Caracterización de compuestos del vino con actividad antihipertensiva”.**

## **V.- OTRAS ACTIVIDADES**

## **CONFERENCIAS INVITADAS INTERNACIONALES (\* indica el ponente)**

### ***Universidades y Centros de investigación***

**Autor:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** “Electroforesis capilar-espectrometría de masas. Principios y Aplicaciones”.

**Centro:** Fundación Liomont, Ciudad de México (México).

**Autor:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** “Fundamentos y Aplicaciones de CE-MS”.

**Centro:** Instituto de Química. Universidad Nacional Autónoma de México, México DF. (México).

**Autor:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** “Obtención y caracterización de nuevos ingredientes alimentarios funcionales procedentes de fuentes naturales”.

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

**Autores:** C. Simó, C. Barbas, A. Cifuentes\*.

**Título:** “Capillary electrophoresis-mass spectrometry of peptides”.

**Centro:** Inst. Methodol. Chem., CNR, Roma. (Italia).

**Autor:** Dra. C. Gómez-Cordovés.

**Título:** “Pigmentos, copigmentos y actividad biológica de los vinos tintos”.

**Centro:** Facultad de Agronomía. Universidad de La República. Montevideo (Uruguay).

### ***Congresos y Jornadas (\* indica ponente)***

**Autor:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** “Capillary electrophoresis with mass spectrometry and laser induced fluorescence: two powerful techniques for Bioanalytical Chemistry”.

**Centro:** Workshop on Bioanalytical Chemistry, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing. (China).

**Autor:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** “CE-MS and CE-LIF in Food Analytical Chemistry”.

**Centro:** 11<sup>th</sup> BCEIA, Beijing Conference on Instrumental Analysis, Beijing. (China).

**Autor:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** “Food analysis by capillary electrophoresis with mass spectrometry and laser induced fluorescence”.

**Centro:** Simposium sobre Métodos Analíticos en la Certificación de la Calidad y Seguridad Alimentaria, Santiago de Chile. (Chile).

**Autores:** R. González\*, R. Muñoz, C. Simó, A.V. Carrascosa, A. Cifuentes.

**Título:** "Pepsina Bovina Recombinante".

**Centro:** XI Meeting on Industrial Applications of Enzymes (The state-of-the-art in Enzyme Technology). Barcelona.

**Autor:** E. Ibáñez\*, J.A. Mendiola, M. Herrero, F. J. Señorans, G. Reglero, A. Cifuentes.

**Título:** "Sub- and supercritical fluid extraction: Two green technologies to extract functional compounds from microalgae".

**Centro:** 230th ACS National Meeting, Washington. (USA).

**Autores:** Dra. M. Ramos.

**Título:** "Food Proteins as source of Bioactive peptides".

**Centro:** XI Meeting on Industrial Applications of Enzymes (The state-of-the-art in Enzyme Technology). Barcelona.

**Autores:** C. Simó, C. Barbas, A. Cifuentes\*.

**Título:** "New tools for Proteomics: Fast characterization of peptides using a semiempirical model and capillary electrophoresis-mass spectrometry".

**Centro:** XI LACE-2005 (11th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology), Sao Paulo. (Brasil).

**Autores:** L. Saavedra, A. García, M.P. Vallejo, N. Maeso, B. Baena, A. Cifuentes, C. Barbas\*.

**Título:** "Capillary electrophoresis for monitoring biomarkers of nutraceutical activity in vivo".

**Centro:** XI LACE-2005 (11th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology), Diciembre 2005, Sao Paulo (Brasil).

**Autores:** B. Fernández de Simón, E. Cadahía, T. Hernández, I. Estrella\*.

**Título:** "Evolution of oak-related volatile compounds in a Spanish red wine during two years bottled, after aging in barrels made of Spanish, French and American oak wood".

**Centro:** In Vino Analytica Scientia, Montpellier (Francia).

**Autores:** M. Ramos\*.

**Título:** "Proteínas y péptidos con actividades biológicas procedentes de suero lácteo". Mesa redonda: Tecnologías para la valorización de subproductos lácteos.

**Centro:** V Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos. Puerto Vallarta (Méjico), 4-7 de Septiembre 2005.

**Autores:** M. Ramos\*.

**Título:** "Food Proteins as source of Bioactive peptides".

**Centro:** 11<sup>as</sup> Jornadas de Análisis Instrumental. Barcelona, 15-17 Noviembre 2005

***Divulgación Científica***

**Autor:** Dra. E. Molina.

**Título:** “Presentación del Instituto de Fermentaciones Industriales”.

**Centro:** Centro de Química Orgánica “Manuel Lora-Tamayo”.

**Actividad:** Jornada de Puertas Abiertas. Semana de la Ciencia.

## **CONFERENCIAS INVITADAS NACIONALES**

### ***Universidades y Centros de investigación* (\* indica el ponente)**

**Autor:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** “Análisis de maíz transgénico mediante el uso combinado de técnicas moleculares y electroforéticas capilares”.

**Centro:** Facultad de Ciencias Experimentales y Técnicas, Universidad San Pablo-CEU. Madrid.

**Autor:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** “Nuevas aplicaciones del acoplamiento electroforesis capilar-espectrometría de masas”.

**Centro:** Ciclo de conferencias sobre “Nuevos avances en métodos de separación”. Universidad de La Laguna. Tenerife.

**Autor:** Dra. M.C. Gómez-Cordovés.

**Título:** “El papel de los compuestos fenólicos en los vinos tintos: calidad y salud”.

**Centro:** Symposium “Nuevas Tecnologías en la elaboración de vinos”, Lanzarote.

**Autor:** E. Ibáñez\*, J.A. Mendiola, M. Herrero, F. J. Señorans, G. Reglero, A. Cifuentes.

**Título:** “Desarrollo de procesos medioambientalmente limpios para la obtención de ingredientes alimentarios”.

**Centro:** Universidad de Valladolid.

**Autor:** M. Villamiel.

**Título:** “Nuevas tecnologías de conservación de alimentos”.

**Centro:** Cursos de verano de la UAM.

### ***Congresos y jornadas***

**Autor:** E. Cebollero, R. González\*.

**Título:** “Macroautofagia en levaduras vínicas”.

**Centro:** XX Congreso Nacional de Microbiología. Cáceres.

**Autor:** Dr. A. Cifuentes.

**Título:** “Las microalgas: fuente de productos bioactivos”.

**Centro:** Aportaciones del CSIC a la Industria Alimentaria, Alimentaria Castilla y León. Valladolid.

**Autor:** Dra. R. López-Fandiño.

**Título:** “Obtención de péptidos con actividad antihipertensiva y antioxidante a partir de proteínas de clara de huevo”.

**Centro:** Aportaciones del CSIC a la Industria Alimentaria, Alimentaria Castilla y León. Valladolid.

## **CONGRESOS INTERNACIONALES**

### **25th Anniversary Chair of Food Chemistry. Würzburg (Alemania).**

#### ***Poster***

"Preconcentration of food volatile components using polydimethylsiloxane as a packing material in a programmed temperature vaporizer".

G. Flores, M. Herraiz, G.P. Blanch, M.L. Ruiz del Castillo.

### **4º Congreso Colombiano de Cromatografía. Bogota. (Colombia).**

#### ***Poster***

"Estudio de la cera de los frutos de la especie Morelia pubescens y su aroma por técnicas de microextracción en fase sólida y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas".

A.M. Hurtado Benavides, F.J. Señoráns, G. Reglero, E. Ibáñez.

### **COST ACTINO 927 Thermally Processed Foods: Possible Health Implications. Hamburgo. (Alemania).**

#### ***Comunicaciones orales* (\* indica ponente)**

"Effect of the Maillard reaction on biological properties of gluten".

M. D. del Castillo\*, A. Ferrigno, I. Acampa, R. Inzia Borrelli, A. Olano, A. Martínez-Rodríguez, V. Fogliano.

"Soy protein glycation with fructooligosaccharide".

J. van de Lagemaat\*, A. Montilla, A. Olano, M.D. del Castillo.

### **10th European Meeting on Supercritical Fluids. Strasburgo. (Francia).**

#### ***Poster***

"Phase Equilibria Modeling of the Ternary and Quaternary Systems Containing Carbon Dioxide, Alcohol, Water and Glucose".

T. Fornari, E. Ibáñez, A. Olano, G. Reglero.

### **XI<sup>th</sup> European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products. Doorwerth. (Holanda).**

#### ***Poster***

“Use of high pressure to enhance the proteolysis and release of bioactive peptides from ovalbumin and effect of gastrointestinal digestion on the antihypertensive properties of the peptides”.

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

### **HPLC 2006. Estocolmo. (Suecia).**

#### **Poster**

“Protein fingerprinting of microorganisms by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection”.

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

### **14<sup>th</sup> International Carotenoid Symposium. Edimburgo. (Escocia).**

#### **Poster**

“Capillary electrophoresis-mass spectrometry of Spirulina Platensis proteins obtained by pressurized liquid extraction”.

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

“Combining TLC and HPLC for separation and characterization of antioxidants found in accelerated solvent extracts from Spirulina platensis microalga”.

J.A. Mendiola, L. Jaime, M. Herrero, F. J. Señoráns, A. Cifuentes, E. Ibáñez.

“Microalga proteomics: capillary electrophoresis-ion trap-mass spectrometry and capillary electrophoresis-time of flight-mass spectrometry of phycobiliproteins”.

C. Simó, M. Herrero, Ch. Neusüß, M. Pelzing, E. Kenndler, C. Barbas, E. Ibáñez, A. Cifuentes.

### **1<sup>st</sup> International Conference on Environmental Industrial and Applied Microbiology. Badajoz. (España).**

#### **Comunicaciones orales (\* indica ponente)**

“Accelerated autolysis by yeast strains for the production of sparkling wines”.

Y. Núñez, A.V. Carrascosa, R. González, M.C. Polo, A. Martínez-Rodríguez\*.

#### **Poster**

“Fast microbiological analysis of foods using multiplex PCR methods and capillary gel electrophoresis with laser induced fluorescence”.

V. García-Cañas, R. González, R. Aznar, A. Cifuentes.  
**2<sup>nd</sup> International Conference on Polyphenols and Health. Davis (USA).**

**Poster**

“Quercetin bioavailability from grape juice in humans”.

A. Dávalos, P. Castilla, M.C. Gómez-Cordovés, B. Bartolomé.

“Does grape varieties have importance on vasodilator activity of red wines?”.

T. Ortega, E. de la Hera, M.E. Carretero, P. Gómez-Serranillos, A. Villar, M. Prodanov, V. Vacas, J.M. Cabellos, T. Arroyo, T. Hernández, I. Estrella.

**18<sup>th</sup> International Symposium in MicroScale Bioseparations. Nueva Orleans. (USA).**

**Poster**

“Exploiting the benefits of CGE-LIF and multiplex-PCR systems for microbiological analysis of foods”.

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

**International Symposium on Supercritical Fluids. Orlando. (USA).**

**Comunicación Oral** (\* indica ponente)

“Sub- and supercritical fluid extraction of antioxidants from microalgae”.

M. Herrero\*, J.A. Mendiola, F.J. Señoráns, G. Reglero, A. Cifuentes, E. Ibáñez.

**Poster**

“Calculation of Solid Phenolic Compound Solubilities in Supercritical Carbon Dioxide using the Group Contribution Association Equation of State”.

T. Fornari, A. Chafer, R.P. Stateva, E. Ibáñez, G. Reglero.

“Evaluation of Packed Preparative Columns for the Isolation of Functional Compounds by SFC”.

P. Ramírez, M. Rodríguez García-Risco, F.J. Señoráns, E. Ibáñez, G. Reglero.

**INTRADFOOD 2005. Valencia. (España).**

**Poster**

“Microalgae as a new source of antioxidants”.

J.A. Mendiola, M. Herrero, E. Ibáñez, G. Reglero, A. Cifuentes, F.J. Señoráns.

“Extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from laurel (*Laurus nobilis* L.) using supercritical carbon dioxide”.

S. Santoyo, R. Lloría, L. Jaime, E. Ibañez, F. J. Señoráns, G. Reglero.

### **In Vino Analytica Scientia-2005. Montpellier. (Francia).**

#### **Poster**

“HPLC-PAD-MS characterization of low molecular weight phenolic compounds during malolactic fermentation and ageing of wine on lees”.

M.T. Hernández, I. Estrella, D. Carlavilla, M.C. Polo, P.J. Martín-Álvarez, M.V. Moreno-Arribas.

“Determination of protein, amino acids, polysaccharides and foam characteristics in sparkling wines manufactured with autolytic yeasts”.

A. Martínez-Rodríguez, Y. Núñez, A.V. Carrascosa, R. González, E. Pueyo, M.C. Polo.

“Chemical characterization of dietary ingredients from *Vitis vinifera* L. grapes”.

M. Monagas, B. Bartolomé, C. Gómez-Cordovés.

“Determination of antihypertensive activity in low molecular weight peptides from white and red wines”.

M.A. Pozo-Bayón, J.M. Alcaíde, E. Pueyo, M.C. Polo.

“Combining microsatellite markers and capillary gel electrophoresis to identify grape musts”.

P. Rodríguez Plaza, M.V. Moreno-Arribas, M. C. Polo, R. González, A. Cifuentes.

### **11as Jornadas de Análisis Instrumental. Barcelona.**

#### **Poster**

“HPLC determination of 2-furoylmethyl-amino acids in dehydrated onion and garlic”.

A. Cardelle-Cobas, N. Corzo, A. Olano, M. Villamiel, F.J. Moreno.

“Chiral analysis of amino acids in vinegars by capillary electrophoresis with laser induced fluorescence”.

D. Carlavilla, M.V. Moreno-Arribas, A. Cifuentes.

“Comparison of different black truffle’s aroma: *tuber aestivum*, *t. uncinatum* and *t. mesentericum*”.

P. Díaz, L.G. García-Montero, G. Reglero, E. Ibáñez, F. J. Señoráns.

"Enantiomeric composition studies in *Lavandula* species using supercritical fluids".

G. Flores, G.P. Blanch, M.L. Ruiz del Castillo, M. Herraiz.

"Optimizing the obtention of proteins from *spirulina platensis* microalga combining pressurized liquid extraction and capillary electrophoresis-mass spectrometry".

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

"Characterization of *morella pubescens* fruits aroma by SPME-GC-MS".

A.M. Hurtado Benavides, F.J. Señoráns, G. Reglero, E. Ibáñez.

"Difructose anhydrides as chemical markers of honey adulteration and coffee roasting".

A. Montilla, A.I. Ruiz. Matute, M.L. Sanz, I. Martínez-Castro, M.D. del Castillo.

"Subcritical water extraction of oregano. chemical and functional characterization via hplc-dad and in vitro assays".

I. Rodríguez-Meizoso, M. Herrero, F.R. Marín, F.J. Señorans, A. Cifuentes, E. Ibáñez.

"Combining microsatellite markers and capillary gel electrophoresis with laser induced fluorescence to identify the grape variety of musts".

P. Rodríguez-Plaza, R. González, M.V. Moreno-Arribas, M.C. Polo, G. Bravo, J.M. Martínez-Zapater, A. Cifuentes.

**11th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology. (XI LACE-2005). São Paulo (Brasil).**

**Poster**

"A chiral approach using micellar electrokinetic chromatography-laser induced fluorescence of amino acids to analyze wines and vinegars".

D. Carlavilla, M.V. Moreno-Arribas, A. Cifuentes.

"Improving quantitative analysis in capillary electrophoresis using the electrical current profile".

G.L. Erny, A. Cifuentes.

"Analysis of triazolopyrimidine herbicides in soils using field-enhanced sample injection-coelectroosmotic capillary electrophoresis combined with solid-phase extraction".

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

**4<sup>th</sup> NIZO Dairy Conference. Prospects for health well-being and safety.**  
**Papendal. (Holanda).**

***Comunicación oral***

“Bioactive peptides in milk products”.

I. Recio.

***Poster***

“Bioactive peptides in human milk and infant formulas”.

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

“Identification of antibacterial peptides from ovine  $\alpha_{s2}$ -casein. Comparison with lactoferricin B and f (183-207) of bovine  $\alpha_{s2}$ -casein”.

I. López-Expósito, J. A. Gómez-Ruiz, L. Amigo, I. Recio.

“Antihypertensive peptides in fermented milk products”.

I. Recio, A. Quirós, J.A. Gómez-Ruiz, M. Miguel, A. Aleixandre, B. Muguerza, M.A. Delgado, M. Ramos.

**Tercer Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios. Consejería de Agricultura y Ganadería, JCYL. Valladolid. (España).**

***Poster***

“Extracción presurizada de proteínas de Spirulina platensis y análisis por electroforesis capilar-espectrometría de masas”.

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

“Caracterización de extractos antioxidantes de Spirulina obtenidos por extracción acelerada con disolventes mediante el uso combinado de TLC Y HPLC”.

J.A. Mendiola, L. Jaime, M. Herrero, C. Soler-Rivas, F. J. Señoráns, A. Cifuentes, E. Ibáñez.

“Obtención de extractos de orégano mediante extracción con agua subcrítica caracterización química y funcional”.

I. Rodríguez-Meizoso, M. Herrero, F.R. Marín, F.J. Señorans, A. Cifuentes, E. Ibáñez.

**The role of supercritical fluid technology in pharmaceutical, nutraceutical and food processing Oeiras, IBET.**

***Poster***

“Supercritical CO<sub>2</sub> vs Sub-Critical GRAS solvents extraction. Comparison of two green techniques to obtain antioxidant extracts from *Spirulina platensis*”.

J.A. Mendiola, M. Herrero, E. Ibáñez, G. Reglero, A. Cifuentes, F.J. Señoráns.

**Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería, Mérida, Yucatán.**

***Poster***

“Floculación de Chaetoceros muelleri con quitosano”.

L. Carreón, F. Hernández Sandoval, E. Ibáñez, A. Cifuentes, B.O. Arredondo-Vega.

**Workshop on Applications of Synchrotron Light to Non Crystalline Diffraction in Materials and Life Sciences. Madrid. Noviembre 2005.**

***Comunicación oral* (\* indica ponente).**

“Encapsulation of all-trans-lycopene molecule within helical cholesteric liquid-crystal biopolymer (CLCB)”.

M. Pérez-Méndez, G.P. Blanch\*, J. Sanguino Otero, I. W. Hamley, V. Castelletto, J. Fayos.

## **CONGRESOS NACIONALES**

### **IV Congreso Forestal Español. Zaragoza.**

#### ***Comunicación oral***

“Polifenoles de olmos y su relación con el ataque de los insectos vectores de la grafiosis”.

M.C. García-Vallejo, T. Hernández, I. Estrella, J.A. Pajares, D. Martín-Benito, D. López-Muñoz.

### **III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Burgos.**

#### ***Poster***

“Estabilización de licopeno por encapsulación mediante fluidos supercríticos”.

G.P. Blanch, M.L. Ruiz del Castillo, S. Sánchez, G. Santa-María.

“Efecto del congelamiento de la muestra en el análisis de compuestos volátiles quirales en alimentos por SPME”.

G. Flores, M. L. Ruiz del Castillo, G. P. Blanch, M. Herraiz.

### **XI Congreso Nacional de Enólogos. Toledo.**

#### ***Poster***

“Efecto de la fermentación maloláctica en la composición fenólica no antociánica de vinos tintos”.

I. Estrella, M. Pérez-Gordo, M.V. Moreno-Arribas, M.C. Polo, T. Hernández.

“Modificación del color del vino base por el efecto de mezclas binarias”.

M. Monagas, R. Suárez, B. Bartolomé, M.C. Gómez-Cordovés.

“Caracterización varietal de vinos a través de la análisis del ADN”.

M.C. Polo, M.V. Moreno-Arribas, A. Cifuentes, R. González, P. Rodríguez-Plaza, J.M. Martínez-Zapater; L. Ruiz-García, M.C. Martínez-Rodríguez, M. Vilanova.

“Modificación en los pigmentos, capacidad antioxidante y color en un vino tinto envejecido en barrica o macerado con virutas de roble”.

M. Prieto, B. Bartolomé, M.C. Gómez-Cordovés.

“Influencia del clon sobre la composición fenólica, antociánica y el color de vinos de *Vitis vinifera* L. cv. Merlot”.

R. Suárez, B. Bartolomé, M.C. Gómez-Cordovés.

## **XX Congreso Nacional de Microbiología. Cáceres.**

### **Comunicaciones orales** (\* indica ponente)

“Macroautofagia en levaduras vínicas”.

E. Cebollero, R. González\*.

### **Poster**

“Las levaduras vínicas desarrollan autofagia durante la segunda fermentación de los vinos espumosos”.

E. Cebollero, R. González.

“Caracterización de ISLp14, una secuencia de inserción funcional en *Lactobacillus plantarum*”.

B. de las Rivas, A. Marcabal, A. Gómez, R. Muñoz.

“Desarrollo de un sistema de tipado basado en la técnica MLST para cepas de *Lactobacillus plantarum*”.

B. de las Rivas, A. Marcabal, R. Muñoz.

“Interés enológico de la liberación de manoproteínas por diversos mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*”.

D. G. Ramos, R. González.

“Modificación genética de levaduras para acelerar el proceso de autolisis”.

L. Tabera, R. Muñoz, R. González.

## **Congreso de Química Terapéutica. Bilbao.**

### **Poster**

“Híbridos tacrina-melatonina para la enfermedad de alzheimer, con propiedades colinérgicas y antioxidantes”.

I. Fernández-Bachiller, C. Pérez, B. Bartolomé, B. Hernández-Ledesma, M.I. Rodríguez-Franco.

## **XVIII Congreso de la Sociedad Española de Arteriosclerosis. A Coruña.**

### **Poster**

“Los polifenoles del mosto tinto modifican la homeostasis del colesterol en células HepG2”.

A. Dávalos, C. Fernández, F. Cerrato, B. Bartolomé, M.C. Gómez-Cordovés, P. Castilla, R. Busto, O. Pastor, J. Martínez-Botas, J., Gómez-Coronado, M.A. Lasunción.

## **VIII Jornadas Científicas de los Grupos de Investigación Enológica (GIENOL). Palencia.**

### **Poster**

"Evolución de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular durante la fermentación maloláctica y el envejecimiento de los vinos con sus lías".

T. Hernández, I. Estrella, D. Carlavilla, P.J. Martín-Álvarez, M.V. Moreno-Arribas.

"Efecto del modificador (Graciano vs. Cabernet Sauvignon) en la composición fenólica y el color de mezclas de vino de Tempranillo durante el envejecimiento en botella".

M. Monagas, P.J. Martín-Álvarez, B. Bartolomé, M.C. Gómez-Cordovés.

"Formación de piranoantocianos (vitisinas y aductos vinilfenólicos de antocianos) durante la fermentación de vinos tintos con levaduras seleccionadas".

A. Morata, F. Calderón, C. Gómez-Cordovés, M.C. González, B. Colomo, J.A. Suárez.

"Evolución del contenido de antocianos en mostos de Cabernet-Sauvignon (*Vitis vinifera L.*) fermentados y criados con Sacch. de "Flor".

A. Morata, F. Calderón, C. Gómez-Cordovés, M.C. González, B. Colomo, J.A. Suárez.

"Seguimiento de la composición antociánica de uvas de la variedad Tempranillo en fechas próximas a su madurez tecnológica".

V. Núñez, B. Bartolomé, M.C. Gómez-Cordovés.

"Obtención de vinos espumosos de calidad en un periodo de tiempo más corto utilizando el mutante autolítica *Saccharomyces cerevisiae* IFI 4731".

Y.P Núñez, A.V. Carrascosa, R. González, J.M. Barcenilla, M.C. Polo, A. Martínez-Rodríguez.

"Actividad antihipertensiva de péptidos de bajo peso molecular".

M.A. Pozo-Bayón, J.M. Alcaíde, E. Pueyo, M.C. Polo.

"Composición antociánica, color y capacidad antioxidante de un vino tinto envejecido en barrica o macerado con virutas ("chips") de roble".

M. Prieto, B. Bartolomé, M.C. Gómez-Cordovés.

"Influencia de la fecha de vendimia sobre las familias fenólicas, los antocianos y el color de vinos de *Vitis Vinifera L.* cv. Merlot".

R. Suárez, B. Bartolomé, M.C. Gómez-Cordovés.

## **XXX Reunión Bienal de la RSEQ, Lugo.**

### **Poster**

“Análisis de herbicidas triazolopirimidinas por CE”.  
J. Hernández, T. Borges, A. Cifuentes, F.J. García, M.A. Rodríguez.

## **Segunda Reunión de Expertos en Tecnologías de Fluidos Comprimidos. Valladolid.**

### **Comunicaciones orales** (\* indica ponente)

“Extracción con fluidos sub- y supercríticos de compuestos de interés alimentario procedentes de microalgas”.

E. Ibáñez\*, F.J. Señoráns, A. Cifuentes.

“Evaluación de columnas llenas para el aislamiento de compuestos funcionales de uso alimentario mediante Cromatografía de Fluidos Supercríticos a escala preparativa”.

P. Ramírez\*, C. Alonso, M. Rodríguez García-Risco, S. Santoyo, L. Toribio, E. Ibáñez, G. Reglero.

### **Poster**

“Efecto de la aplicación de la tecnología de fluidos supercríticos en el desarrollo de la reacción de Maillard en sistemas modelo”.

E. Casal, N. Corzo, P. Ramírez, A. Olano, E. Ibáñez.

“Extracción supercrítica de compuestos bioactivos de microalga”.

J.A. Mendiola, L. Jaime, S. Santoyo, G. Reglero, F.J. Señoráns, E. Ibáñez.

“Caracterización químico-funcional de extractos supercríticos de la microalga *Chaetoceros muelleri*”.

J.A. Mendiola, A.M. Toré, C. Torres, S. Santoyo, B.O. Arredondo, E. Ibáñez, G. Reglero, A. Cifuentes.

“Estudio de sistemas poliméricos para la purificación de antioxidantes en CO<sub>2</sub> supercrítico”.

I. Rodríguez-Meizoso, E. Ibáñez, A. Cifuentes, C. Elvira, J. San Román.

“Autentificación de distintas variedades de uva mediante PCR, electroforesis capilar en gel y fluorescencia inducida por láser”.

P. Rodríguez Plaza, R. González, M.V. Moreno-Arribas, M.C. Polo, A. Cifuentes.

## **IX Reunión Grupo Especializado de Polímeros. Jaca.**

### **Poster**

“Nuevos polímeros sensibles al pH y a la temperatura. Aplicaciones analíticas y como biomateriales”.

N. González, C. Elvira, A. Cifuentes, J. San Román.

**2<sup>a</sup> Reunión de la RED temática “Participación de las bacterias lácticas en la salud humana y en la calidad alimentaria. Oviedo.**

***Comunicación oral***

“Bacterias lácticas del vino: Producción de aminas biógenas y de compuestos de interés desde el punto de vista organoléptico”.

M.V. Moreno Arribas.

**2<sup>a</sup> Reunión de la Sociedad Española de Seguridad Alimentaria, Valencia.**

***Poster***

“Métodos de PCR multiplex y electroforesis capilar en geles con fluorescencia inducida por laser para el análisis microbiológico de alimentos”.

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

**ASISTENCIA A REUNIONES INTERNACIONALES**

**A. Cifuentes**

Asistencia como experto del grupo de trabajo sobre GMOs de la European Food Safety Authority. Bruselas (Bélgica).

**R. López-Fandiño**

Asistencia como experto del Grupo de Trabajo “Food uses of novel hen egg products and fractions”. Acción Cost 923 “Multidisciplinary hen egg research” a las reuniones celebradas en Doorwerth (Holanda), Gargnano (Italia) y en Bruselas (Bélgica).

**M.V. Moreno**

Asistencia a la 44 Sesión de la Subcomisión Convencional de Métodos de Análisis y Apreciación de Vinos de la Organización Internacional de la Viña y el Vino. París (Francia), marzo de 2005.

**M. Ramos**

Asistencia como miembro del Comité de Gestión a la VI reunión del Management Comité Meeting de la Acción Cost-923 “Multidisciplinary Hen Eggs Research. Gargnano (Italia).

## PATENTES

### Concedidas y expedidas

**Inventores:** M.S. Gómez, M.L. Ruiz del Castillo, J.G. Santa María, G.P Blanch, M. Herraiz.

**Título:** "Extracción fraccionada de carotenoides de fuentes naturales con alto contenido en licopeno mediante fluidos supercríticos".

**Entidad titular:** Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

**Nº de publicación:** ES 2 197 014 B1.

**Fecha de presentación:** 6 de Junio de 2002.

**Fecha de publicación de la solicitud:** 16 de Diciembre de 2003.

**Fecha de la concesión:** 31 de Enero de 2005

**Fecha de publicación del folleto de la patente:** 1 de Marzo de 2005.

### Solicitadas

**Inventores:** M. Miguel, R. López-Alonso Fandiño, M. Ramos, A. Aleixandre.

**Título:** "Obtención y propiedades antihipertensivas de péptidos derivados de proteínas de clara de huevo".

**Nº de solicitud:** 200501246.

**Fecha de presentación:** 23 de mayo de 2005

**Inventores:** I. Recio, I. López, A. Quirós, B. Hernández, J.A. Gómez, M. Miguel, L. Amigo, M. Ramos, A. Aleixandre.

**Título:** "Péptidos bioactivos identificados en hidrolizados enzimáticos de caseínas lácteas y procedimiento de obtención".

**Entidad titular:** Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

**Nº de solicitud:** 200501373.

**Fecha de presentación:** 8 de Junio de 2005.

**Inventores:** A.V. Carrascosa, M. Elias.

**Título:** "Procedimiento biotecnológico para obtener embutidos ibéricos con un contenido reducido en aminas biogénas".

**Entidad titular:** Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

**Nº de solicitud:** 200501521.

**Fecha de presentación:** 22 de Junio de 2005.

**Inventores:** G. Erny, A. Cifuentes.

**Título:** "Procedimiento para determinar el volumen inyectado y mejorar la reproducibilidad y exactitud del análisis cuantitativo en electroforesis capilar (y electroforesis en chips)".

**Entidad titular:** Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

**Nº de solicitud:** P200501737.

**Fecha de presentación:** 15 de Julio de 2005.

## **Licenciadas a Empresas**

**Inventores:** M. Miguel, R. López-Fandiño, M. Ramos, A. Aleixandre.

**Título:** “Péptidos bioactivos derivados de proteínas de la clara de huevo mediante hidrólisis enzimática”.

**Entidad titular:** Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

**Nº de solicitud:** PCC/ES2004/70059.

**Fecha de solicitud:** 23 de Mayo de 2005.

**Empresa que la está explotando:** Bioactor (Contrato firmado en febrero de 2005).

## **PREMIOS**

**Premio a la mejor comunicación en el Área de Alimentos en las 11<sup>a</sup> Jornadas de Análisis Instrumental. Barcelona.**

P. Rodríguez-Plaza, R. González, M.V. Moreno-Arribas, M.C. Polo, G. Bravo, J.M. Martínez-Zapater, A. Cifuentes.

“Combining microsatellite markers and capillary gel electrophoresis with laser induced fluorescence to identify the grape variety of musts”.

## **INVESTIGADORES Y TÉCNICOS DE OTROS ORGANISMOS QUE HAN REALIZADO ESTANCIAS CORTAS EN EL INSTITUTO.**

Dña. Raquel Romano.

Instituto Nacional de Vitivinicultura. Ministerio de Economía y Producción. Mendoza. (Argentina).

Mayo 2005.

Dra. M. Virginia Rojas Tinoco.

Universidad San Luis Potosí. México.

Junio 2005 - Julio 2005.

Professor Salvatore Fanali.

Institute of Chemical Methodologies. Consiglio Nazionale delle Ricerche.

Roma. (Italia).

Junio 2005.

Dr. Owen Catchpole.

Industrial Research Limited, Lower Hutt, New Zealand. (Nueva Zelanda).

Julio 2005.

Dr. Frantisek Foret.

Institute of Analytical Chemistry. Brno. (República Checa).

Octubre 2005.

Dra. Halina Kozlowska.

Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy Sciences. Olstzyn. (Polonia).

Octubre 2005.

Dra. Ana Michalska.

Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy Sciences. Olstzyn. (Polonia).

Octubre 2005.

Dra. Olga Narolwska.

Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy Sciences. Olstzyn. (Polonia).

Octubre 2005.

Dr. Mariusz Piskula.

Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy Sciences. Olstzyn. (Polonia).

Octubre 2005.

Dra. Agnieszka Wolejszo.

Institute of Animal Reproduction and Food Research. Polish Academy Sciences. Olstzyn. (Polonia).

Octubre 2005.

Dr. Vaclav Kasicka.  
Institute of Organic Chemistry & Biochemistry. Czech Academy of Sciences. Praga. (República Checa).  
Noviembre 2005.

Dra. Tania Zenteno-Savín.  
Centro Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR). La Paz. Baja California. (México).  
Noviembre 2005.

Dr. Gustavo González Neves  
Universidad de la República. Montevideo (Uruguay).  
Noviembre - Diciembre 2005.

#### **ALUMNOS DE DOCTORADO, DE OTRAS INSTITUCIONES QUE HAN REALIZADO ESTANCIAS CORTAS EN EL INSTITUTO.**

Bernardus Theodoro Maris Hilhorst.  
Wageningen University. Wageningen. (Holanda).  
Enero - Junio 2005.

Ana Escudero Gil.  
Instituto de Catálisis y Petroleoquímica. CSIC. Madrid.  
Febrero 2005.

Cristina Pino  
Estación de Viticultura y Enología de Navarra.  
Marzo - Abril 2005.

Pilar Salazar Gallego.  
Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Madrid  
Mayo 2005.

Olga Narolewska.  
Institute for Animal Reproduction and Food Research (Academia de Ciencias. Polonia).  
Octubre - Noviembre 2005.

#### **ALUMNOS DE LICENCIATURA Y DE MASTERS.**

##### **Alumnos de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (UAM)**

Abril 2005

Irene Albarán Lema.  
Paula Gómez Cuerda.  
Javier Grande González.  
Sergio Paredes Calderón.  
Javier Plaza Serrano.  
Daniel Tellado Ven de Reijden.

## **ALUMNOS DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS (ALCYTA)**

Julio 2005 - Septiembre 2005

Tonantzin Calvo Arroyo.  
Carolina Cano Gil.  
Rocio Costo Cámaras.  
Luz Hernando Palomo.  
Ana María Octavio Manzanares.  
Pablo Sánchez Robles.

## **ALUMNOS DE EDUCACIÓN SECUNDARIA, EN PRÁCTICAS.**

### **Ciclo Formativo Grado Superior. Instituto de Educación Secundaria "Virgen de la Paloma".**

Abril 2005 - Junio 2005.

Laura Fernández Casatejada.  
Raquel López Mingo.  
Ana Molinete López.  
Ana Belén Roldán Navarro.

### **Ciclo Formativo Grado Medio. Instituto de Educación Secundaria "Virgen de la Paloma".**

Octubre 2005 - Enero 2006.

Christian Pastor Santos.  
Rocío Navarrete Bermejo.

### **Ciclo Formativo Grado Superior. Instituto de Educación Secundaria "Escuela de la Vida e Industrias Lácteas".**

Abril 2005 - Junio 2005.

Patricia Martínez Rivas.  
Mª Cristina Prieto García.

## **PARTICIPACIÓN EN COMITÉS CIENTÍFICOS INTERNACIONALES.**

### **L. Amigo**

Miembro del Comité Permanente "Physicochemical Methods of Analysis" (PCMA) y del Joint IDF/ISO/AOAC Action Team (JAT) "Nitrogen Compounds" (E-302) del Grupo de Expertos en leche y productos lácteos de la Federación Internacional de Lechería (FIL) como representante del Comité Nacional Lechero Español.

### **J. Belloque**

Evaluadora experta de proyectos CRAFT del Sexto Programa Marco de la UE.

**A. Cifuentes**

Miembro “Expert on Biosafety for the Cartagena Protocol on Biosafety” de las Naciones Unidas (bch.biodiv.org).

Miembro del “Expert Working Group on Genetically Modified Organisms” del European Food Safety Authority (EFSA).

Miembro del “Scientific Committee” de BioMicroWorld-2005, 1st International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology.

Miembro del “Scientific Committee” del LACE 2005; 11th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical, and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology.

Miembro del Comité Científico del III IBEROLAB (Tercer Congreso Virtual Iberoamericano Sobre Gestión de la Calidad en Laboratorios).

Evaluador de Proyectos para la Austrian Science Fund (FWF).

Evaluador del Programa de Tecnologías de la Alimentación de la Xunta de Galicia.

**N. Corzo**

Miembro del Comité permanente “Characterization of physical properties” del Grupo de Expertos en leche y productos lácteos de la Federación Internacional de Lechería (FIL) como representante del Comité Nacional Lechero Español.

**A. Olano**

Miembro del Comité permanente “Physico-chemical methods of analysis” del Grupo de Expertos en leche y productos lácteos de la Federación Internacional de Lechería (FIL) como representante del Comité Nacional Lechero Español

**A. Olano, N. Corzo, M. Villamiel, F.J. Moreno**

Integrantes del grupo Biotecnología, Calidad Medioambiental y Seguridad Agroalimentaria (BICAMSA): Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Universidad del Cauca. Colombia.

**A. Olano, N. Corzo, M. Villamiel, M.D. del Castillo, F.J. Moreno**

Miembros de “the International Maillard Reaction Society (IMARS”).

**C. Polo, M.V. Moreno**

Miembros como Expertos de la Delegación Española de la Organización Internacional de la Viña y el Vino.

**M. Villamiel**

Miembro del Comité permanente “Dairy Science and Technology” del Grupo de Expertos en leche y productos lácteos de la Federación Internacional de Lechería (FIL) como representante del Comité Nacional Lechero Español.

## PARTICIPACIÓN EN COMITÉS CIENTÍFICOS NACIONALES

### **L. Amigo**

Miembro de la Comisión Permanente de Directores del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Moderadora de la I Conferencia de Directores de Centros e Institutos (CONFEDIR) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

### **A. Cifuentes**

Comité de Evaluación de Proyectos de I + D de la Xunta de Galicia. Dirección General de Investigación y Desarrollo. Xunta de Galicia.

### **M.C. Polo**

Miembro del Comité Científico de las VII Jornadas Científicas de los Grupos de Investigación Enológica (GIENOL).

## CHAIRMAN DE SESIONES DE CONGRESOS Y CONFERENCIAS INTERNACIONALES

### **A. Cifuentes**

Chairman de la Sesión “Chromatography”. 11th International Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis. Octubre-2005.

## CHAIRMAN DE SESIONES DE CONGRESOS Y CONFERENCIAS NACIONALES

### **L. Amigo**

Presidente de Sesión. I Conferencia de Directores de Centros e Institutos del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. El Escorial.

### **C. Gómez-Cordovés**

Presidente de Sesión, XI Congreso Nacional de Enólogos, Toledo.

## PARTICIPACIÓN EN COMITÉS EDITORIALES INTERNACIONALES

### **A. Cifuentes**

Miembro de la Editorial Board de la revista Electrophoresis.

Revista “Journal of Separation Science”.

“Guest Editor” del Volumen especial sobre “Food Analysis” del J. Sep. Sci. 28 (Issue 9-10) 2005.

**M. Ramos**

Revista “European Food Research and Technology”.

## **PARTICIPACIÓN EN COMITÉS EDITORIALES NACIONALES**

**A. Cifuentes, E. Ibáñez**

Revista “Cromatografía y Técnicas Afines” de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA).