Universidad Miguel Hernández Escuela Politécnica Superior de Orihuela

Departamento de Tecnología Agroalimentaria



"Funcionalización de turrones protegidos: Turrón de Jijona con inulina y Turrón a la piedra con propóleo y jalea real"

Memoria realizada para optar al título de Doctor, presentada por

Dña. Elena Narbona Fernández

Orihuela 2014



Universidad Miguel Hernández Escuela Politécnica Superior de Orihuela

Departamento de Tecnología Agroalimentaria



"Funcionalización de turrones protegidos: Turrón de Jijona con inulina y Turrón a la piedra con propóleo y jalea real"

TESIS DOCTORAL

Presentada por: Dña. Elena Narbona Fernández Directores: Dr. Ángel A. Carbonell Barachina Dra. Elena García García



Universidad Miguel Hernández Escuela Politécnica Superior de Orihuela

Departamento de Tecnología Agroalimentaria



"Funcionalización de turrones protegidos: Turrón de Jijona con inulina y Turrón a la piedra con propóleo y jalea real"

Fdo.: Dr. Ángel A. Carbonell Barrachina Fdo.: Dra. Elena García García

Fdo.: Dña. Elena Narbona Fernández





D. José Ramón Díaz Sánchez, Dr. Ingeniero Agrónomo y Catedrático de Universidad del Departamento de Tecnología Agroalimentaria de la Universidad Miguel Hernández,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral Titulada "Funcionalización de turrones protegidos: Turrón de Jijona con inulina y Turrón a la piedra con propóleo y jalea real" de la que es autora la Ingeniero Técnico Agrícola y Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos **Elena Narbona Fernández** ha sido realizada bajo la dirección del Dr. Ángel A. Carbonell Barrachina y la Dra. Elena García García, la cual considero conforme en cuanto a forma y contenido para que sea presentada para su correspondiente exposición pública.

Y para que conste a los efectos oportunos firmo el presente certificado en Orihuela a once de febrero de dos mil catorce.

Fdo.: Dr. José Ramón Díaz Sánchez





D. Ángel A. Carbonell Barrachina, Dr. en Ciencias Químicas y Catedrático de Universidad del Departamento de Tecnología Agroalimentaria de la Universidad Miguel Hernández,

Dña. Elena García García, Dra. en Farmacia y Profesora del Departamento de Biología Aplicada e Instituto de Bioingeniería de la Universidad Miguel Hernández,

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral Titulada "Funcionalización de turrones protegidos: Turrón de Jijona con inulina y Turrón a la piedra con propóleo y jalea real" llevada a cabo por la Ingeniero Técnico Agrícola y Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos **Elena Narbona Fernández** ha sido realizada bajo nuestra dirección y autorizamos a que sea presentada para optar a la obtención del grado de Doctor por la Universidad Miguel Hernández.

Y para que conste a los efectos oportunos se firma el presente certificado en Orihuela a once de febrero de dos mil catorce.

Fdo.: Dr. Ángel A. Carbonell Barrachina Fdo.: Dra. Elena García García





No existe el fracaso, salvo cuando dejamos de esforzarnos.

Jean-Paul Marat (1743-1793)



AGRADECIMIENTOS

En estos momentos en los que me acerco al final de esta Tesis Doctoral y voy cerrando este capítulo de mi vida, hago resumen de lo que ha significado, las ilusiones, el esfuerzo y el tiempo consumido, unas veces de forma activa y otras en la sombra por los giros inesperados de la vida. Muchos han sido los que han hecho posible que, pese a las adversidades, hoy pueda finalizar este trabajo.

En primer lugar mi más sincero agradecimiento a mis directores de Tesis el Dr. Ángel Carbonell Barrachina y la Dra. Elena García García por la gran dedicación y el apoyo incondicional que me han ofrecido durante la realización de este trabajo, compartiendo sus conocimientos y su tiempo. Muchas gracias por todo.

A la empresa *Pablo Garrigós Ibáñez S.L.*, por apostar por la investigación y facilitarnos sus instalaciones y productos para llevar a cabo este proyecto.

Gracias a todos aquellos compañeros y personal de la universidad con los que compartí horas de clase, laboratorio o simplemente un café en la cantina. Se echan mucho de menos esos momentos.

Todo lo que hago no puedo dejar de dedicárselo a mis padres, por el apoyo que siempre he recibido de ellos y porque a pesar de los años y numerosas dificultades, siempre están ahí. A mis hermanos para nunca dejen de luchar por su futuro y que sepan que pueden contar conmigo. Gracias *yaya* por cuidar de mi y ayudarme tanto.

A mis amigos, que a pesar del tiempo y la distancia, cuando me reúno con ellos siempre tengo la sensación de sentirme en casa. Gracias Olga Rosique, Iván Rodríguez y Asun López por todos estos años compartiendo y creciendo juntos. Espero que sigamos tan unidos en el futuro.

Finalmente, quiero dedicar estas líneas a mi familia. A mi compañero de viaje, Martín, con el que comparto ilusiones, proyectos y un hogar. Espero que sigamos haciéndolo en el futuro y que podamos celebrar grandes momentos juntos. Espero que el siguiente en recoger frutos seas tú, ya que has invertido y sacrificado mucho, lo mereces. Cuenta conmigo una vez más en tu gran aventura. Gracias por estar ahí, por tu cariño y por ser parte de lo más bonito que ha podido pasarme en la vida, nuestra hija. Inés, mi pequeña escocesa, tú eres sin duda la que más fuerza me ha dado para poder llevar a término esta Tesis Doctoral. Gracias mi vida por la felicidad y el amor que me aportas, a pesar de las pocas horas de sueño. Espero poder compensar todo lo que me das, que es mucho y bueno.





A mi hija Inés









ÍNDICE GEI	NERAL .	<u>PÁGIN</u>
0. ANTECEDENTES		1
1. INTRODUCCIÓN		3
1.1. EL TURRÓN: DEFINICIÓN		3
	1.1.1. Tipos de turrón	3
1.2. ASPECTOS HISTÓRICOS Y SOCIOECONÓMICOS		10
	1.2.1. Orígenes y evolución	10
	1.2.2. Situación actual	12
	1.2.3. Nuevas visiones del producto	16
1.3. FUNCIONALIZACIÓN DEL TURRÓN		17
	1.3.1. Alimentos funcionales	17
	1.3.1.1. Definición de alimento funcional	18
	1.3.2. Ingredientes funcionales incorporados	19
al turrón	1.3.2.1. La inulina	19
	1.3.2.2. El propóleo	22
	1.3.2.3. La jalea real	25
2. OBJETIV		29
3. MATERIALES Y MÉTODOS		31
3.1. COMPOSICIÓN VOLÁTIL DEL TURRÓN A LA PIEDRA		31
FUNCIONAL	L CON PROPÓLEO	
	3.1.1. Materiales	31
	3.1.2. Umbral de detección del propóleo	31
	3.1.3. Procedimiento de extracción-destilación	32
simultánea	a vacío	
	3.1.4. Cromatografía de gases-espectrometría	32
de masas		



3.1.5	5. Evaluación sensorial con panel entrenado	33	
3.1.6	5. Análisis estadístico	34	
3.2. COMP	OSICIÓN VOLATIL DEL TURRÓN A LA PIEDRA	34	
FUNCIONAL CON	JALEA REAL		
3.2. 1	L. Materiales	34	
3.2.2	2. Umbral de detección de la jalea real	34	
3.2.3	3. Procedimiento de extracción-destilación	35	
simultánea a vac	ío		
3.2.4	l. Cromatografía de gases-espectrometría	35	
de masas			
3.2.5	5. Evaluación sensorial con panel entrenado	36	
3.2.6	5. Análisis estadístico	36	
3.3. EFECT	OS DEL CONSUMO DE TURRÓN ENRIQUECIDO	36	
CON INULINA DU	RANTE 5 SEMANAS SOBRE EL PERFÍL LIPÍDICO		
DE LOS CONSUMIDORES			
3.3.1	L. Materiales	36	
3.3.2	2. Análisis físico-químico y microbiológico	37	
3.3.3	3. Determinación del contenido mineral por	37	
espectroscopia de absorción atómica			
3.3.4	l. Evaluación sensorial con panel de	38	
Consumidores			
3.3.5	5. Perfil lipídico	38	
3.3.6	5. Análisis estadístico	38	
4. PUBLICACIONES		39	
PUBLICACIÓN 1: Volatile composition of functional		40	
"a la piedra" turrón with propolis			



PUBLICACIÓN 2: Volatile composition of	49
"a la piedra" turrón enriched with royal jelly	
PUBLICACIÓN 3: The effect of consumption of inulin	57
enriched Turrón upon blood serum lipids over a 5-week period	
REPORTAJE TÉCNICO: Turrón "a la piedra" funcional.	64
La adición de propóleo es beneficiosa para la salud	
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	68
5.1. COMPOSICIÓN VOLÁTIL DEL TURRÓN A LA PIEDRA	68
FUNCIONAL CON PROPÓLEO	
5.1.1. Umbral de detección del propóleo	68
5.1.2. Actividad biológica	68
5.1.3. Compuestos volátiles	69
5.1.4. Evaluación sensorial	70
5.2. COMPOSICIÓN VOLÁTIL DEL TURRÓN A LA PIEDRA	70
FUNCIONAL CON JALEA REAL	
5.2.1. Umbral de detección de la jalea real	70
5.2.2. Actividad biológica	71
5.2.3. Compuestos volátiles	71
5.2.4. Evaluación sensorial	72
5.3. EFECTO DEL CONSUMO DE TURRÓN ENRIQUECIDO	72
CON INULINA DURANTE 5 SEMANAS SOBRE EL PERFÍL LIPÍDICO	
DEL CONSUMIDOR	
5.3.1. Composición del turrón de Jijona y turrón de	72
Jijona con inulina	
5.3.2. Evaluación sensorial	72
5.3.3. Intervención dietética	73
6. CONCLUSIONES	





7. BIBLIOGRAFÍA	79
8. ANEXOS	
ANEXO 1: COMUNICACIONES A CONGRESOS	86



INTRODUCCIÓN UNIVERSITAS Miguel Hernández





0. ANTECEDENTES

Uno de los objetivos del presente trabajo, surge varios años atrás en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela ante el hecho de que a expreso deseo del consumidor, la industria de la alimentación ha tenido que reinventarse en las últimas décadas, ya que cada vez son mas demandados los productos que se caracterizan, además de por su sabor y aspecto, por sus propiedades nutricionales y funcionales en el organismo. El sector turronero no ha sido una excepción en este aspecto.

El Turrón, dulce objeto de esta tesis, se ha caracterizado por la estacionalidad, no faltando en casi ningún hogar español durante épocas navideñas. Ha tenido que luchar para romper dicha tendencia y poder ampliar mercado. Actualmente encontramos turrón en verano en las heladerías, ganando meses a la producción, se ha introducido en la alta cocina y en el sector gourmet. Numerosas son las variedades que se ofertan hoy día en el mercado.

La idea inicial que nos lleva a realizar investigaciones con turrones, es plantear soluciones a dicha estacionalidad y dar a conocer un producto que "a priori" presume ser saludable, pues la almendra componente principal del turrón, posee un perfil lipídico similar al aceite de oliva, cuyas bondades nutricionales han sido descritas numerosas veces.

bibliográficas referencias Encontramos en nuestras investigaciones bromatológicas y tablas de composición nutricional de diversos turrones (Mataix et al., 1998) pero ningún estudio nutricional sobre su consumo y repercusiones en el organismo. Así surgió el "Estudio piloto para la determinación nutricional del Turrón de Jijona". Se planteó como modelo previo de investigaciones que se realizarían más tarde y que se describirán a continuación. Los objetivos iniciales fueron evaluar el consumo preferente de diferentes tipos de turrón según edad y estación, identificar acciones para la desestacionalización del producto y determinar la influencia del consumo (durante un mes) de turrón de Jijona sobre el perfil lipídico del consumidor. Una relación positiva entre el consumo de turrón de Jijona y los niveles de colesterol fue una de las conclusiones de dicho estudio. El turrón se presentaba como un dulce con un gran potencial de explotación por sus cualidades nutricionales que lo hacen merecedor de formar parte de los productos "equilibrados" de la famosa dieta mediterránea.



A lo largo de este trabajo de investigación, intentaremos profundizar en el sector turronero y diversificar la producción desarrollando turrones con la incorporación de sustancias funcionales tales como inulina, jalea real y própolis.

De esta forma, pretendemos ampliar el perfil del consumidor, ya que, los consumidores habituales de turrón tradicional estarían al alcance de un dulce funcional elaborado según los procesos de elaboración protegidos y amparados por el Consejo Regulador de las Indicaciones Protegidas Jijona y Turrón de Alicante (CRIGPJTA) sin perder sus características organolépticas y con un valor nutricional añadido. De este modo surgirían nuevos consumidores potenciales que se preocupan por su salud.

Para poder realizar este trabajo minuciosamente será necesario conocer el mercado y la situación actual del sector, conocer profundamente las sustancias seleccionadas para el desarrollo de los nuevos turrones, realizar análisis físico-químicos y sensoriales a través de catas discriminativas y finalmente la presentación al sector para su posterior comercialización.

La **estructura** de esta tesis consta de una <u>Introducción</u> (capítulo primero) en la que se incluye una revisión bibliográfica sobre las sustancias funcionales incorporadas a los turrones seleccionados para este estudio.

En el capítulo segundo se describen los <u>Objetivos</u> propuestos. El siguiente capítulo es un resumen de los <u>Materiales y Métodos</u> empleados durante el desarrollo de los estudios que han formado parte de la presente tesis doctoral.

A continuación se incluyen las <u>Publicaciones</u> que componen la base de la misma.

El capítulo quinto resume y discute los <u>Resultados</u> más relevantes obtenidos en dichos estudios.

Seguidamente, en el capítulo sexto se recogen las <u>Conclusiones</u> de los estudios que componen esta tesis.

El capítulo séptimo pertenece a la sección de <u>Bibliografía</u> en la que se recoge la bibliografía empleada en las secciones de esta Tesis Doctoral con excepción de la correspondiente a las publicaciones.

Finalmente, en el capítulo octavo se incluyen las <u>Comunicaciones a</u> <u>Congresos</u> que han derivado de estos estudios.



1. INTRODUCCIÓN

1.1. EL TURRÓN: DEFINICIÓN

El turrón es un producto definido como "la masa obtenida por la cocción de miel, azúcares y clara de huevo, con posterior incorporación de almendra pelada y tostada, y más tarde amasada, a la que tradicionalmente se le da forma de tableta rectangular o torta" (CRIGPJTA, 2001).

Con la creación del Consejo Regulador de la Indicaciones Geográficas Protegidas Jijona y turrón de Alicante (CRIGPJTA), que agrupa casi a la totalidad de las empresas elaboradoras de turrón, los fabricantes pretenden llevar a cabo un control de la calidad del turrón de Jijona y de Alicante que va a llegar al mercado. El CRIGPJTA es un organismo que garantiza, con sistemas de verificación e inspección, el proceso, análisis y registro de las marcas amparadas de cada empresa y materias primas empleadas (CRIGPJTA, 2001).

1.1.1. Tipos de turrón

Según la Reglamentación Técnico Sanitaria de Turrones y Mazapanes, RD 1787/1982, los turrones blando y duro son elaborados exclusivamente con almendras peladas o con piel y tostadas, miel, azúcares, clara de huevo o albúmina, agua y los aditivos autorizados. Se admite la presencia de fécula de harina hasta un máximo de un gramo por cien gramos, en los turrones duros, precedentes de restos de obleas de recubrimientos y, en el caso de los blandos, por el aprovechamiento de fragmentos de turrones duros.

Sin embargo, en el mercado existe una amplia gama de productos denominados turrón incluso estando ausente su componente principal, la almendra, que es sustituida por otro ingrediente.

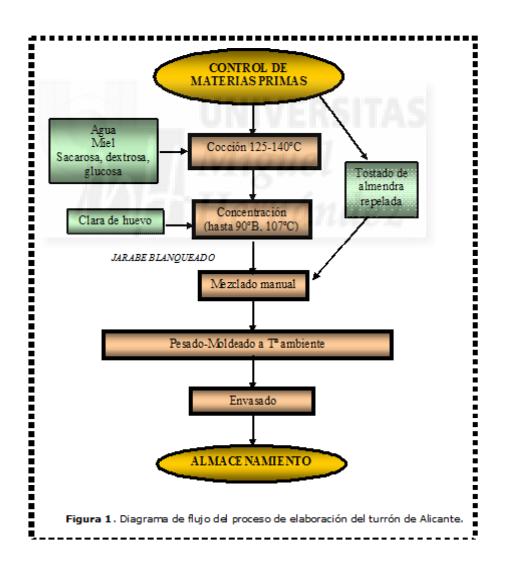
Los turrones pre-seleccionados para enfocarlos como productos funcionales en el presente estudio, son turrones elaborados tradicionalmente en la comarca de Jijona a lo largo de la historia, entre ellos, Alicante, Jijona, guirlache y a la piedra.



Turrón de Alicante

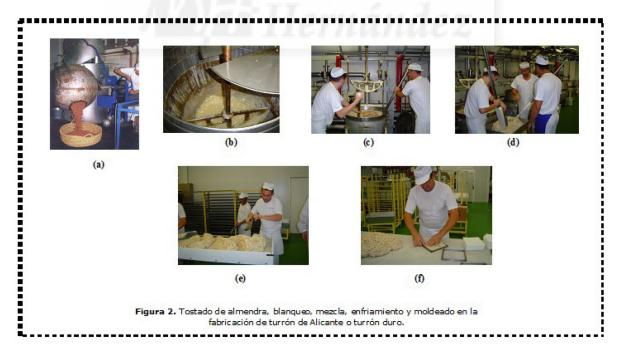
Turrón o masa obtenida por cocción de azúcar y miel, con incorporación y amasado de almendras tostadas y clara de huevo, de consistencia dura que no ha sido sometido a molienda. Se puede añadir oblea como motivo decorativo o bien para evitar la pegajosidad característica del producto.

El siguiente diagrama de flujo (**Figura 1)**, muestra el proceso de elaboración del turrón de Alicante.





Como se observa en la figura 2, las etapas de mayor importancia en la elaboración del turrón de Alicante o turrón duro, son la etapa de tostado de la almendra, en tostadoras de cilindro giratorias (a) a una temperatura de 165 ºC durante aproximadamente 25 minutos. Es fundamental controlar el tiempo y la temperatura ya que son la clave del éxito para conseguir el flavor y la textura (crujibilidad). Otra etapa de gran importancia, ya que requiere proceso térmico y por tanto de cambios aromáticos y de textura, es la etapa de concentración de las mieles y azúcares en la mecánica, que es una especie de olla-batidora con capacidad para 50-60 kilos (b) donde se mezclan con el agua durante 30 minutos. El agua se va evaporando hasta llegar a un punto concreto de caramelización, conocido por los maestros turroneros y llamado "punto de hilo" Posteriormente y tras una etapa de enfriamiento hasta unos 70 °C, se añade la clara de huevo u ovoalbúmina al 1 % (blanqueo) y se vuelve a calentar. A continuación se adiciona la almendra tostada y repelada (c) y se mezcla manualmente (d). Se extiende la mezcla y se deja reposar hasta que se pueda manipular manualmente por los operarios. La masa de pesa y se corta (e). Finalmente se introduce el turrón aún caliente en unos moldes y se deja reposar (f), en este momento se añadiría la oblea.





Turrón de Jijona o turrón blando

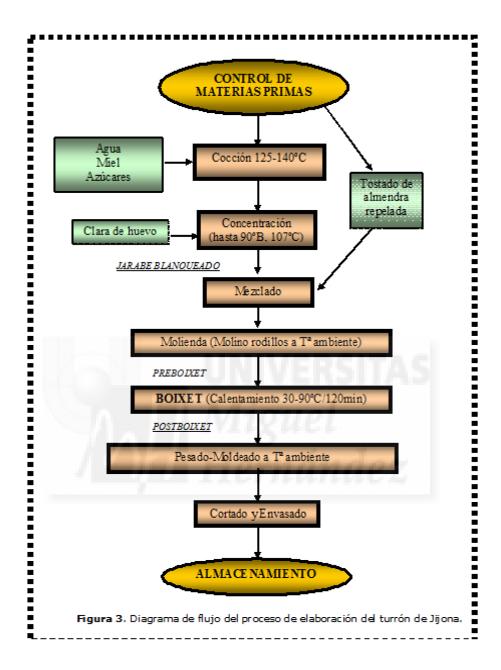
Turrón o masa obtenida por la cocción de azúcar y miel, con incorporación y amasado de almendras tostadas y clara de huevo, de consistencia blanda debida a procesos mecánicos.

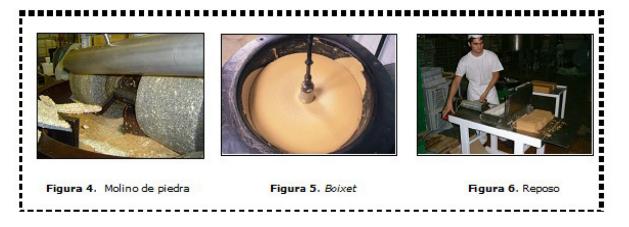
El proceso de elaboración del turrón de Jijona es más complejo que el proceso de elaboración del turrón de Alicante, sin embargo las primeras etapas son las mismas en ambos casos, de manera, que queda explicado en el proceso de elaboración del turrón de Alicante, cómo se obtiene la mezcla resultante de las mecánicas y la almendra tostada (Figura 3). Por este motivo, directamente hablaremos de las etapas que diferencian a ambos turrones y que son de gran importancia en la fabricación de un buen turrón de Jijona. Hasta el momento tendríamos básicamente el turrón de Alicante. Las siguientes etapas son la etapa de molienda en el molino de piedra (Figura 4) y la etapa de calentamiento y homogenización de la masa en el boixet (Figura 5). Finalmente el turrón se introduce en moldes y se deja reposar durante 24 horas (Figura 6).

La mezcla o turrón de Alicante se introduce en el molino de piedra y se procede a la molienda, con el fin de romper la almendra y liberar los aceites. Las partículas son reducidas antes de la siguiente etapa, el *boixet*.

En el **boixet** es dónde el turrón de Jijona adquiere su consistencia, homogeneidad y calidad. Es un calderín semiesférico de 0,655 m de diámetro y una altura máxima de 0,4 m, con una capacidad útil de unos 65 kg de producto. Lo envuelve una camisa calefactora por la que circula el agua caliente o vapor. Además están provistos de un agitador en forma de maza o mortero. La maza tiene un peso aproximado de 8 kg, 4 m de longitud, 0,06 y 0,098 de perímetro superior e inferior respectivamente. Los movimientos que efectúa son uno vertical, bajando 88 veces por minuto hasta el fondo del calderín, y otro giratorio. Este tipo de agitación, junto con el calentamiento, consigue dar la consistencia final del turrón de Jijona (Chiralt Boix et al., 1999). La masa introducida en el boixet se calienta de forma progresiva durante aproximadamente hora y media hasta alcanzar unos 70 °C. Finalizado este tiempo, se adiciona una pequeña cantidad de almendra troceada (8 % en la calidad Suprema y 6 % en la Extra) y se continúa agitando durante unos 15 minutos. Cuando la masa ha alcanzado una determinada consistencia, según el maestro turronero, se somete a un recalentamiento (113 °C) y agitación manual con unas palas de madera, lo que se conoce como "rematado" del producto (Chiralt et al., 1991).









Turrón de guirlache

Se podría considerar el turrón de guirlache como una variante del turrón de Alicante, cuyo proceso de elaboración es prácticamente el mismo (**Figura 1**). En el turrón de guirlache se utiliza almendra con piel (**Figura 8**) y no se añade clara de huevo u ovoalbúmina para blanquear la mezcla de mieles y azúcares (**Figura 7**). Por este motivo, el turrón de guirlache posee un color más parecido al caramelo y un sabor amargo característico típico de la piel de la almendra y el caramelo. Además, se adiciona sésamo o ajonjolí (**Figura 12**) como elemento decorativo (*terronico*), el uso de la oblea es poco frecuente.

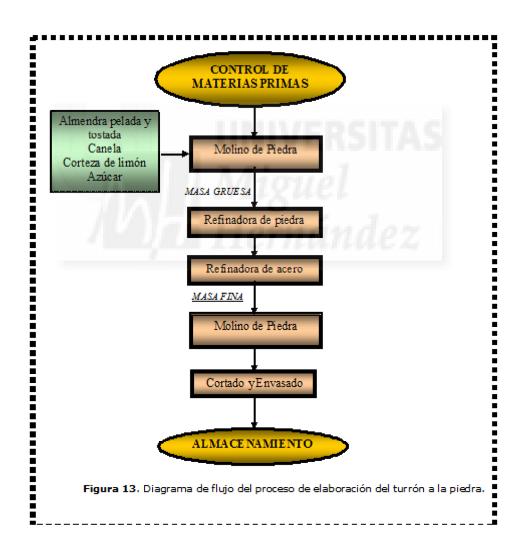


Turrón a la piedra

El turrón a la piedra es quizás el turrón menos conocido ya que se consume casi exclusivamente en la ciudad de Jijona, y por familias turroneras. Es por ello que el sistema que se utiliza para su elaboración es de los más tradicionales y artesanales.



En apariencia es similar al turrón de Jijona, pero no se utiliza ni miel ni huevo y en cambio se añade corteza de limón y canela. Se mezcla almendra, previamente tostada y pelada, azúcar, canela y corteza de limón en el molino de piedra. La masa gruesa obtenida se pasa por unas refinadoras (de piedra y acero) y se obtiene una masa más fina que se vuelve moler en el molino de piedra. La mezcla se deposita en papel vegetal y se espolvorea con canela. En la elaboración del turrón a la piedra no interviene ningún proceso térmico, exceptuando la almendra, que antes de ser incorporada al molino es tostada.





A continuación se muestran (**Figura 14**) los distintos turrones anteriormente descritos.



1.2. ASPECTOS HISTÓRICOS Y SOCIOECONÓMICOS

1.2.1. Orígenes y evolución

Como otros dulces, la elaboración del turrón se remonta al descubrimiento de la miel y el azúcar y ante la necesidad de aprovechar determinados productos que existían en abundancia. Probablemente surgió como consecuencia de la gran cantidad existente de almendras y miel en determinadas regiones (Blázquez Abellán et al., 1996)

Existen diversas teorías sobre el origen de este dulce. Italianos, barceloneses, árabes y levantinos se presentan como los padres del turrón; sin



embargo, con el paso del tiempo los turrones que han labrado una fama nacional e internacionalmente son el turrón de Jijona (blando) y el turrón de Alicante (duro) (CRIGPJTA, 2001).

A continuación se explican brevemente cada una de estas teorías tan arraigadas en sus tierras:

<u>Teoría italiana</u>. Cuenta que el turrón es originario de Cremona. La leyenda dice que en el banquete de bodas de Blanca Visconti con Francesco Sforza en 1441, se sirvió este dulce en forma de torreón, al que llamaron *torroni*; de la palabra latina *torrere*, del verbo tostar (CRIGPJTA, 2001).

Teoría barcelonesa. Data de 1703, cuando azotaba en dicha ciudad la peste, el gremio de pasteleros convocó un concurso para crear un postre típicamente navideño para mitigar el sufrimiento de los enfermos. El día convenido, los trece pasteleros que formaban el gremio presentaron sus propuestas, de las cuales salió ganador Pedro Torró, y es de aquí de donde vendría el nombre. La golosina que elaboró consistía en miel cocida, avellanas y piñones. El 2 de diciembre se hizo el pregón del nuevo dulce, e incluso los sacerdotes informaban a sus feligreses que lo comieran en los días navideños (CRIGPJTA, 2001).

<u>Teoría árabe</u>. Dicha teoría sostiene que es un dulce de origen oriental y se sustenta en que aparece un postre a lo que los españoles llamábamos, a principio de siglo, "turrón imperial" y ahora se conoce por turrón de Alicante (CRIGPJTA, 2001).

Teoría levantina. Esta teoría relata que es casi seguro que el turrón proceda de la cocina árabe o judía, ya que en Aragón existía un postre parecido llamado "nuegada", hecho con nueces. Realmente la teoría levantina no reivindica la invención de este postre, sin embargo, si se puede hablar de una cuna jijonenca del turrón y en cierta medida así es, ya que las modificaciones inventadas en Jijona, sobre la elaboración de esta exquisitez, aportan una transformación físico-química de tipo alimentario y técnico absolutamente autóctona (Chiralt Boix et al., 1999).

La implantación, en Jijona, de la elaboración de Turrón se remonta a tiempos antiguos. Los pobladores árabes de la zona ya practicaban la cocción de miel y almendra que se producía en su entorno. Los judíos sefarditas, en sus comunidades, elaboraban una pasta que se denominaba "Halva". Con los mudéjares, perduró el nombre de "Alaju" que, en una versión primitiva, era una mezcla de miel y almendra, elaborando un producto singular (CRIGPJTA, 2001).



Hay constancia de que era un dulce de gran aprecio en la corte de Carlos I, siendo citado en el "Espill" por Jaume Roig en el siglo XV, como postre típico en aquella sociedad valenciana, donde ya era conocido el nombre de "Jijona", y donde en el extranjero era sinónimo de calidad (Chiralt Boix *et al.*, 1999).

Ya en el siglo XVI, alrededor de cien familias salían a vender turrón asistiendo a todas aquellas ferias importantes donde mediante reatas de caballería acudían a los más lejanos rincones españoles a vender sus productos (Blázquez Abellán *et al.*, 1996).

Los jijonencos llegaron a todos los rincones españoles, pero sin conformarse extendieron su producto al otro lado del Atlántico y en Orán. La llegada del turrón al continente Americano pudo llegar también como regalos a personas distinguidas de aquellas tierras (Blázquez Abellán *et al.*, 1996).

La tradición con más de cinco siglos en vigencia y la venta de productos de gran calidad a buen precio hacen del turrón un dulce indispensable durante las fiestas navideñas.

Un consumidor cada vez más exigente, y los diversos problemas a los que se ve sometido el sector; hace que año tras año las empresas turroneras lancen nuevas variedades que hacen las delicias de jóvenes y mayores.

1.2.2. Situación actual

Estacionalidad

El consuno de turrón está ligado a una fecha muy señalada, la Navidad. La mayor parte de las ventas de este producto se producen en esta época. Se ve claramente una estacionalidad, aunque también podemos verlo durante el verano en todas las heladerías, ya que el turrón y los helados van íntimamente ligados a la cultura jijonenca.

Pero además de la estacionalidad del consumo, existe el problema de la escasa tecnificación en la fabricación del turrón, que hace que las empresas se vean obligadas a ampliar la mano de obra y los horarios de trabajo durante la campaña navideña mientras que el resto del año la producción es prácticamente nula. Además, la falta de procedimientos de control tecnológico del proceso de



fabricación dificulta la estandarización de la calidad del producto. Se ha intentado corregir por parte del sector la fabricación de otros productos más conocidos internacionalmente manteniendo el nombre de "turrón", lo cual lleva a una confusión del consumidor (chocolates, mazapanes, etc.) (Chiralt Boix *et al.*, 1999).

Consumo y mercado

La gran mayoría de las industrias jijonencas dedicadas en general a la elaboración de productos navideños suelen ser centenarias y en algunos casos hay que buscar en tiempos más remotos como en el siglo XVIII. Estas industrias presentan una estructura industrial muy bien desarrollada, heredada de pequeños negocios familiares dónde nacieron estos productos (Blázquez Abellán *et al.*, 1996).

Durante la Guerra Civil el sector turronero entra en crisis por falta de materias primas, que trunca su producción durante un largo período de tiempo, ya en la posguerra florecen de nuevo las empresas turroneras. Más tarde, durante la década de los setenta, muchos negocios familiares se fueron transformando en sociedades anónimas, otras se fusionaron y esto permitió afrontar los grandes gastos que les ocasionaba la adquisición de nueva tecnología, la cual les generaba mayores producciones (Blázquez Abellán *et al.*, 1996).

A lo largo de los años, el sector turronero ha tenido que hacer frente a diversas dificultades. Problemas con la producción, venta y distribución, falsificaciones, imitaciones fraudulentas en Iberoamérica, marcas blancas y el valor en el mercado de uno de sus componentes más importantes, la almendra.

El precio del turrón depende en gran medida de la variedad de almendra empleada. La variedad "Marcona" (**Figura 15**) es actualmente la preferida para la elaboración de turrón, debido a la idea que tienen los fabricantes de que sus cualidades son óptimas para este fin. Es una almendra dura, con forma típica de corazón y con una floración tardía, lo que le permite evitar las heladas del fruto (Blázquez Abellán *et al.*, 1996). La almendra "Marcona" es la variedad más cara. Según la TUMA durante el período comprendido entre 2003-2006 los problemas asociados a la cosecha de Marcona, hicieron que el precio final del turrón se incrementara entre un 7 % y un 10 %. Las empresas tuvieron que hacer, una vez más, frente a estas variaciones.





Según datos de La Unió de Llauradors (Organización Profesional Agraria que representa a los agriculturas y ganaderos de las comarcas valencianas), la almendra Marcona viene sufriendo desde 2009 una fuerte crisis acentuada durante la cosecha de 2001, debido entre otras causas a la escasez de lluvias. Éste hecho, además de la baja cotización del producto (impuesta por el mercado internacional en algunos frutos secos), ha llevado a muchos agricultores al abandono de los cultivos y en consecuencia a la necesidad por falta de materia prima, de importar almendra de California. El uso de este tipo de almendra, de aspecto más alargado es el que por ejemplo ha ganado fuerza en la elaboración de turrones de marcas blancas sin IGP de Jijona y Alicante, lo que según los expertos turroneros hace que disminuya la calidad de los mismos.

Por todo ello, campaña tras campaña el sector turronero, que busca un producto de calidad, ha de batallar con todos estos aspectos. Desde 2009 la COAG (Coordinadora de Organizaciones de Agricultores y Ganaderos), viene solicitando a las administraciones que sean responsables y velen por el patrimonio agrario, histórico y cultural de nuestros productos y en concreto de la almendra Marcona que da a lugar a productos de tanta relevancia gastronómica como es el turrón protegido.

Durante las campañas comprendidas entre 2007-2009, las ventas en el sector turronero tuvieron un crecimiento positivo, sin embargo a partir de 2009-2010 y como consecuencia de la recesión económica, el volumen comercializado de



turrones entró en retroceso. El Consejo Regulador de la Denominación de origen Jijona y Turrón de Alicante cifró en un 6 % la caída de su sector en el 2009. Por otro lado, TUMA (que agrupa 17 compañías que representan el 66 % del mercado nacional), asegura que el mercado nacional cayó un 3,3 % mientras que las exportaciones se redujeron en un 4,3 % (Villegas, 2010).

En España se consumen al año 58.640 toneladas de productos navideños, de los cuales casi 17.464 toneladas son turrones. El 85 % de la producción va destinada al mercado nacional, sin embargo durante los últimos años los esfuerzos del sector por aumentar la producción, ha tenido como resultado un ligero aumento en los mercados extranjeros según informes de la campaña de 2011 presentados por el CRIPJTA. Estos datos reflejan escasas oscilaciones propias de un mercado maduro así como un incremento en la fidelización por parte del consumidor de turrones protegidos, en concreto, turrón de Jijona y turrón de Alicante cuya producción ha aumentado durante los últimos años.

En cuanto a las preferencias del consumidor, según fuentes facilitadas por IRI España, los turrones más vendidos durante las campañas comprendidas entre 2008-2010, fueron los turrones de chocolate (crujiente, praliné y con almendras), seguidos por los clásicos turrón de Alicante y Jijona (Villegas, 2010).

Sin embargo cabe destacar, que al igual que en otros sectores de la alimentación, las especialidades navideñas, incluidos los turrones, sin azúcar crecieron muy por encima de la media de cualquier otra especialidad en la campaña 2009-2010 según datos de la TUMA. Los turrones sin azúcar progresaron un 8,7 % en la distribución moderna, al comercializar cerca de 100 toneladas más de producto que en el curso del año anterior, con 861 toneladas.

La buena acogida de los "saludables" por parte del consumidor, cada vez más preocupado por su salud, ha llevado a las empresas del sector a invertir en investigación y en campañas de publicidad.

Se abre así un marco prometedor para la **funcionalización del turrón protegido** (objeto de esta tesis), del que cabe esperar todos los aspectos beneficiosos de un dulce promocionado por la prestigiosa dieta mediterránea y que además estará caracterizado por la exaltación de estas bondades al ser incorporados ingredientes de carácter funcional.



1.2.3. Nuevas visiones del producto.

El ritmo de vida actual nos impulsa hacia la búsqueda de alimentos que nos garanticen una mejora sobre nuestra salud. Diversos estudios apuntan a los efectos beneficiosos que conlleva el consumo de turrón de Jijona, la base de estos estudios reside en la composición nutricional del turrón. El componente principal es la almendra, cuyo perfil lipídico es similar al aceite de oliva y de ahí su importancia.

Entendiendo el turrón como un dulce sano debido a sus propiedades nutricionales, cabe esperar que la adición de ciertas sustancias pueda mejorar estas propiedades y de esta manera calificarlo como producto funcional, planteando soluciones a la estacionalidad que afecta a este sector y que además en las últimas campañas tan buen resultado están teniendo.

Finalmente y tras una pre-selección, los <u>turrones seleccionados</u> en este estudio para la incorporación de ingredientes funcionales fueron el <u>turrón de Jijona o blando y a la piedra</u>. El proceso de elaboración de estos turrones ha seguido las pautas de los turrones protegidos, es decir, elaboración tradicional con las materias primas seleccionadas por los maestros turroneros y con la única diferencia de añadir un ingrediente de carácter funcional, teniendo en cuenta la mínima modificación del producto en cuanto a aspecto, textura y sabor, para así conservar toda su esencia artesanal.

Los ingredientes naturales con carácter funcional seleccionados para la elaboración de los "nuevos turrones" son:

- **Inulina**.- incorporada al turrón de Jijona.
- **Propóleo**.- incorporado al turrón a la piedra.
- Jalea Real. incorporada al turrón a la piedra.



1.3. FUNCIONALIZACIÓN DEL TURRÓN

1.3.1. Alimentos funcionales

Actualmente, la investigación y el desarrollo de nuevos productos pretenden ofrecer al mercado nuevos alimentos frente a determinados aspectos relacionados con la salud y especialmente aquellos que pueden mejorar determinados riesgos, en los que se intenta incorporar una mayor variedad de ingredientes funcionales que además de disminuir el consumo calórico total, pretenden influir en el metabolismo energético. Los conceptos básicos de la nutrición experimentando un cambio significativo (Menrad, 2003). La idea cada vez más aceptada del binomio "dieta y salud" abre nuevos horizontes sobre los efectos de ingredientes alimenticios en funciones fisiológicas y salud. Es en este ámbito donde aparecen los alimentos funcionales, nutraceúticos, alimentos diseñados, alimentos terapéuticos, superalimentos o alimentos medicinales (Nagai & Inoue, 2004). El primer paso en el desarrollo de alimentos funcionales es la identificación del factor funcional, condición o compuesto que produce un efecto específico, que es efectivo como coadyuvante con el objetivo de conseguir el fin perseguido. Por otro lado es importante matizar e investigar si el ingrediente funcional incorporado en el alimento tiene alguna interacción con otros compuestos de la matriz alimentaria.

Un objetivo para la industria de alimentos es ofrecer al consumidor alimentos con un contenido reducido de calorías, sustituyendo el contenido de azúcares simples por ingredientes alimenticios con una menor densidad energética y las mismas características sensoriales, como por ejemplo en nuestro caso utilizando inulina. Otra estrategia a utilizar es la modificación del índice glicémico, ya que los alimentos con índices glicémicos elevados promueven una rápida oxidación post-prandial de la glucosa a expensas de la oxidación de las grasas, y esto puede dar lugar a una mayor ganancia de peso corporal. En este sentido podemos matizar que el índice glicémico de un alimento es directamente proporcional al grado de absorción intestinal de carbohidratos, en este sentido la incorporación de sustancias que sustituyan carbohidratos simples o disminuyan la absorción de carbohidratos, como las fibras, las grasas, e inhibidores de la acción de las enzimas digestivas, puede disminuir el índice glicémico del alimento.



1.3.1.1. Definición de alimento funcional

Existen numerosas definiciones de alimento funcional puesto que son muchos los contextos que forman parte de dicho concepto, entre ellos, los avances tecnológicos, la comercialización de alimentos y las normas de regulación de los mismos (Palou *et al.*, 2003).

Sin embargo, son cuatro los conceptos clave identificados en cualquier definición de alimento funcional (Doyon & Labrecque, 2008):

- i) <u>Beneficios para la salud</u>. Estos beneficios podrían clasificarse como la mejora en la función de un determinado objetivo diana o como la reducción del riesgo de padecer determinadas enfermedades.
- ii) <u>La naturaleza de los alimentos</u>. Un alimento funcional debe ser o debería parecerse a un alimento tradicional, aunque en su proceso de elaboración haya sufrido transformaciones como enriquecimiento, fortificación, adición o eliminación de componentes.
- iii) <u>Nivel de la función</u>. Lo que hace que un alimento tenga propiedades funcionales son los beneficios fisiológicos o psicológicos que provocan, más allá de sus funciones nutricionales básicas.
- iv) <u>Patrón de consumo</u>. Un alimento funcional debe ser parte de una dieta normal o ajustada a un patrón de consumo normal, en una situación geográfica específica y/o dentro de un determinado contexto cultural. Por lo tanto, un alimento que puede ser considerado funcional en un país no necesariamente tiene que ser considerado en otro.

Teniendo en cuenta lo anterior, Doyon y Labrecque (2008) <u>definen alimento</u> <u>funcional</u> como aquel alimento que es o que presenta una gran similitud con un alimento convencional, que forma parte de una dieta estándar y que se consume de forma regular y en cantidades normales, habiendo demostrado también la capacidad de reducir el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas específicas, o que beneficia diversas funciones diana del organismo a las que afecta, más allá de sus funciones nutricionales básicas.

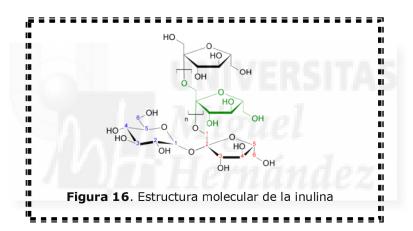


1.3.2. Ingredientes funcionales incorporados al turrón

En el siguiente apartado se describen las características principales de los ingredientes con carácter funcional que han sido incorporados al turrón de Jijona (inulina) y al turrón a la piedra (propóleo y jalea real).

1.3.2.1. *La inulina*

Inulina (**Figura 16**) es el nombre con el que se designa a una familia de glúcidos complejos (polisacáridos), compuestos de cadenas moleculares de fructosa y producido por muchos tipos de plantas (Roberfroid *et al.*, 2005).



Es una mezcla polidispersa de oligomeros y polímeros de fructosa unidos por enlaces β-(2-1), con una unidad de glucosa normalmente en uno de los extremos (GFn).

La inulina se encuentra en más de 36.000 plantas siendo su reserva de energía. Es una sustancia que se encuentra presente de forma natural en nuestra dieta cotidiana: alcachofas, espárragos, puerros, cebollas, ajos, trigo, avena, plátanos,... También se encuentra en gran cantidad en las raíces de la achicoria y es de ahí de donde se extrae a escala industrial (Roberfroid *et al.*, 2007). La inulina se extrae de la achicoria silvestre o achicoria amarga (*Chicorium intybus*) mediante un procedimiento de extracción que utiliza agua caliente y su aspecto final recuerda al almidón.



Funciones de la inulina y la oligofructosa.-

1) Fibra

Los enlaces β-(2-1) son resistentes a la hidrólisis por parte de los enzimas digestivos del intestino delgado. En consecuencia, tanto la inulina como la oligofructosa llegan intactas al colon (Ellegard *et al.*, 1997) en voluntarios que habían sufrido una ileostomía (o ablación quirúrgica del colon). En el colon tanto la inulina como la oligofructosa son fermentadas por un número selectivo de bacterias, predominantemente las bifidobacterias y son transformadas en un 40 % biomasa bacteriana, en un 40 % de ácidos grasos de cadena corta, en un 15 % de ácido láctico y en un 5 % de gases (principalmente CO₂). Al igual que otras fibras, la inulina y la oligofructosa contribuyen a una mejor digestión. La proliferación de la biomasa bacteriana implica un aumento de la masa fecal y de la frecuencia de producción de heces. Se ha demostrado que el peso de las heces aumenta de 1,5 a 2 gramos por gramo de inulina u oligofructosa ingerida (De Hond *et al.*, 2000; Gibson *et al.*,1995). Al acelerar el vaciado del estómago y la velocidad de tránsito a lo largo del intestino, la absorción de calorías es menor.

2) El efecto prebiótico

En ensayos in vitro, se ha podido demostrar que la inulina y la oligofructosa constituyen excelentes substratos selectivos para las bifidobacterias así como, en menor grado, para los lactobacilos. Por otro lado, también se ha demostrado que la proliferación de bifidobacterias ejerce un efecto inhibidor sobre la multiplicación de diversas cepas bacterianas patógenas, especialmente sobre el *Clostridium perfringens* (Gibson *et al.*, 1995)

Los resultados de estos ensayos han quedado ampliamente corroborados por las conclusiones extraídas de estudios con voluntarios humanos donde se han establecido que tras dos semanas de administración de 15 g de inulina y oligofructosa se estimulaban las bifidobacterias convirtiéndose éstas, pasado este tiempo, en las más abundantes (Gibson *et al.*, 1995). Algunos estudios han concluido que incluso a razón de 5 g diarios, la oligofructosa, produjo, tras 11 días de consumo diario, un aumento significativo del número de bifidobacterias (Rao, 2001). Este efecto prebiótico también ha sido probado con la inulina, a una dosis de 8 g/día (Tuohy *et al.*, 2001), utilizando la reciente tecnología analítica FISH (*Fluorescent In Situ Hybridisation*) (Menne *et al.*, 2000).



Recientes estudios relacionan el consumo de productos enriquecidos con inulina y la reducción en niveles de colesterol LDL en pacientes con obesidad (De Luís *et al.*, 2010) lo que haría a este un producto idóneo en la lucha contra las enfermedades cardiovasculares.

3) Mejora de la absorción del calcio y de la densidad mineral ósea

Son numerosos los estudios realizados sobre la biodisponibilidad del calcio en el intestino y el consumo de fibra alimentaria. Los prebióticos más estudiados en relación al aumento de la absorción del calcio, son la inulina y la oligofructosa. Además de existir estudios en animales, existen estudios en humanos donde se verifican aumentos en la biodisponibilidad del calcio, como también un incremento en la densidad ósea (Abrams *et al.*, 2007). Entre ellos cabe destacar los más recientes encontrados en la bibliografía:

Abrams *et al.* (2005) realizó un trabajo de investigación a lo largo de un año con 100 adolescentes (50 varones y 50 mujeres) de entre 9 y 13 años de edad, donde recibieron 8 g de inulina enriquecida con oligofructosa por día. Se les midió el contenido mineral y la densidad ósea antes y después del año de recibir el prebiótico. La absorción del calcio se midió a las 8 semanas y transcurrido un año. Los resultados fueron un aumento significativo en la absorción del calcio en comparación al grupo control que recibió maltodextrina. Además, el grupo suplementado tuvo un incremento tanto en el contenido mineral óseo corporal (+ 17%; p=0,03), como en la densidad mineral ósea (+ 47%; p=0,01).

Por otro lado, Holloway et al. (2007) realizó un estudio con inulina enriquecida con oligofructosa, pero en este caso con 15 mujeres postmenopáusicas. La ingesta de 10 gramos diarios por seis semanas dio como resultado un aumento significativo de la absorción del calcio y del magnesio, comparándolo con el grupo control que experimentó una disminución en la absorción de estos minerales. También se les midió la hormona paratohormona y la calcitonina, indicando un aumento en la absorción del calcio y de la formación ósea.

Por tanto, los principales efectos beneficiosos que ejerce la inulina en el organismo son:

- Proporciona enriquecimiento de <u>fibra</u>.
- Ayuda a la <u>regularidad intestinal</u>.
- Mejora la <u>absorción de calcio</u> lo que implica mejor <u>salud de los huesos</u>.



- Prebiótico probado.
- Reduce la ingesta de <u>calorías</u>.

1.3.2.2. El propóleo

El propóleo es una sustancia resinosa, producida por las abejas a partir de resinas vegetales (Asís, 1993).

El nombre del propóleo proviene del griego "propolis"; pro "delante" ó "en defensa de", y polis "ciudad", "delante de la ciudad", haciendo mención a la gran importancia que éste desempeña en la protección de la colmena (Boi, 2006). La palabra propolis es utilizada en casi todas las lenguas indoeuropeas. Sin embargo en español es denominado propóleo y propóleos, aunque el más común es el primero (Asís, 2005).

Desde hace miles de años el propóleo ha sido utilizado con fines medicinales (Asís, 2005; Bankova, 2005).

Composición química del propóleo.-

El propóleo contienen una gran variedad de elementos: aminoácidos, vitaminas, minerales, etc. Entre todos estos compuestos destacan los bioflavonoides. El propóleo en estado bruto contiene 500 veces más bioflavonoides que las naranjas, los cuales son considerados hoy en día beneficiosos en estados de convalecencia. No obstante, estudios científicos llevados a cabo por diversos investigadores en todo el mundo han demostrado que el efecto del propóleo se consigue gracias a la acción sinérgica de todos sus componentes. Por su composición y propiedades suele recomendarse en caso de afecciones respiratorias recurrentes o en cualquier situación en la que las defensas del organismo están bajas (González & Bernal, 1997).

En la siguiente tabla (**Tabla 1**) se indican los principales componentes del propóleo de forma general, en porcentajes aproximados (Maidana, 1999)

Características físicas del propóleo.-

El propóleo es un producto (como otros procedentes de la colmena) en el que podemos observar variaciones en su aspecto dependiendo de su procedencia



 floral, del clima y del método de recolección. A continuación (**Tabla 2**) algunas de las propiedades físicas de este producto (Maidana, 1999).

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL Y BR	OMATOLÓGICA DEL PROPÓLEO (%)
Resinas y bálsamos aromáticos	8%
Aceites esenciales y otras sustancias volátiles	15%
Ceras	50%
Sustancias tánicas	10.5%
Impurezas mecánicas	<15%
Polen (sobre el peso de las impurezas mecá nicas)	11%

Tabla 1. Composición nutricional y bromatológica del propóleo

	ASPECTO Y PROPIEDADES FÍSICAS DEL PROPÓLEO
Consistencia	Dependiendo de la temperatura puede pasar de blanda (altas temperaturas) a dura (bajas temperaturas). Su forma es totalmente irregular.
Color	Gran variedad de coloración: negro, marrón, verde, gris, amarillo, rojizo y anaranjado, todos estos con distintas tonalidades e incluso combinados entre ellos. Depende en gran medida de su procedencia.
Olor	Generalmente tiene un olor resinoso muy aromático, pero esta propiedad también está marcada por su procedencia, llegando incluso a ser inodoros aquellos propóleos procedentes de la zona de Bolivia.
Sabor	Inicialmente picante, aunque deja un regusto final bastante amargo.

Tabla 2. Características generales del propóleo



Propiedades y aplicaciones del propóleo.-

Hasta el momento se le han atribuido al propóleo gran cantidad de aplicaciones, sin embargo las investigaciones prosiguen y cada vez son más numerosas las propiedades asociadas a este importante producto (Kujumgiev *et al.*, 1999; Bankova, 2005).

Actualmente el propóleo es bien recibido en el campo de la investigación por su actividad biológica, usado en el campo de la medicina, en agronomía y en la industria. Entre las más propiedades más importantes, destacan:

✓ Propiedades antioxidantes y antiinflamatorias

Repercuten en una menor ocurrencia de trastornos isquémicos, enfermedades cerebro-vasculares, cáncer prostático y de pulmón, diabetes de tipo II y asma (Knekt *et al.*, 2002). Se ha probado frente a enfermedades que afectan al sistema inmune con respuesta inflamatoria, siendo el propóleo un antiinflamatorio natural (Banskota *et al.*, 2000).

✓ Efecto fotoinhibidor

Al contener ácido benzoico, que es un agente bacteriano conocido, y sus derivados oxi y metoxi, actúa como un fuerte inhibidor del desarrollo vegetal. Además, en solución alcohólica tiene una clara acción antifúngica (Rojas *et al.*, 1988).

✓ Propiedades antimicrobianas

Estas propiedades son proporcionadas por los ácidos oxibenzoico, meoxibenzoico, cafeico, ferúlico, los sesquiterpenos y las flavononas. Su máxima acción tiene lugar siempre en disolución alcohólica, en una proporción de 1:10 (Burdock, 1998; Kalogeropoulos *et al.*, 2009).

✓ <u>Actividad antiviral</u>

La capacidad de los extractos de propóleo de contener el desarrollo de formas patógenas de los virus ha sido establecida (Asís, 2005). Se ha demostrado que esto se debe a tres compuestos flavonoides distintos, apígenos, acacetinas y pectolinarígenso, presentes en las yemas de abedul y álamo (Machado *et al.*, 1991).

✓ Estimulación para la reconstrucción de tejidos

Los preparados a base de propóleo aceleran la epitelización y la división celular en la curación de heridas, además de prevenir y detener los procesos inflamatorios.



Esta propiedad se debe en gran parte a la presencia de flavononas glicósidas y de los metoxiflavoides (Hladon *et al.*, 1980).

Según la bibliografía consultada, la dosis diaria recomendada (RDI) de propóleo es de 100 mg para obtener efectos positivos en la salud (Asís, 2005).

1.3.2.3. *La jalea real*

Se trata de un producto de origen endógeno, segregado por las abejas más jóvenes durante sus primeros días de trabajo en la colmena, y cuyo objetivo es alimentar a las larvas de la colmena debido a su naturaleza protéica. Para que puedan producir jalea real, es imprescindible que éstas abejas se hayan alimentado con polen de calidad de distintas procedencias (Fert, 2001).

Este alimento será suministrado a todas las larvas durante sus primeros tres días de vida. En cambio, la abeja reina será alimentada con jalea real durante todo su desarrollo larvario (Broto *et al.*, 1998). La diferencia en el consumo de tan extraordinario alimento hace que tengan un ciclo evolutivo, es decir un desarrollo físico, una capacidad genética y una longevidad claramente diferenciada. La abeja reina tiene una vida de aproximadamente 5 años, mientras que las obreras tienen una esperanza de vida de tan sólo 30 a 45 días.

Composición química de la jalea real.-

La jalea real (**Figura 17**), está formada en un 65,30 % de agua, y en un 34,7 % de residuo seco, del cual, el 48 % está compuesto por proteínas, el 38 % por carbohidratos, un 10 % de lípidos, un 2 % cenizas y el resto formado por otros componentes (vitaminas y aminoácidos libres) (**Tabla 3**).



Figura 17. Muestra de Jalea Real

III

##

ш

II

##



| III

I

I

PORCENTAJE NU	TRICIONAL DE ELEMENTOS PRESENTES E	N JALEA
	ALANINA	1.6%
	VALINA	3.0%
	CLICINA	1.6%
	ISOLEUCINA	3.0%
	LEUCINA	3.0%
	PROLINA	2.0%
	TREONINA	2.9%
	SERINA	3.7%
PROTEINAS	METIONINA	0.5%
	FENILALANINA	2.8%
	ÁC. ASPÁRTICO	8.3%
	ÁC, GLUTÁMICO	4.9%
	TIROSINA	2.9%
	LISINA	3.3%
	ARGININA	3.4%
	TRIPTOFANO	
	TRAZAS%	
CARBOHIDRATOS	Miguel	37.8%
LÍPIDOS	Var Hernánde	10.4%
CENIZAS	7	2.0%
OTROS		1.7%
COMPONENTES		1.770
	A	1.1%
	(mg/100g)	
	D	0.02%
	(mg/100g)	
	E	5.00%
	(mg/100g)	
VITAMINAS	B1	2.06%
	(mg/100g)	
	B2	2.77%
	(mg/100g)	
	B6	11.90%
	(mg/100g)	
	B12	0.15%
	(mg/100g)	
	$(m \sigma/100\sigma)$	

Tabla 3. Composición química general de la jalea real



Los análisis bioquímicos destacan su riqueza en vitaminas C, E, A y vitaminas del grupo B (B1, B2, B6 y B9 o ácido fólico, también llamado vitamina M), lo que hace de la jalea real un producto de gran valor nutricional e idóneo para ser incorporado al turrón a la piedra ya que ningún proceso térmico está asociado a su elaboración y las propiedades de la jalea quedarían intactas.

Propiedades asociadas al consumo de jalea real.-

Debido a la gran variedad de componentes que forman parte de la jalea real, ésta posee una actividad sinérgica que potencia su actividad (Broto *et al.*, 1998). Entre las propiedades y aplicaciones atribuidas a la jalea real destacan:

- Mejora el sistema gastrointestinal y protección de los procesos metabólicos, en parte debido a la acción de las distintas vitaminas y oligoelementos que la contienen.
- Acción basteriostática, debido a su contenido en ácidos orgánicos (10-hidroxicenóico, y 10-hidroxidecaóico), que se encuentran en la fracción lipídica.
- Actúa como acelerador del crecimiento en el caso de subalimentación en niños de corta edad, y aumenta el consumo de oxígeno en los tejidos.
- Disminuye la emotividad
- Aumenta la vitalidad, longevidad y resistencia al frío y a la fatiga, dando una sensación de euforia con recuperación de fuerzas y del apetito.
- Es particularmente activa en la incontinencia de orina.
- Aumenta la tensión de los grandes hipotensos, pero aunque parezca contradictorio, no tiene efectos notables en el caso de los hipertensos.
- Se observa una notable mejoría en el desarrollo mental de los trisómicos.
- Es ampliamente utilizado en el campo de la cosmética, apareciendo en cremas nutritivas, tonificantes, champúes, cremas para después del afeitado, etc. (Del Cueto, 1994).
- En experiencias realizadas con ratones, se a comprobado una importante función como protectora ante la aparición de cáncer; según la experiencia, se inocularon células cancerígenas en 1000 ratas, que murieron a causa de ésta enfermedad, y por otro lado se inocularon células cancerígenas a la vez que se les proporcionaba jalea real o bien por vía oral, o bien inyectada a



otras 1000 ratas, y todas ellas fueron protegidas ante dicha enfermedad, logrando sobrevivir.

- Se ha mostrado una relación positiva entre el consumo de jalea real y la formación de hueso en ratones (Narita et al., 2006).
- Propiedades antioxidantes (Nagai et al., 2001).

El consumo general recomendado de jalea real es de unos 100 mg de producto seco al día, durante un período de 2 meses, con intervalo de descanso de 2 a 3 meses, tras el cual se vuelva a iniciar el tratamiento. No existe una dosis concreta universal, sino que depende de sus distintas aplicaciones (Asís, 2005).

La jalea real es un producto funcional idóneo para incorporar al turrón a la piedra ya que sus numerosas propiedades no se ven afectadas por tratamientos térmicos durante el proceso de elaboración de dicho turrón.









2. OBJETIVOS

El objetivo general de esta Tesis Doctoral es estudiar la posibilidad de adicionar a los turrones protegidos ingredientes que confieran un carácter funcional y cuyas características sensoriales no se vean significativamente alteradas. Por ello mediante una selección adecuada de inulina, jalea y propóleo (en cantidad y composición) se podría obtener turrón con una composición nutricional más favorable para la salud de los consumidores y a la vez más atractivo. Sin embargo, hay que estudiar las características fisicoquímicas ya que pueden repercutir en la aceptabilidad del consumidor. Además de encontrar parámetros de control que ayuden a mejorar la funcionalidad y calidad de estos productos, relacionando sus parámetros de calidad con las operaciones unitarias involucradas en la elaboración de los diferentes turrones. De este modo, se podrá comprobar si se ha realizado un proceso de elaboración esmerado y siguiendo la legislación vigente.

Por todo esto el objetivo principal es:

 Estudiar la posibilidad de incorporar sustancias que aporten un carácter funcional a diferentes tipos de turrones y cuyas características sensoriales no se vean significativamente alteradas. Los ingredientes a estudiar fueron la inulina, el propóleo y jalea real. El consumo de estas sustancias está vinculado con propiedades de alimentos funcionales, es decir además de nutrir aportan unas condiciones que repercuten de forma beneficiosa en la salud del consumidor.

Englobados en este objetivo principal se plantean diversos objetivos específicos:

2. La adición a los distintos turrones de ingredientes funcionales podría ser una forma de exhibir las bondades de este producto como contenidos óptimos de minerales tales como magnesio y potasio, contenidos elevados de ácidos grasos insaturados, tales como oleico y linoleico (composición similar a la del aceite de oliva virgen extra); y bajo contenido de colesterol son mucho mayores que sus desventajas (elevado contenido graso).



- 3. Estudiar las etapas de elaboración más relevantes desde un punto de vista de la calidad de los productos resultantes, realizando perfiles aromáticos y estudiando los parámetros físico-químicos y sensoriales más apropiados de control. Siempre se estudiarán aquellos compuestos y procedimientos que tienen una relación directa con los nuevos ingredientes funcionales.
- 4. Elaborar perfiles aromáticos de los principales tipos de turrón, buscando el origen de cada compuesto (fundamentalmente en los nuevos ingredientes: inulina, propóleo y jalea real) y estudiando su aportación al aroma final del producto.
- 5. Valorar los efectos de la intervención nutricional de turrón de Jijona con inulina sobre indicadores relacionados con el perfil lipídico del consumidor.



MATERIALES Y MÉTODOS





3. MATERIALES Y MÉTODOS

En este apartado se recoge un resumen de los materiales y metodología empleados en los distintos trabajos realizados dentro de esta Tesis Doctoral. La versión completa de éstos se encuentra en las publicaciones incluidas en el capítulo 4.

3.1. COMPOSICIÓN VOLÁTIL DEL TURRÓN "A LA PIEDRA" FUNCIONAL CON PROPÓLEO

3.1.1. Materiales

El turrón a la piedra (ALP) funcional con propóleo fue elaborado por la compañía Pablo Garrigós Ibáñez S.L., localizada en Jijona (Alicante). El propóleo fue adquirido en Mieles Llovel S.L. (Carcer, Valencia).

3.1.2. Umbral de detección del propóleo

La determinación del umbral de detección del propóleo fue clave para la elaboración del turrón ALP funcional. El propóleo se caracteriza por poseer un olor intenso y desagradable por lo que es fundamental determinar la cantidad máxima que se puede añadir sin modificar significativamente el flavor del turrón ALP y que, por tanto, sea detectado por el consumidor y consecuentemente rechazado. La prueba sensorial fue llevada a cabo por un panel compuesto por 25 consumidores habituales los cuales debían identificar diferencias entre una muestra control (sin propóleo añadido) y ocho muestras de turrón ALP con diferentes concentraciones de propóleo (0, 0,040, 0,050, 0,060, 0,080, 0,100, 0,150 y 0,200 %).

Los resultados obtenidos de los análisis sensoriales llevados a cabo por un panel entrenado especializado en turrón, almendras y miel, mostraron que la concentración máxima de propóleo que podía ser añadida al turrón ALP sin modificar significativamente su flavor fue 0,050 %, es decir, 0,125 g por cada barra de 250 g. Se prepararon 200 barras en 4 lotes diferentes (50 barras por lote).



Para la elaboración del turrón ALP funcional se utilizaron los siguientes ingredientes: almendras tostadas (56-60 %), azúcar, raspadura de limón, canela y propóleo (0,050 %). Se prepararon además 50 barras de muestras control sin propóleo.

3.1.3. Procedimiento de extracción-destilación simultánea a vacío

Esta técnica ha sido empleada para cuantificar volátiles presentes en distintas matrices con éxito (Chaintreau, 2001).

Para la extracción de la fracción aromática del turrón ALP con propóleo se introdujo en el matraz A de un destilador Likens-Nickerson (Afora, Barcelona) una suspensión de 30 g de turrón ALP en 75 mL de agua ultrapura (Milli-Q, Millipore Corp., Bedford, MA, USA) y se añadió aproximadamente 10 g de cloruro de sodio (Merck, Darmstadt, Alemania). El NaCl se adicionó para facilitar la extracción de los compuestos volátiles por el disolvente orgánico. Se introdujeron 50 mL de diclorometano, Cl₂CH₂ (Labscon Ltd, Dublín, Irlanda) en el matraz B. Se incorporaron al matraz A perlas de ebullición, diez gotas de silicona como agente antiespumante y 100 µL de 2-pentanol (1 g/L) como patrón interno. El matraz con la disolución acuosa (matraz A) se calentó mediante un baño de aceite hasta 160 °C, mientras que el matraz con el disolvente orgánico se calentó en un baño de agua a 55 °C. Los vapores de los disolventes (agua y diclorometano) se condensaron por medio de un criostato Frigiterm (Selecta, Barcelona) mantenido a -5 °C. Después de 120 minutos de extracción se obtiene el disolvente orgánico conteniendo los compuestos aromáticos de las muestras de turrón ALP (Serra Bonvehi, 2005; Vázquez et al., 2007). El extracto se secó sobre 5 g de sulfato sódico anhidro, Na₂SO₄ (Panreac Química S.A., Barcelona) y se concentró hasta aproximadamente 1 mL en una columna Vigreux.

3.1.4. Cromatografía de gases-espectrometría de masas

Los compuestos volátiles fueron separados, identificados y cuantificados mediante un cromatógrafo de gases Shimadzu GC-17A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón), acoplado con un detector de espectrofotometría de masas Shimadzu GC-MS QP-5050A. El sistema de CG-EM fue equipado con una columna Tracsil Meta.X5 (Tecknokroma, Barcelona) de 30 m de longitud x 0,25 mm de diámetro



interno x 0,25 µm de grosor de film. Se utilizó helio como gas portador a un flujo de 1,0 mL/min en modo split y un cociente 1:10. El programa de temperatura fue: 40 °C durante 5 min, una rampa de 3,0 °C/min hasta alcanzar 200 °C y mantenida durante 1 min y otra rampa de 15 °C/min hasta alcanzar 280 °C y mantenimiento de esta temperatura durante 10 min. Las temperaturas del inyector y del detector fueron de 250 °C y 300 °C, respectivamente. Se inyectó siempre 2 µL del extracto. El espectro de masas fue obtenido por ionización electrónica (EI), con un potencial de ionización de 70 eV y el rango de masas osciló entre 45-450 m/z. La mayoría de los compuestos fueron identificados usando tres métodos analíticos diferentes: (i) índices de Kovats, (ii) tiempos de retenciones patrones auténticos y (iii) espectros de masas de la librería de Wiley.

3.1.5. Evaluación sensorial con panel entrenado

El panel estuvo formado por 10 catadores especializados en turrón y sus materias primas. El análisis sensorial descriptivo (DSA) ha sido eficaz en la comparación de los atributos "olor" y "gusto" en alimentos (Krumbein & Auerswald, 2000; Alasalvar et al., 2003). Las muestras de turrón fueron evaluadas usando el método DSA para determinar el perfil del flavor del turrón ALP (Meilgaard et al., 1999). En primer lugar, los panelistas evaluaron en dos sesiones preliminares seis muestras codificadas de turrón ALP de diferentes compañías. Se identificaron y definieron 14 atributos del flavor. Las pruebas se llevaron a cabo en cabinas individuales con iluminación y temperatura controladas en las instalaciones de la UMH (AENOR, 1997; Meilgaard et al., 1999). Los catadores, basándose en su experiencia, puntuaron la intensidad de los atributos estudiados de muestras individuales de turrón utilizando para ello una línea de 100 mm de longitud cuyos extremos fueron: 0=no intensidad y 100=intensidad muy elevada. Las muestras fueron presentadas a cada catador aleatoriamente, codificadas con tres dígitos aleatorios y por triplicado.

3.1.6. Análisis estadístico

Los resultados experimentales del análisis sensorial descriptivo fueron estudiados estadísticamente empleando el análisis de la varianza (ANOVA) y posteriormente empleando el método de comparaciones múltiples de Tukey para



determinar diferencias significativas entre las muestras. Los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.1 (Manugistics, Inc., Rockville, MD, USA) y los gráficos se realizaron con el programa Sigma Plot 9.0 (SPSS Science, Chicago, IL, USA).

3.2. COMPOSICIÓN VOLÁTIL DEL TURRÓN "A LA PIEDRA" FUNCIONAL CON JALEA REAL

3.2.1. Materiales

El turrón a la piedra funcional con jalea real fue elaborado por la *compañía Pablo Garrigós Ibáñez S.L.*, localizada en Jijona (Alicante). La jalea real fue adquirida en *Mieles Llovel S.L.* Se prepararon 200 barras en 4 lotes diferentes (50 barras por lote). Para la elaboración del turrón ALP funcional se utilizaron los siguientes ingredientes: almendras tostadas (56-60 %), azúcar, raspadura de limón, canela y jalea real (1,00 %). Se prepararon además 50 barras de muestras control sin jalea real.

3.2.2. Umbral de detección de la jalea real

Esta prueba sensorial fue realizada por un panel formado por 40 catadores. Para ello, se prepararon muestras de turrón ALP con ocho concentraciones diferentes de jalea real (0, 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25, 1,50, 1,75 y 2,00 %). Los catadores, consumidores habituales de este producto, debían encontrar diferencias entre la muestra control y las muestras con diferentes concentraciones de jalea real.

3.2.3. Procedimiento de extracción-destilación simultánea a vacío

Para la extracción de la fracción aromática del turrón ALP con jalea real se introdujo en el matraz A de un destilador Likens-Nickerson (Afora, Barcelona) una suspensión de 30 g de turrón ALP en 75 mL de agua ultrapura (Milli-Q, Millipore Corp., Bedford, MA, USA) y se añadió aproximadamente 10 g de cloruro de sodio, NaCl (Merck, Darmstadt, Alemania). Se introdujeron 50 mL de diclorometano, Cl₂CH₂ (Labscon Ltd, Dublín, Irlanda) en el matraz B. Se incorporaron al matraz A perlas de ebullición, diez gotas de silicona como agente antiespumante y 100 μL de



2-pentanol (1 g/L) como patrón interno. El matraz A se calentó en un baño de aceite hasta 160 °C, mientras que el matraz B se calentó en un baño de agua a 55 °C. Los vapores generados se condensaron por medio de un criostato Frigiterm (Selecta, Barcelona) mantenido a -5 °C. Después de 120 minutos de extracción se obtiene el disolvente orgánico conteniendo los compuestos aromáticos de las muestras de turrón ALP (Serra Bonvehi, 2005; Vázquez *et al.*, 2007). El extracto se secó sobre 5 g de sulfato sódico anhidro, Na₂SO₄ (Panreac Química S.A., Barcelona) y se concentró hasta aproximadamente 1 mL en una columna Vigreux.

3.2.4. Cromatografía de gases-espectrometría de masas

Se trabajó con un sistema CG-EM Shimadzu QP-5050A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón) equipado con un autoinyector AOC-20i y una columna Tracsil Meta.X5 (Tecknokroma, Barcelona) de 30 m de longitud x 0,25 mm de diámetro interno x 0,25 μ m de grosor de film. Los datos fueron procesados mediante el software GCMSolution 1.01 (Shimadzu). Las condiciones de trabajo fueron idénticas a las comentadas anteriormente para el turrón ALP con propóleo.

Para la cuantificación de los compuestos volátiles se usó un cromatógrafo de gases Shimadzu 2010 con un detector de ionización de llama (FID). La columna y las condiciones cromatográficas fueron similares a las descritas para el análisis CG-EM. La temperatura del inyector fue de 250 °C y el gas portador fue nitrógeno (1 mL/min). El software usado para procesar los datos fue el GCSolution 2.3 (Shimadzu).

Para la identificación de los compuestos se usaron los índices de Kovats y los tiempos de retenciones Standard auténticos.

3.2.5. Evaluación sensorial con panel entrenado

La metodología empleada para la evaluación sensorial del turrón ALP con jalea real fue exactamente idéntica a la anteriormente descrita para el el turrón ALP con propóleo (punto 3.1.5).



3.2.6. Análisis estadístico

Los resultados experimentales del análisis sensorial descriptivo fueron estudiados estadísticamente empleando el análisis de la varianza (ANOVA) y posteriormente el método de comparaciones múltiples de Tukey para determinar diferencias significativas entre las muestras. Los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.1 (Manugistics, Inc., Rockville, MD, USA) y los gráficos se realizaron con el programa Sigma Plot 9.0 (SPSS Science, Chicago, IL, USA).

3.3. EFECTOS DEL CONSUMO DE TURRÓN ENRIQUECIDO CON INULINA DURANTE 5 SEMANAS SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO DE LOS CONSUMIDORES.

3.3.1. Materiales

Para el presente estudio se elaboraron tres tipos diferentes de turrón de Jijona en la compañía Pablo Garrigós Ibáñez S.L.:

- i. <u>turrón de Jijona tradicional</u> (70 % de almendra tostada, 17 % de miel y 13 % de azúcar),
- ii. <u>turrón de Jijona con inulina</u> (70 % de almendra tostada, 17 % de miel, 8 % de azúcar y 5 % de inulina) y
- iii. <u>turrón de Jijona sin azúcar</u> (66 % de almendra tostada y 34 % de una mezcla de maltitol y sorbitol).

Se elaboraron 500 barras de 250 g por cada tipo de turrón, es decir, un total de 1500 barras.

3.3.2. Análisis físico-químico y microbiológico

Se almacenaron muestras homogéneas de turrón en bolsas de plástico selladas para prevenir alteraciones del contenido graso y la humedad (Abellán *et al.*, 1997). Los análisis físico-químicos y microbiológicos se realizaron por triplicado



y según los métodos oficiales aprobados por el Ministerio de Sanidad y Consumo (1985) y Horwitz (2000).

3.3.3. Determinación del contenido mineral por espectroscopía de absorción-emisión atómica

Para la mineralización de las muestras de turrón se usó un bloque de digestión con control de la temperatura y selector de tiempo Selecta Block Digest 20 (Selecta, Barcelona). Se trataron muestras de turrón de aproximadamente 2 g con 1 mL de peróxido de hidrógeno al 30 % y 3 mL de ácido nítrico al 60 % durante una noche en tubos de Pyrex a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla se calentó a 40 °C durante 30 minutos y en la segunda etapa se calentó a 140 °C durante 120 minutos. Los tubos se dejaron enfriar y la disolución resultante se trasvasó a un matraz aforado de 25 mL, diluyendo hasta este volumen con agua ultra-pura. Finalmente, se prepararon diluciones 1:50 y se almacenaron a 4 °C hasta su análisis (Perez-Lopez *et al.*, 2007).

Los micro-elementos (Fe, Cu, Mn y Zn) se determinaron directamente en las disoluciones obtenidas tras el método de digestión mediante espectroscopía de absorción atómica de llama pero con el uso de tubos STAT (*Slotted Tube Atom Trap*) (Carbonell-Barrachina *et al.*, 2002). Los macro-elementos (Ca, K, Mg y Na) fueron cuantificados en las diluciones 1:50 mediante un espectrómetro de absorción-emisión atómica Unicam Solaar 969 (Unicam Limited, Cambridge, UK). Se realizaron tres repeticiones por cada análisis.

3.3.4. Evaluación sensorial con panel de consumidores

Se reclutaron 50 consumidores habituales de turrón que intervinieron en un estudio afectivo en el que se evaluó: (i) el grado de satisfacción y (ii) su preferencia empleando turrón de Jijona tradicional, turrón de Jijona con inulina y turrón de Jijona sin azúcar. Las pruebas se realizaron en cabinas con iluminación y temperatura controladas, 23 ± 1 °C y 55 ± 5 % de humedad relativa (Meilgaard *et al.*, 1999; AENOR, 1997). Las muestras (\sim 30 g) se presentaron en un plato de plástico previamente codificadas con tres números aleatoriamente.



Inicialmente, se realizó el test de preferencia y posteriormente, se realizó la medición del grado de satisfacción de muestras individuales usando para ello una escala estructurada con 9 puntos: 4 = me gusta mucho, 0 = ni me gusta ni me disgusta y -4 = me disgusta mucho. Las pruebas se realizaron por triplicado.

3.3.5. Perfíl lipídico

Para el estudio del perfil lipídico se reclutaron 32 voluntarios que consumieron cada día 30 g de TJ (grupo 1) ó 30 g de TJI (grupo 2) durante 5 semanas. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad Miguel Hernández. Los criterios de exclusión fueron: colesterol circulante > 215 mg/dL, triglicéridos > 140 mg/dL así como el uso de medicamentos a base de resinas, fibratos o estatinas. Se recogieron datos antropométricos de cada uno de los participantes en el estudio. Se determinaron los parámetros bioquímicos: colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicéridos y hemoglobina glicosilada antes y después del consumo de turrón. Además, se registró la ingesta energética diaria de cada uno de los voluntarios durante estas 5 semanas.

3.3.6. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos básicos se realizaron mediante el paquete estadístico Excel 7.0. Para los resultados obtenidos de la mineralización de las muestras el análisis estadístico empleado en cada ensayo fue la aplicación del análisis de la varianza mediante el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.0 (Manugistics, Inc., Rockville, MD, USA). Finalmente, los datos obtenidos del estudio del perfil lipídico, el índice de masa corporal (IMC) y el consumo de energía se analizaron con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XV (StatPoint Technologies, Inc. Warrington, VA, USA).







4. **PUBLICACIONES**

En este capítulo se exponen los artículos íntegros derivados de la presente tesis así como otras comunicaciones.

Artículos publicados.-

- Narbona, E., García-García, E., Vázquez-Araújo, L. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2010). Volatile composition of functional "a la piedra" turrón with propolis. *International Journal of Food Science and Technology* 45: 569-577.
- ii) García-García, E., Narbona, E., Jurado, P., Burló, F., Roche, E. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2012). Volatile composition of "a la piedra" turrón enriched with royal jelly. *Italian Journal of Food Science* 24: 132-139.
- iii) García-García, E., Narbona, E., Carbonell-Barrachina, A.A., Sánchez-Soriano, J. & Roche, E. (2013). The effect of consumption of inulin enriched Turrón upon blood serum lipids over a 5-week period. *International Journal of Food Science and Technology* 48: 405-411.

Reportaje técnico.-

Narbona, E., Alcaraz, C., García-García, E. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2009). Turrón "a la piedra" funcional. La adición de propóleo es beneficiosa para la salud. *Alimentación, Equipos y Tecnología* 242: 54-57.



International Journal of Food Science & Technology



International Journal of Food Science and Technology 2010, 45, 569-577

569

Original article

Volatile composition of functional 'a la Piedra' turrón with propolis

Elena Narbona, Elena García-García, Laura Vázquez-Araújo & Ángel A. Carbonell-Barrachina **

- 1 Universidad Miguel Hernández, Departamento Tecnología Agroalimentaria, Carretera de Beniel, km 3.2. 03312-Orihuela, Alicante, Spain
- 2 Universidad Miguel Hernández, Instituto de Bioingeniería, Unidad de Fisiología Celular y Nutrición, 03202-Elche, Alicante, Spain
- 3 Ciber de Diabetes y Enfermedades metabólicas (Ciberdem), C/Mallorca, 183.08036-Barcelona, Spain

(Received 4 September 2009; Accepted in revised form 9 December 2009)

Summary

'A la piedra' turrón is the simplest version of turrón and was used as model matrix to add a functional ingredient: bee propolis (0.05%). Propolis possesses antibacterial, antifungal and antiviral properties; however, its flavour is quite intense and not expected in confections. The aroma profiles of control and functional 'a la piedra' (ALP) turrón were studied. A total of fifty-nine compounds were detected, including mainly terpenes (twenty-one), terpenoids (fourteen) and aldehydes (eight). Most of these compounds come from lemon peel (thirty-four out of fifty-nine). However, descriptive sensory analysis proved that other attributes, such as toasted, nutty, cinnamon, sweet and aftertaste, were also of importance. The addition of propolis at the selected ratio did not changed neither the instrumental aroma profile nor the descriptive sensory profile of this confection but will improve its health benefits by incorporating into the consumers' diet 50 mg propolis per 100 g of functional ALP turrón.

Keywords

Almond, cinnamon, descriptive sensory analysis, GC-MS (gas chromatography-mass spectrometry), lemon, volatile compounds.

Introduction

The simplest turrón is called 'a la piedra' (ALP) and its ingredients are: toasted almonds, sugars, lemon scrapes and cinnamon. The manufacturing process of this confection is quite simple. First, the ingredients are added to a stone grinder in suitable proportions. Then, ingredients are grinded until the crystalline texture of sugars disappears. Later, the mass is transferred into refining grinders to reduce the particle size below 50 µm. After the grinding and refining, the mixture is moulded and cinnamon is added on top of the product. Finally, the product is cut, packed and stored until it is distributed in the market, mainly Spanish markets. The main unit operations involved in its processing are grinding and refining while toasted almond is the key ingredient (Vázquez-Araújo et al., 2008). Other types of Spanish turrón, Italian torrone or French nougat involved heating steps and the functional ingredients should be thermo-resistant (Vázquez-Araújo et al., 2006; Vázquez et al., 2007; Verdú et al., 2007). This simple manufacturing process and the fact it does not involve any heating steps makes ALP turrón the perfect matrix to add functional ingredients. In this way, ALP turrón could be used

*Correspondent: Fax: +34 966 749677; e-mail: angel.carbonell@umh.es

as a model to be imitated by other similar confections, such as Spanish turrón, Italian torrone or French nougat.

Compared to the most traditional products, ALP *turrón* is quite similar to Jijona *turrón*, especially in the appearance. The main difference between them is that Jijona *turrón* presents higher levels of cohesiveness, honey aroma and oiliness; on the other hand, ALP *turrón* presents higher values of lemon and cinnamon aromas (Vázquez-Araújo *et al.*, 2008).

Bees exist for more than 125 million years and they are able to live in virtually all habitats (Bankova, 2005). This evolutionary success is mainly due to the specific products that bees manufacture and use for different purposes: honey, beeswax, venom, propolis, pollen and royal jelly. As the most important 'chemical weapon' of bees against pathogenic micro-organisms, propolis has been used as remedy (treatment of wounds and burns, sore throat, etc.) by humans since ancient times (Bankova, 2005). For all these reasons, propolis has become the subject of intense pharmacological and chemical studies for the last 30 years. Its application as functional ingredient in modern foods is based on its positive effects on antibacterial and allergenic activities (Burdock, 1998), anti-inflammatory and hepatoprotective activities (Banskota et al., 2000), antitumor activity (Grunberger et al., 1988) and antioxidant activity (Cuesta Rubio et al., 2002).

doi:10.1111/j.1365-2621.2009.02167.x

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 Institute of Food Science and Technology

Funcionalización de Turrón Protegido: PUBLICACIONES

570 Aroma of functional 'a la piedra' turrón E. Narbona et al.

The fact that ALP turrón is one of the few types of turrón, torrone or nougat manufactured without using honey, is also a perfect justification for using propolis as the first functional ingredient to be added to these Christmas confections. The legal definition of turrón is 'confection made with toasted almonds and honey elaborated in a traditional way'. The Regulating Council of the Specific Denominations of Jijona and Turrón de Alicante (RCSDJTA) is trying to include this type of turrón under its protection; the addition of a bee product, instead of honey, in the original formula of ALP turrón will make easier to include it in the list of protected products.

In the present work, our main objective was to describe qualitatively and quantitatively the aroma composition of ALP *turrón* after addition of bee propolis. Aroma profiles of cinnamon and lemon scraps were also studied. This study is included within a general project in which new products based on *turrón*, *torrone* and/or *nougat* are under study.

Materials and methods

Materials

Functional ALP turrón was prepared at the facilities of the turrón company Pablo Garrigós Ibáñez S.L., located in Jijona (Alicante, Spain). The propolis was purchased from the company Mieles Llovell S.L. (Carcer, Valencia, Spain); this company certified that the marketed product contains at least 95% pure propolis. After preliminary sensory tests carried out by a trained panel specialised in turrón, almonds and honey, it was concluded that the highest concentration of propolis that could be used in ALP turrón without having significant changes on its flavour was 0.05% (0.125 g per each bar of 250 g). Two hundred bars were prepared in four different batches (50 bars per batch). The ingredients composition of the functional ALP turrón was as follows: toasted almonds (56-60%), sugar, lemon peel, cinnamon and propolis (0.05%). Control samples with no propolis addition were also prepared (50 bars).

Threshold of propolis detection

The test objective was to determine the detection threshold (maximum amount needed for detecting the stimulus, in %) of propolis in ALP turrón. A consumer panel of twenty-five panelists was used for this sensory test. ALP turrón with eight different propolis concentration were studied (nil, 0.040%, 0.050%, 0.060%, 0.080%, 0.100%, 0.150% and 0.200%). Panelists were asked to say whether they noticed something different from the initial sample of ALP turrón (control sample with no propolis addition).

Simultaneous steam-distillation extraction

Suspension of 30 g of ALP *turrón* in 75 mL of ultrapure water (Milli-Q, Millipore Corp., Bedford, MA, USA) was placed in flask A of the Likens-Nickerson distillator (Afora, Barcelona, Spain) with 10 g sodium chloride (Merck, Darmstadt, Germany). In flask B, 50 mL of dichloromethane (Labscan Ltd, Dublin, Ireland) were introduced. Boiling chips were added to flask A together with ten drops of silicon as antifoaming agent; 100 μL of 2-pentanol, 1 g L^{-1} , were also added as internal standard. Flask B was heated in a water bath at 55 °C and flask A in an oil heater at 160 °C. The vapours were condensed by means of a cold refrigerant maintained at -5 °C by a cryostat, model Frigiterm (Selecta, Barcelona, Spain). After 120 min of extraction, the organic solvent contained the aroma compounds from ALP turrón samples (Serra Bonvehi, 2005; Vázquez et al., 2007). The extract was dried over 5 g anhydrous sodium sulphate (Panreac Química S.A., Barcelona, Spain) and concentrated to about 1 mL in a Vigreaux column.

GC-MS analytical conditions

The isolation, identification and quantification of the volatile compounds were performed on a gas chromatograph, Shimadzu GC-17A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), coupled with a Shimadzu mass spectrometer detector GC-MS QP-5050A. The GC-MS system was equipped with a column TRACSIL Meta .X5 (polysiloxane containing p-silphenylene) (Teknokroma S. Coop. C. Ltd, Barcelona, Spain; 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 µm film thickness). Analyses were carried out using helium as carrier gas at a flow rate of 1.0 mL min $^{-1}$ in a split ratio of 1:10 and a program: (1) 40 °C for 5 min; (2) rate of 3.0 °C min $^{-1}$ from 40 to 200 °C and hold for 1 min; and (3) rate of 15 °C min $^{-1}$ from 200 to 280 °C and hold for 10 min. Injector and detector were held at 250 °C and 300 °C, respectively. 2 µL of the extracts was always injected.

Mass spectra were obtained by electron ionisation (EI) at 70 eV and spectra range of 45–450 m z⁻¹ was

Tables 1 and 2 show the authentic chemicals used as standards (std), the system of identification of each compound and experimental and literature Kovats indices (KI) for ALP turrón and propolis, respectively. Most of the compounds were identified by using three different analytical methods: (1) KI; (2) GC-MS retention indices (authentic chemicals); and (3) mass spectra (authentic chemicals and Wiley spectral library collection). Identification was considered tentative when it was based on only mass spectral data. For the quantification of the volatile compounds, 2-pentanol was added as internal standard at a concentration of 1 g L⁻¹. All the aroma standards

International Journal of Food Science and Technology 2010

2010 The Authors. Journal compilation © 2010 Institute of Food Science and Technology



Aroma of functional 'a la piedra' turrón E. Narbona et al.

 Table 1 Volatile compounds identified in ALP turrón with their identification method, Kovats indices for the present study and literature values (NIST, 2009) and odour thresholds in water

	Peak	Kovats inc	dex	Concentration (mg kg ⁻¹)		Threshold
Compound		Exp.	Lit.	Control	Functional	(mg L ⁻¹)
1H-Pyrrole	1	769	762	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.02	20 [‡]
Dihydro-2-methyl-3(2H)-furanone*	2	808	804	0.06 ± 0.02	0.08 ± 0.02	
2-Methyl pyrazine*	3	829	825	0.05 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.06‡
2,5-Furandione [†]	4	838		0.04 ± 0.03	0.09 ± 0.03	
Furfural*	5	842	833	0.22 ± 0.05	0.55 ± 0.10	3 [‡]
Heptanal*	6	902	903	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.003⁵
2,5-Dimethyl pyrazine	7	910	926	0.08 ± 0.05	0.18 ± 0.05	1.7‡
α-Thujene	8	927	923	0.95 ± 0.03	0.91 ± 0.10	
α-Pinene*	9	933	933	4.21 ± 0.16	3.96 ± 0.22	0.006⁵
Camphene	10	947	945	0.16 ± 0.02	0.18 ± 0.03	
2-Heptenal	11	957	951	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.013 [§]
Benzaldehyde*	12	959	960	0.34 ± 0.08	0.50 ± 0.02	0.35‡
Sabinene	13	974	973	6.46 ± 0.06	6.39 ± 0.11	
β-Pinene*	14	977	981	36.5 ± 0.9	35.6 ± 1.2	0.14
1-Octen-3-ol*	15	986	982	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.001
6-Methy-5-hepten-2-one	16	988	994	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.05	0.05
Myrcene	17	994	991	3.72 ± 0.05	3.71 ± 0.18	0.015
Octanal*	18	1005	1006	0.72 ± 0.05	0.69 ± 0.03	0.0007
α-Terpinene	19	1018	1014	0.59 ± 0.05	0.48 ± 0.12	
p-Cymene	20	1027	1027	3.55 ± 0.24	4.00 ± 0.14	0.0114 [§]
Limonene*	21	1035	1029	229 ± 4	235 ± 15	1 [§]
Benzyl alcohol*	22	1042	1036	0.67 ± 0.10	0.87 ± 0.05	20 [§]
Phenylacetaldehyde*	23	1045	1050	0.55 ± 0.16	0.82 ± 0.08	0.004
cis-β-Ocimene	24	1052	1051	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.02	
γ-Terpinene	25	1063	1059	36.4 ± 0.4	37.0 ± 0.7	18
cis-Sabinene hydrate	26	1073	1073	0.30 ± 0.03	0.36 ± 0.05	
1-Octanol*	27	1079	1072	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.02	0.19 [§]
Terpinolene	28	1090	1084	1.61 ± 0.01	1.62 ± 0.14	0.15 0.2 [§]
trans-Sabinene hydrate	29	1104	1080	0.33 ± 0.01	0.35 ± 0.03	0.2
Linalool	30	1107	1098	0.51 ± 0.03	0.55 ± 0.07	0.006 [§]
Nonanal*	31	1109	1103	2.11 ± 0.08	2.23 ± 0.15	0.000 [§]
Limonene oxide	32	1142	1139	1.53 ± 0.05	1.63 ± 0.13	0.001
Citronellal	33	1159	1161	0.67 ± 0.02	0.71 ± 0.05	
Terpinen-4-ol	34	1185	1178	0.28 ± 0.01	0.29 ± 0.03	0.13 [§]
α-Terpineol	35	1201	1193	2.07 ± 0.04	2.16 ± 0.11	0.13 0.33 [§]
Decanal*	36	1213	1209	0.43 ± 0.01	0.44 ± 0.05	0.0001 [§]
cis-Cinnamaldehyde*	37	1213	1215	0.43 ± 0.01	0.44 ± 0.05 0.42 ± 0.06	0.0001
trans-Carveol	38	1230	1215	0.32 ± 0.05 0.75 ± 0.09	0.42 ± 0.06	
trans-carveol Nerol*	39	1230	1207	0.75 ± 0.09 0.39 ± 0.02	0.94 ± 0.06 0.38 ± 0.04	
Neroi* Neral	40	1237	1233	0.39 ± 0.02 2.66 ± 0.10	0.38 ± 0.04 2.85 ± 0.18	1§
iveral trans-Geraniol	40	1248	1235	0.37 ± 0.21	2.85 ± 0.18 0.20 ± 0.07	0.04
trans-Geranioi trans-2-Decenal	42	1271	1278	0.09 ± 0.01	0.20 ± 0.07 0.09 ± 0.02	0.004 [§]
						6 [§]
trans-Cinnamaldehyde*	43	1280	1283	19.3 ± 1.1	21.5 ± 0.9	0
(Z,Z)-2,4-Decadienal*	44	1304	1293	0.05 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.00007
(E,E)-2,4-Decadienal*	45	1327	1316	0.34 ± 0.09	0.48 ± 0.07	
Citronellyl acetate	46	1363	1357	0.21 ± 0.01	0.23 ± 0.02	1 [§]
Eugenol*	47	1368	1364	0.28 ± 0.01	0.30 ± 0.05	0.006 [§]
Neryl acetate	48	1373	1365	2.25 ± 0.04	2.32 ± 0.09	2 [§]
α-Copaene	49	1388	1377	0.10 ± 0.02	0.15 ± 0.02	5
Geranyl acetate	50	1392	1382	3.09 ± 0.12	3.27 ± 0.11	0.150 [§]
Tetradecane*	51	1413	1400	0.18 ± 0.01	0.19 ± 0.01	
β-Farnesene	52	1427	1431	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.02	
trans-Caryophyllene	53	1433	1428	1.18 ± 0.03	1.22 ± 0.07	0.064 [§]
α-Bergamotene	54	1448	1446	2.27 ± 0.12	2.52 ± 0.22	
Cinnamyl acetate	55	1457	1441	0.08 ± 0.01	0.10 ± 0.01	

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 Institute of Food Science and Technology

International Journal of Food Science and Technology 2010

Funcionalización de Turrón Protegido: PUBLICACIONES

572 Aroma of functional 'a la piedra' turrón E. Narbona et al.

Table 1 (Continued)

		Kovats inde	ex	Concentration (m	ng kg ⁻¹)	
Compound	Peak	Ехр.	Lit.	Control	Functional	Threshold (mg L ⁻¹)
β-Santalene	56	1474	1476	0.10 ± 0.06	0.21 ± 0.05	
α-Farnesene	57	1499	1500	0.07 ± 0.01	0.10 ± 0.03	
β-Bisabolene [†]	58	1517	1508	0.22 ± 0.01	0.24 ± 0.03	
γ-Bisabolene [†]	59	1524	1525	2.76 ± 0.12	2.99 ± 0.14	

Exp.: Experimental; Lit.: Literature.

Table 2 Volatile compounds identified in propolis with their identification method and Kovats indices for the present study and literature

		Kovats index	Concentration		
Compound	Peak	Experimental	Literature		
3-Methyl-3-buten-1-ol	1	757	734	24.7	
3-Methyl-2-buten-1-ol	2	787	779	57.1	
Furfural [†]	3	830	829	4.97	
2-Methyl butanoic acid	4	909	873	32.5	
5,5-Dimethyl-2(5H)- furanone	5	951	946	12.3	
Benzaldehyde [†]	6	957	960	33.6	
2-Methyl butenoic acid [†]	7	1003		64.8	
Hexanoic acid [†]	8	1030	1036	12.3	
Benzyl alcohol [†]	9	1047	1039	601	
Acetophenone	10	1065	1062	8.64	
Phenethyl alcohol [†]	11	1120	1118	194	
Nopinone	12	1137	1138	32.5	
trans-Pinocarveol	13	1144	1139	184	
Pinocarvone	14	1162	1161	41.0	
Terpinen-4-ol [†]	15	1181	1178	43.4	
Myrtenal [†]	16	1196	1192	75.9	
Myrtenol [†]	17	1202	1198	87.2	
Verbenone [†]	18	1211	1208	76.0	
Carveol	19	1222	1207	13.3	
Carvone	20	1243	1242	15.0	
Cinnamic aldehyde [†]	21	1270	1283	6.34	
Cinnamic alcohol	22	1309	1312	23.4	
Ethyl hydrocinnamate	23	1348	1351	14.6	
Ethyl cinnamate	24	1465	1469	2.34	
β-lonone [†]	25	1484	1422	0.36	
Total				1694	

¹Both Kovats indexes and retention times of authentic standards were used for identification besides the general comparison of experimental mass spectra to spectra of authentic standards and Wiley library.

Tentatively identified.

used for identification and quantification purposes were food grade (Sigma-Aldrich, Flavours and Fragrances, Milwaukee, WI, USA).

Sensory evaluation with trained panel

A panel of ten panellists, ages 20–60 years (six female and four male) was trained in descriptive evaluation of *turrón* and its main raw materials almonds and honey. Details about panel selection and training could be found in Vázquez-Araújo *et al.* (2005).

Descriptive sensory analysis (DSA) has been successfully used for comparing odour and taste attributes in foods and their products (Krumbein & Auerswald, 2000; Alasalvar et al., 2003). Turrón samples were assessed using a flavour profile method (Meilgaard et al., 1999). Prior to DSA, panellists discussed the flavour properties of ALP turrón during two preliminary orientation sessions, each lasting 90 min, until they had agreed on their use of flavour attributes. During these orientation experiments, panellists evaluated six different coded samples of ALP turrón from different manufacturing companies. Fourteen flavour attributes were identified and standards were made available for panellists. DSA was performed for the fourteen flavour attributes listed in Table 3.

Measurements were performed in individual booths with controlled illumination (70–90 fc) and temperature (23 \pm 2 °C) (AENOR, 1997; Meilgaard *et al.*, 1999). Individual *turrón* samples were scored for the intensity of the studied attributes using a 100 mm-long line with line anchors of: 0 = no intensity and 100 = very intense. Panellists relied on their training experience to score products. Samples were presented randomly to each panellist (coded with a three-digit random number) to evaluate (samples were evaluated in triplicate).

Statistical analysis

For each of the above-mentioned analyses at least three replications were carried out. The \pm values represent the SE of the measurements. Data from the DSA experiments were subjected to analysis of variance

International Journal of Food Science and Technology 2010

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 Institute of Food Science and Technology

^{*}Both Kovats indices and retention times of authentic standards were used for identification besides the general comparison of experimental mass spectra to spectra of authentic standards and Wiley library.

[†]Tentatively identified.

[‡]Serra Bonvehi (2005). [§]Pino & Mesa (2006).

¹Buttery et al. (1999).

Table 3 Flavour attributes selected for DSA

Attribute	Characteristics
Acid	Taste associated with citric acid
Aftertaste	Remaining desirable and delicate flavour after swallowing
Astringent	Causing contraction of mouth tissues
Bitter	Taste associated with caffeine
Burnt	Smell of grilled meat, burnt smell
Cinnamon	Aroma and flavour of cinnamon
Lemon	Aroma and flavour of lemon
Nutty	Delicate, characteristics flavour of tree nut products
Oily	Oily taste or mouthfeel
Pungent	Burning or stinging sensation
Rancid	Associated with old or oxidised fat
Sweet	Taste associated with sugar
Toasted	Flavour of toasted nuts
Woody	Odour of almond hard shell

(ANOVA) and the Tukey's least significant difference multi-comparison test to determine significant differences among samples. Statistical analyses were done using Statgraphics Plus 5.1 software (Manugistics, Inc., Rockville, MD, USA) and graphics using Sigma Plot 9.0 (SPSS Science, Chicago, IL, USA).

Results and discussion

Detection threshold

Duo to the peculiar and unpleasant odour of propolis it was of great importance to determine its detection threshold. Data depicted in Fig. 1 showed that the detection threshold of propolis (the lowest stimulus

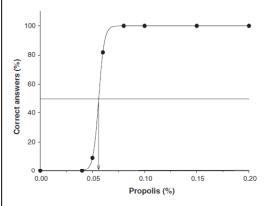


Figure 1 Determination of the detection threshold for propolis in ALP

capable of producing a sensation) was approximately 0.055%; at this concentration 50% of the consumers included in the panel were able to detect a significant difference from the control sample. Consequently, a final concentration of 0.050% was chosen for addition to ALP turrón.

Biological activity

Propolis antioxidant, antibacterial and antifungal properties, combined with the fact that several of its constituents are present in food and/or food additives and are recognised as 'Generally Recognised as Safe' (GRAS), make it an attractive candidate as a natural preservative in new food applications. This meets the demand for natural antioxidants and antimicrobials, fuelled by the increasing consumer awareness for natural, minimally processed foods with traditional preservatives absent or at very low concentrations (Burdock, 1998; Kalogeropoulos et al., 2009). Besides, propolis has proved to have higher antioxidative activities than some other bee products such as royal jelly and honey (Nagai et al., 2001).

The functional ALP *turrón* studied here will provide consumers with 50 mg of propolis per each 100 g of product. According to the scientific literature a minimum of 100 mg is the recommended daily intake (RDI) of propolis to have positive effects on health (Asís, 1996). A daily consumption of 100 g of turrón during Christmas time is normal and will represent 50% of the RDI. Higher consumptions are not recommended due to the nutritional profile of turrón, high in fats and simple sugars.

As a summary, ALP turrón with propolis will be of superior quality (according to its biological activity) than the traditional ALP product and that other types of turrón, such as Jijona or Alicante, because propolis has proved higher biological activity than honey.

Volatile compounds

Total concentrations of volatile chemicals in control and functional ALP $turr\acute{o}n$ samples were 373 \pm 7 and 383 \pm 14 mg kg⁻¹, respectively. From data in Table 1 it seems that the addition of propolis at a concentration of 0.05% slightly increased the concentrations of volatiles but in a non-significant way.

According to the composition of ALP turrón its ingredients can be ordered as follows: toasted almonds > sugar > lemon peel > cinnamon > propolis. However, the order of the concentration of total volatiles from the different raw materials was quite different: lemon peel > cinnamon > propolis > toasted almonds \approx sugars. Total concentrations of the raw ingredients not studied until this study were: lemon peel $(15135 \pm 176 \text{ mg} \text{ kg}^{-1})$, cinnamon $(8220 \pm 41 \text{ mg})$

2010 The Authors, Journal compilation © 2010 Institute of Food Science and Technology

International Journal of Food Science and Technology 2010



kg⁻¹) and propolis (1694 \pm 85 mg kg⁻¹). The concentrations of total volatiles in sugar matrix and toasted almonds were previously established by Vázquez *et al.* (2007) and Vázquez-Araújo *et al.* (2008) and were 174 mg kg⁻¹ (for sugars at the end of the concentration step of honey, sugars and water) and 228 mg kg⁻¹ (mean value of almonds from three different cultivars: *Marcona, Comuna* and *California*), respectively.

Therefore, the first conclusion from this study was that ALP *turrón* was more aromatic than Alicante and Jijona *turrón* mainly due to the lemon peel and cinnamon used in its formulation.

Before starting to discuss the volatile composition of the studied samples it is important to recall that volatile compounds were quantified using steam-distillation extraction (SDE). Because of high recoveries allied with low variability, SDE has often been used to quantify volatiles present in various matrices (Chaintreau, 2001). The main drawback of this technique is the formation of artefacts, especially hydrolysis reactions leading to sugar degradation products such as furfural. This technique appeared especially fruitful when working with lipid

matrices, such as almond samples. It should be mentioned that extremely water-soluble compounds (e.g. 2,3-butanediol) have low volatilities and will be poorly SDE-isolated (Bouseta & Collin, 1995; Chaintreau, 2001)

A typical gas chromatogram of an extract from ALP *turrón* is shown in Fig. 2 together with the chromatogram of a propolis sample.

Twenty-five volatile compounds were found and tentatively identified in propolis extract (Table 2). The main compounds were benzyl alcohol, phenethyl alcohol, trans-pinocarveol and myrtenol, which represented 35.0%, 11.3%, 10.8% and 5.1% of the total concentration of volatile compounds, respectively.

The main compounds identified in the lemon peel were limonene (7890 mg kg⁻¹), γ -terpinene (2342 mg kg⁻¹), β -pinene (1220 mg kg⁻¹), α -terpineol (464 mg kg⁻¹), geranial (408 mg kg⁻¹), neryl acetate (301 mg kg⁻¹), neral (291 mg kg⁻¹) and geranyl acetate (202 mg kg⁻¹). These compounds have already been described in lemon products by different researchers (Allegrone *et al.*, 2006).

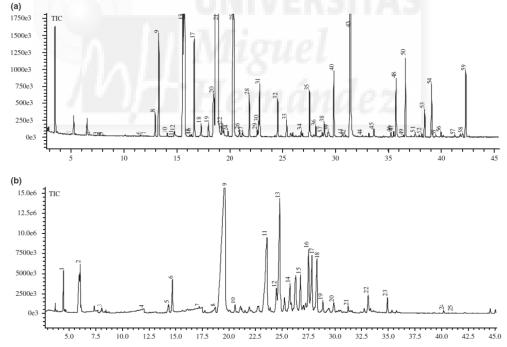


Figure 2 Typical gas chromatogram of an extract from functional ALP turrón (a: peak number from Table 1) and propolis (b: peak number from Table 2).

International Journal of Food Science and Technology 2010

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 Institute of Food Science and Technology



trans-Cinnamaldehyde was the main compound in cinnamon (7456 mg kg⁻¹) and represented almost 91% of the total concentration of volatile compounds in this raw material. Other important compounds identified in cinnamon were cinnamyl acetate (199 mg kg⁻¹), eugenol (152 mg kg⁻¹), linalool (74.8 mg kg⁻¹), cis-cinnamaldehyde (62.5 mg kg⁻¹), α-terpineol (60.6 mg kg⁻¹) and terpinen-4-ol (45.0 mg kg⁻¹). These same compounds were found by Kaul et al. (2003) in their studies of essential oils isolated from different parts of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum Blume) from India and Sri Lanka; however, they reported different concentrations and concluded that all the oils contained linalool (3.6–27.4%), (E)-cinnamyl acetate (22.0–64.5%), and β-caryophyllene (6.9–11.1% as the major compounds.

A total of fifty-nine compounds were identified in both control and functional ALP turrón. Table 1 shows the compounds identified in extracts obtained from ALP turrón samples with their experimental and literature Kovats on a TRACSIL Meta .X5 column (equivalent to a DB5 column) and their odour thresholds. The experimentally found volatile compounds can be grouped in eleven chemical families: monoterpenoids, monoterpenes, sesquiterpenes, aldehydes, aromatic hydrocarbons, furans, pyrazines, alcohols, pyrrols, ketones and linear hydrocarbons.

While pyrazines, furans, pyrroles, aromatic hydrocarbons have been previously identified as key compounds in toasted almonds and nuts (Alasalvar *et al.*, 2003; Vázquez-Araújo *et al.*, 2008), monoterpenes, monoterpenoids and sesquiterpenes are without any doubt originated by the lemon peels and have been previously found in citrus products (Umano *et al.*, 2002; Buettner *et al.*, 2003; Dugo *et al.*, 2003; Pérez-López & Carbonell-Barrachina, 2006).

The concentrations of these compounds in ALP *turrón* samples are shown in Table 1. As can be seen monoterpenes, monoterpenoids, sesquiterpenes, aromatic hydrocarbons (benzene compounds) and aldehydes were the predominant chemical groups. Volatile compounds from the first three chemical groups come from the addition of lemon peel to this confection, while benzene compounds and aldehydes come from the addition of almond and/or cinnamon.

The ten most abundant aroma compounds found in propolis were: (1) benzyl alcohol (601 mg kg⁻¹; 35.0% of total volatiles), (2) phenethyl alcohol (194 mg kg⁻¹; 11.3%), (3) *trans*-pinocarveol (184 mg kg⁻¹; 10.7%), (4) 3-methyl-2-buten-1-ol (95.4 mg kg⁻¹; 5.6%), (5) myrtenol (87.2 mg kg⁻¹; 5.1%), (6) verbenone (76.0 mg kg⁻¹; 4.4%), (7) myrtenal (75.9 mg kg⁻¹; 4.4%), (8) 2-methyl butenoic acid (64.8 mg kg⁻¹; 3.8%), (9) terpinen-4-ol (43.4 mg kg⁻¹; 2.5%), and (10) pinocarvone (41.0 mg kg⁻¹; 2.4%). From a total of thirty-three volatile compounds found in bee propolis only few compounds were finally identified in the functional ALP *turrón*;

these compounds were: benzyl alcohol, benzaldehyde, cinnamaldehyde and furfural. However and due to the low concentration of propolis added to the ALP *turrón* matrix (to avoid its intense aromatic notes), the only compound which concentration was significantly increased was benzyl alcohol. A theoretical increase of 0.3 mg benzyl alcohol kg⁻¹ ALP *turrón* was expected considering the concentration of benzyl alcohol (601 mg kg⁻¹) and the ratio of propolis added to the *turrón* matrix (0.05%). In fact, the experimentally found difference found for benzyl alcohol was of 0.2 mg kg⁻¹.

The major group of chemicals found in control and functional ALP turrón extracts was monoterpenes (with twelve hydrocarbons present), which comprised 86.8% and 85.9% of the concentration of total volatiles, respectively. A large amount of limonene (229 and 235 mg kg⁻¹) composed 61.4% of both control and functional ALP turrón. γ-Terpinene, β-pinene, sabinene and α-pinene were the following most abundant monoterpenes found in ALP turrón samples. Even though limonene was more abundant than other monoterpenes and because of its high odour threshold (1 mg L^{-1}) some other chemicals, such as α -pinene will play a more important role in the final flavour of this product due to its very low odour threshold (0.006 mg L^{-1}). In this way, the odour units (concentration per threshold) of apinene and limonene were 681 (mean of both ALP turrón samples) and 232, respectively, showing the relatively low importance of limonene to ALP turrón flavour. In fact, β-pinene also showed higher odour units than limonene, with a mean value of 261.

On the other hand, the chemical group with the highest number of chemicals was monoterpenoids (fourteen). Within this group, the most abundant compounds were geranyl acetate, neral, neryl acetate, \(\alpha\)-terpineol and limonene oxide. Geranyl acetate besides having the highest concentrations also had the lowest codour threshold; thus, it was the most important compound within this family, contributing to the final odour of ALP turrón with 529 odour units (mean of both ALP turrón samples).

The less important chemical group coming from the lemon peel was sesquiterpenes, representing only about 1.9% of the concentration of total volatiles. This group had eight compounds, with γ -bisabolene and β -bergamotene being the most abundant ones.

Eight aldehydes (heptanal, 2-heptenal, etc.) were found in ALP *turrón*. It has been previously reported that concentrations of several aldehydes increased significantly upon roasting and could play a significant role in the aroma of toasted almonds due to both their high concentrations and low odour thresholds (Vázquez *et al.*, 2007; Vázquez-Araújo *et al.*, 2008). This situation could also be true for ALP *turrón* especially because of the low odour thresholds. The mean odour units of the most important aldehydes found in both types of ALP

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 Institute of Food Science and Technology

International Journal of Food Science and Technology 2010

turrón under study were: 6929 for 2,4-decadienal, 4350 for decanal, 2170 for nonanal and 1007 for octanal.

Seven aromatic hydrocarbons were detected in ALP turrón (benzaldehyde, benzyl alcohol, cinnamaldehyde etc.). The predominant aromatic hydrocarbon was cinnamaldehyde and it originated from both cinnamon and propolis. The addition of propolis to the control ALP turrón resulted in a significantly higher concentration of benzyl alcohol, the most abundant compound in propolis (35% of total volatiles). However and due to its high odour threshold (20 mg kg⁻¹), its importance is insignificant for the final aroma of ALP turrón. The contribution of phenylacetaldehyde to the final aroma of ALP turrón could be of importance due to its low odour threshold (0.004 mg kg⁻¹) (Table 1), resulting in a mean of 171 odour units. Aromatic hydrocarbons have been reported in both natural and toasted hazelnuts and toasted almonds and cinnamon (Kaul et al., 2003; Vázquez et al., 2007; Vázquez-Araújo et al., 2008).

Only two pyrazines were detected in control and functional ALP *turrón*, and their concentrations were relatively low, proving the low toasting level of the almonds used for this type of *turrón*. This could be the reason why other intense aromatic ingredients, such as cinnamon and lemon scraps, are added in the formulation of this confection.

In general, furans normally contribute to the caramellike odour of heated carbohydrates (Sunthonvit *et al.*, 2005); however, low concentrations of the three furans found in this confection proved their low importance to the final odour or aroma of ALP *turrón*. Similar conclusion could be reached for the following families: pyrroles, ketones, alcohols, linear hydrocarbons, with only one or two compounds each and relatively low concentrations.

Finally and considering just the number of chemicals, it can be stated that thirty-four compounds out of a total of fifty-nine (57.6%) came from the lemon peel, thirteen (22.0%) from toasted almonds, seven (11.9%) came from both lemon peel and toasted almonds, and four (6.8%) from cinnamon. However, if concentrations of total volatiles are considered, the above-mentioned percentages changed significantly: 62.4% (mean of both ALP turrón types under study) had a common origin lemon peel and toasted almonds, 30.7% came only from lemon peel, 5.8% from cinnamon, and 1.07% from toasted almonds. These changes were due to the high concentrations of compounds coming from the lemon peel; however, it must be mentioned that their role in the global flavour of ALP turrón was drastically restricted by their relatively high odour thresholds.

Sensory evaluation

The aroma of propolis could be defined as having high intensities of the following aromatic notes: camphora-

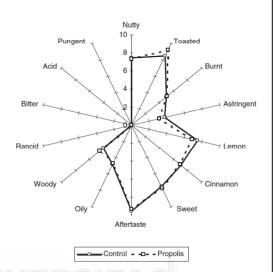


Figure 3 DSA of flavour attributes in control and functional ALP turrón.

ceous, minty, spicy, woody, earthy and balsamic. Besides, some of the most abundant compounds in propolis have a sharp burning taste, for instance benzyl alcohol. Therefore, it was quite important that after the addition of propolis, the sensory profile of ALP turrón was not significantly affected because most of the above-describe notes are not expected in a confection.

Intensities for a number of flavour attributes (nutty, toasted, burnt, astringent, lemon, cinnamon, sweet, aftertaste, oily and woody) were not significantly different (P > 0.05) (Fig. 3) in control and functional ALP turrón samples. Contributions of 'rancid', 'bitter', 'acid' and 'pungent' attributes to the overall flavour of ALP turrón were negligible due to the freshness of the raw materials (toasted almonds, cinnamon, lemon scraps and propolis); however, these defects especially 'rancid' and 'pungent' flavour attributes may develop during storage.

Conclusions

Propolis was added at the maximum concentration possible without changing the main sensory properties as perceived by a trained panel; this concentration was determined at 0.05%. A total of fifty-nine compounds were detected in both control and functional ALP turrón; these included monoterpenes, sesquiterpenes, monoterpenoids, pyrazines, furans, pyrroles, aldehydes and aromatic hydrocarbons. The main chemical groups, terpenes and terpenoids, originated from the lemon peel and their total concentration represented more than

International Journal of Food Science and Technology 2010

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 Institute of Food Science and Technology

90% of the total volatile compounds experimentally detected. However, other compounds could also play an important role in the final aroma of ALP turrón due to their low odour thresholds, e.g. aldehydes. Descriptive sensory analysis proved that the main attributes characterising this confection were lemon, toasted, nutty, sweet, cinnamon and aftertaste. Both sensory and instrumental analyses of ALP turrón demonstrated the predominant role of lemon compounds in its global aroma. The addition of bee propolis to ALP turrón did not change the instrumental aroma profile or the sensory properties of this type of confection and will contribute with 50 mg per 100 g of ALP turrón ingested.

References

- AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación) (1997). Sensory Analysis. UNE Standards (in Spanish). Madrid, Spain: AENOR.
- Alasalvar, C., Shahidi, F. & Cadwallader, K.R. (2003). Comparison of natural and roasted Turkish tombul hazelnut (Corylus avellana L.) volatiles and flavor by DHA/GC/MS and descriptive sensory analysis. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 51, 5067-5072
- Allegrone, G., Belliardo, F. & Cabella, P. (2006). Comparison of volatile concentrations in hand-squeezed jueces of four different lemon varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **54**,
- Asís, M. (1996). Propolis: The Purple Gold of Bees (in Spanish).
- Habana (Cuba): Editorial CIDA.
 Bankova, V. (2005). Review: recent trends and important developments in propolis research. eCAM, 2, 29–32.
 Banskota, A.H., Tezuka, Y. & Kadota, Sh. (2000). Recent progress in
- pharmacological research of propolis. Phytotherapy Research, 15, 561-571.
- Bouseta, A. & Collin, S. (1995). Optimized Likens-Nickerson methodology for quantifying honey flavors. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 43, 1890-1897.
- Buettner, A., Mestres, M., Fischer, A., Guasch, J. & Schieberle, P. (2003). Evaluation of the most odour-active compounds in the peel oil of clementines (Citrus reticulata Blanco cv. clementine). European Food Research and Technology, 216, 11–14.
- Burdock, G.A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). Food and Chemical Toxicology, 36, 347-
- 303.
 Buttery, R.G., Orts, W.J., Takeoka, G.R. & Nam, Y. (1999). Volatile flavor components of rice cakes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 4353–4356.
 Chaintreau, A. (2001). Simultaneous distillation-extraction: from birth
- Chaintreau, A. (2001). Simultaneous distillation-extraction: from birth to maturity review. Flavour and Fragrance Journal, 16, 136–148.
 Cuesta Rubio, O., Fontana-Uriba, B.A., Ramirez-Apan, T. & Cardenas, J. (2002). Polyisoprenylated benzophenones in Cuban propolis; biological activity of nemorosone. Zeitschrift für Naturforschung C, 57, 372–378.
 Dugo, G., Cotroneo, A., Verzera, A. & Bonaccorsi, I. (2003). Composition of the volatile fraction of cold-pressed citrus peel oils. In: Citrus. The Genus Citrus (edited by G. Dugo & A. Di Giacomo).
 Pp. 201–317 London: Taylor & Francis
- Pp. 201-317. London: Taylor & Francis.

- Grunberger, D., Banerjee, R., Eisinger, K. et al. (1988). Preferential
- Grunberger, D., Banerjee, R., Eisniger, R. et al. (1988). Freterintal cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. Experientia, 44, 230–232.

 Kalogeropoulos, N., Konteles, S., Troullidou, E., Mourtzinos, I. & Karathanos, V.T. (2009). Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece
- and Cyprus. Food Chemistry, 116, 452–461.

 Kaul, P.N., Bhattacharya, A.K., Rajeswara Rao, B.R., Syamasundar, K.V. & Ramesh, S. (2003). Volatile constituents of essential oils isolated from different parts of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum Blume). Journal of the Science of Food and Agriculture, 83, 53–55.

 Krumbein, A. & Auerswald, H. (2000). Aroma volatiles in tomato varieties-instrumental, sniffing and quantitative descriptive analysis. In: Frontiers of Flavour Science (edited by P. Schieberle & K.H. Engel). Pp. 51–55. Garching, Germany: Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie.
- für Lebensmittelchemie. Meilgaard, M., Civille, G.V. & Carr, B.T. (1999). Sensory Evaluation
- Medigard, M., Civilie, G.V. & Carr, B.1. (1999). Sensory Evaluation Techniques, 3rd edn. Boca Raton, FL: CRC Press.

 Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H. & Suzuki, N. (2001).

 Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. Food Chemistry, 75, 237–240.
- NIST (National Institute of Standards and Technology). (2009). http://
- webbook.nist.gov/chemistry/name-ser.html (accessed on July 2009). Pérez-López, A.J. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2006). Volatile odour components and sensory quality of fresh and processed mandarin juices. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86, 2404-2411
- Pino, J.A. & Mesa, J. (2006). Contribution of volatile compounds to mango (Mangifera indica L.) aroma. Flavour and Fragrance Journal, 21, 207-213.
- Serra Bonvehi, J. (2005). Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. European Food Research and Technology, 221, 19–29.
- Sunthonvit, N., Srzednicki, G. & Craske, J. (2005). Effects of hightemperature drying on the flavor components in Thai fragrant rice. *Drying Technology*, 23, 1407–1418.
 Umano, K., Hagi, Y. & Shibamoto, T. (2002). Volatile chemicals
- identified in extracts from newly hybrid citrus, Dekopon (Shiranuhi mandarin). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(Suppl. J), 5355-5359.
- Vázquez, L., Verdú, A., Miquel, A., Burló, F. & Carbonell-Barrachi-na, A.A. (2007). Changes in physico-chemical properties, hydroxymethylfurfural and volatile compounds during concentration of honey and sugars in Alicante and Jijona turron. European Food
- Research and Technology, 225, 757–767.
 Vázquez-Araújo, L., Pérez-Castejón, V., Verdú, A. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2005). Reclutamiento, selección, entrenamiento y validación de un panel de catadores especializado en turrón y sus materias primas. Alimentación Equipos Tecnología, 10, 92-98
- Vázquez-Araújo, L., Verdú, A., Murcia, R., Burló, F. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2006). Instrumental texture of a typical Spanish confectionery product Xixona turrón as affected by commercial category and manufacturing company. Journal of Texture Studies, 37, 63-79.
- Vázquez-Araújo, L., Enguix, L., Verdú, A., García-García, E. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2008). Investigation of aromatic compounds in toasted almonds used for the manufacturing of turrón. European Food Research and Technology, 227, 243–254.
- Verdú, A., Vázquez-Araújo, L. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2007). Mathematical quantification of almond content in Jijona turrón. European Food Research and Technology, 226, 301–306.

© 2010 The Authors. Journal compilation © 2010 Institute of Food Science and Technology

International Journal of Food Science and Technology 2010



PAPER

VOLATILE COMPOSITION OF "A LA PIEDRA" TURRÓN ENRICHED WITH ROYAL JELLY

E. GARCÍA-GARCÍA¹, E. NARBONA², P. JURADO², F. BURLÓ², E. ROCHE³ and Á.A. CARBONELL-BARRACHINA^{2,*}

¹Universidad Miguel Hernández, Instituto de Bioingeniería, Unidad de Fisiología Celular y Nutrición, 03202 Elche, Alicante, España ²Universidad Miguel Hernández, Departamento Tecnología Agroalimentaria, Carretera de Beniel, km 3.2. 03312 Orihuela, Alicante, España ³Universidad Miguel Hernández, Instituto de Bioingeniería, Unidad de Bioquímica y Terapia Celular, 03202 Elche, Alicante, España *Corresponding author: angel.carbonell@umh.es

ABSTRACT

"A la piedra" (ALP) turrón was used as model matrix to add a functional ingredient: royal jelly (RJ, 1.0%). The aroma profiles of control and RJ enriched ALP turrón were studied; 58 compounds were found (21 terpenes, 14 terpenoids, and 8 aldehydes), most of them coming from lemon peel. The attributes toasted, nutty and cinnamon were also of importance. The addition of RJ did not change the aroma profile and only slightly the sensory profile of this confection but will improve its health benefits by incorporating in the consumers' diet 500 mg RJ per 50 g of RJ enriched ALP turrón.

- Keywords: almond, descriptive sensory analysis, GC-MS, lemon, nougat, torrone -

Ital. J. Food Sci., vol. 24 - 2012 1



INTRODUCTION

The main ingredients of "a la piedra" (ALP) turrón are toasted almonds, sugars, lemon peel and cinnamon; it is a typical Christmas confection. This product can be considered the simplest version of turrón because only grinding and refining operations are involved in its manufacture (VÁZQUEZ-ARAÚJO et al., 2008). First, the ingredients are added into a stone grinder and are ground until the crystalline texture of sugars disappears. Next, the mass is placed in refining grinders in order to reduce the particle size below 50 μm. Later, the mixture is moulded and cinnamon is added on top of the product. Finally, the product is cut, packed, and stored until it is distributed in the market, mainly Spanish markets. Other types of Christmas confections, such as Spanish Jijona and Alicante turrón, Italian torrone or French nougat involve heating steps and the functional ingredients should be thermo-resistant (VÁZQUEZ-ARAÚJO et al., 2006; VÁZQUEZ et al., 2007; VERDÚ et al., 2007). This simple manufacturing process and the fact that it does not involve any heating steps makes ALP turrón the perfect matrix to add functional ingredients. In this way, ALP turrón can be used as a model to imitate other similar confections, such as turrón, torrone or nougat.

Unusual ingredients in *turrón* manufacturing, such as cinnamon and lemon peel, are included in the formulation of ALP *turrón* because no honey is used and because the full flavor potential of toasted almonds is not built up due to the absence of thermal treatments (VÁZQUEZ-ARAÚ-JO *et al.*, 2008). The addition of a bee product, such as royal jelly, to ALP *turrón* could be useful to include this type of confection in the list of products under the Protected Geographical Indication (PGI) "Jijona y Turrón de Alicante" because turrón is defined as "confection made with toasted almonds and honey produced in a traditional way".

Bees are known to exist for more than 125 million years and they are able to live in virtually all habitats on Earth (BANKOVA, 2005). This evolutionary success is mainly due to specific products that bees manufacture and use for different purposes: honey, royal jelly, pollen, propolis, beeswax and venom. Royal jelly (RJ) is the main food for the honeybee queen; it is a yellowish, creamy, and acidic material with a slightly pungent odour and taste. RJ possesses several pharmacological activities, such as life-spanelongating, antifatigue, antiallergic, antitumor, antihypercholesterolemic, antihypertensive and anti-inflammatory effects (MELLIOU and CHINOU, 2005). These effects are related to its chemical composition, including proteins, sugars, vitamins and bioactive substances such as trans-10-hydroxy-2-decenoic acid. In fact, RJ has been used worldwide as commercial medical products, health foods and cosmetics.

The main objective of this study was to describe qualitatively and quantitatively the volatile composition of ALP *turrón* enriched with royal jelly. Aroma profiles of royal jelly, cinnamon and lemon peel were also studied. This study is included within a general project in which new products based on *turrón* are being designed and developed.

MATERIAL AND METHODS

Materials

Functional "a la piedra" (ALP) turrón was prepared at the facilities of the turrón company Pablo Garrigós Ibáñez S.L., located in Jijona (Alicante, Spain). Royal jelly was purchased from the Mieles Llovell S.L. (Carcer, Valencia, Spain). Two hundred bars of ALP turrón enriched with RJ were prepared in four different batches (50 bars batch-1). The ingredients composition of the functional ALP turrón was as follows: toasted almonds (56-60%), sugar, lemon peel, cinnamon, and propolis (1.00%). The control samples (50 bars) did not contain any RJ.

Threshold of royal jelly detection

The objective of the study was to determine the detection threshold (maximum amount needed for detecting the stimulus, in %) of RJ in ALP turrón. A consumer panel of 40 panellists (regular consumers of turrón during Christmas time) was used for this sensory test. ALP turrón with eight royal jelly concentrations was studied (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 1.75 and 2.00%). The panellists were asked to say whether they noticed something different from the initial sample of ALP turrón (control sample with no RJ addition).

Simultaneous Steam-Distillation Extraction (SDE)

A suspension of 30 g of ALP *turrón* in 75 mL of ultrapure water (Milli-Q, Millipore Corp., Bedford, MA, Usa) was placed in flask A of the Likens-Nickerson distillator (Afora, Barcelona, Spain) with 10 g NaCl (Merck, Darmstadt, Germany). In flask B, 50 mL of Cl₂CH₂ (Labscan Ltd., Dublin, Ireland) was introduced. Boiling chips were added to flask A together with 10 drops of silicon as an antifoaming agent and the internal standard, 2-pentanol (100 µL of 1 g L⁻¹). Flask B was heated in a water bath at 55°C and flask A in an oil heater at 160°C. The vapours were condensed by means of a cold refrigerant maintained at -5°C by a cryostat, model Frigiterm (Selecta, Barcelona, Spain). After 120 min of extraction, the organic solvent contained the aroma compounds from ALP turrón samples (VÁZQUEZ et al., 2007). The extract was dried over 5 g anhy-



drous ${\rm Na_2SO_4}$ (Panreac Química S.A., Barcelona, Spain) and concentrated to about 1 mL in a Vigreaux column.

GC-MS analytical conditions

GC-MS analyses were performed with a GC-MS-QP5050A Shimadzu (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) model gas chromatograph-mass spectrometer equipped with an AOC-20i autoinjector and a TRACSIL Meta.X5 column, 95% dimethyl-polysiloxane and 5% diphenyl-polysiloxane, (Teknokroma S. Coop. C. Ltd, Barcelona, Spain; 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm film thickness). The experimental conditions were those reported earlier by BOLECHOWSKI *et al.* (2011). Data handling was made through *GCMSolution 1.01* (Shimadzu).

The quantification of the volatile compounds was performed using a Shimadzu 2010 gas chromatograph with a flame ionization detector (FID). The column and chromatographic conditions were similar to those reported for the GC-MS analysis. The injector temperature was 250°C and nitrogen was used as a carrier gas (1 mL min⁻¹). Data handling was carried out by means of *GCsolution 2.3* (Shimadzu).

Tables 1 and 2 show the authentic chemicals used as standards (std), the system of identification of each compound and experimental and literature Kovats indices (KI) for ALP turrón and royal jelly, respectively. Identification was considered tentative when it was based exclusively on mass spectral data.

Sensory evaluation with trained panel

A panel of 10 judges, aged 20 to 60 (6 females and 4 males) was trained for the descriptive evaluation of *turrón* and its main raw materials, i.e. almonds and honey. The details about panel selection and training can be found in VÁZQUEZ-ARAÚJO *et al.* (2005).

Descriptive Sensory Analysis (DSA) has been successfully used for comparing odour and taste attributes in foods and their products (ALASAL-VAR et al., 2003). Turrón samples were assessed using a flavour profile method (MEILGAARD et al., 1999). Prior to DSA, the panellists discussed the flavour properties of ALP turrón during two preliminary orientation sessions, each lasting 90 min, until they agreed on their use of flavour attributes. During these orientation experiments, the panellists evaluated six different coded samples of ALP turrón from different manufacturing companies. Fourteen flavour attributes were identified and the standards were made available to the panellists. DSA was performed for 14 flavour attributes (Table 3).

The measurements were performed in individual booths with controlled illumination (70-90 fc) and temperature (23°±2°C) (MEILGAARD et al., 1999). Individual turrón samples were scored

for the intensity of the studied attributes using a 100 mm-long line with line anchors (0 = no intensity; 100 = very intense). The panellists relied on their training experience to score products. The samples were randomly presented to each panellist (coded with a three-digit random number). The samples were evaluated in triplicate.

Statistical analysis

For each of the above-mentioned analyses at least 3 replications were carried out. The \pm values represent the standard errors of the measurements. The data from the DSA experiments were subject to the analysis of variance (ANO-VA) and the Tukey's least significant difference multi-comparison test in order to determine significant differences between the samples. Statistical analyses were done using a Statgraphics Plus 5.1 software (Manugistics, Inc., Rockville, MD, Usa) and graphics using a Sigma Plot 9.0 (SPSS Science, Chicago, Usa).

RESULTS AND DISCUSSION

Detection threshold

Duo to the peculiar and not pleasant flavour of royal jelly (phenolic odour, not sweet, acidic and slightly pungent and rancid), it was of great importance to determine its detection threshold. Fig. 1 shows that the detection threshold of royal jelly (the lowest stimulus capable of producing a sensation) was approximately 1.03%; at this concentration, 50% of the consumers included in the panel were able to detect a significant difference from the control sample. Consequently, a final concentration of 1.0% of royal jelly was chosen as an ingredient to ALP turrón.

Biological activity

Royal jelly contains considerable amounts of proteins, free amino acids, lipids, vitamins, and sugars, and it is known to have several diverse physiological and pharmacological functions in humans. These include vasodilative, hypotensive, anti-hypercholesterolemic, and anti-tumor activities (NARITA et al., 2006; MATEESCU and BARBULESCU, 1999). All these health-related benefits make RJ attractive as a natural preservative in new food applications. This meets the demand for natural antioxidants and antimicrobials, fuelled by the increasing consumer awareness of natural, minimally processed foods with traditional preservatives either absent or at very low concentrations (KALOGERO-POULOS et al., 2009). Besides, royal jelly proved to have higher antioxidative activities than honey (NAGAI et al., 2001).

The functional ALP *turrón* studied here will provide consumers with 1000 mg of RJ per

Ital. J. Food Sci., vol. 24 - 2012 3



Table 1 - Volattle compounds identified in alp $turr\acute{o}n$ enriched with royal jelly, their identification methods and Kovats indices for the present study and literature values (NIST, 2011).

Compound	Peak	RT (min)		s Index (I)		ntration kg ⁻¹)
			Ехр.	Lit.	Control	Royal Jelly
Pyrrole	1	5.05	769	762	0.05±0.02	0.10±0.01
Dihydro-2-methyl-3(2H)-furanone	2	6.83	808	804	0.06±0.02	0.06±0.02
2-Methylpyrazine [†]	3	7.58	829	825	0.05±0.02	0.04±0.01
Eurfural†	4	8.03	842	833	0.05±0.02 0.22±0.05	
						0.09±0.01
Heptanal [†]	5	11.62	902	903	0.06±0.01	0.06±0.01
2,5-Dimethylpyrazine	6	12.05	910	926	0.08 ± 0.05	0.04 ± 0.01
α-Thujene	7	12.99	927	923	0.95 ± 0.03	1.01±0.10
α-Pinene [†]	8	13.32	933	933	4.21±0.16	4.51±0.45
Camphene	9	14.13	947	945	0.16 ± 0.02	0.17±0.02
cis-2-Heptenal	10	14.68	957	951	0.03±0.01	0.02±0.01
Benzaldehyde [†]	11	14.79	959	960	0.34 ±0.08	0.26±0.02
Sabinene	12	15.62	974	973	6.46±0.06	6.59±0.56
β-Pinene [†]	13	15.78	977	981	36.5±0.9	38.2±2.8
1-Octen-3-ol [†]	14	16.27	986	982	0.04±0.01	0.03±0.01
6-Methyl-5-hepten-2-one	15	16.41	988	994	0.09±0.01	0.09±0.01
Myrcene	16	16.70	994	991	3.72 ± 0.05	3.81±0.28
Octanal [†]	17	17.34	1005	1006	0.72 ± 0.05	0.82±0.09
α-Terpinene	18	18.06	1018	1014	0.59 ± 0.05	0.65±0.22
p-Cymene	19	18.55	1027	1027	3.55±0.24	3.49±0.24
Limonene [†]	20	18.98	1035	1029	229±4	231±28
Benzyl alcohol†	21	19.34	1042	1036	0.67±0.10	0.62±0.05
	22		1045	1050		0.56±0.06
Phenylacetaldehyde [†]		19.50			0.55±0.16	
cis-β-Ocimene	23	19.92	1052	1051	0.22±0.01	0.23±0.02
γ-Terpinene	24	20.52	1063	1059	36.4±0.4	36.6±4.1
cis-Sabinene hydrate	25	21.07	1073	1073	0.30 ± 0.03	0.28±0.04
1-Octanol [†]	26	21.38	1079	1072	0.23 ± 0.01	0.22 ± 0.02
Terpinolene	27	22.01	1090	1084	1.61±0.01	1.62±0.14
trans-Sabinene hydrate	28	22.76	1104	1080	0.33±0.01	0.32±0.03
Linalool	29	22.91	1107	1098	0.51±0.03	0.45±0.07
Nonanal [†]	30	22.99	1109	1103	2.11±0.08	2.16±0.22
cis-Limonene oxide	31	24.73	1142	1139		
					1.53±0.05	1.50±0.14
Citronellal	32	25.59	1159	1161	0.67±0.02	0.64±0.06
Terpinen-4-ol	33	26.98	1185	1178	0.28±0.01	0.26±0.03
α-Terpineol	34	27.78	1201	1193	2.07±0.04	2.02±0.21
Decanal [†]	35	28.38	1213	1209	0.43 ± 0.01	0.42 ± 0.05
c <i>is-</i> Cinnamaldehyde [†]	36	28.96	1224	1215	0.32±0.05	0.31±0.03
trans-Carveol	37	29.22	1230	1207	0.75±0.09	0.63±0.06
Nerol [†]	38	29.59	1237	1233	0.39±0.02	0.44±0.04
Neral	39	30.11	1248	1235	2.66±0.10	2.54±0.28
Geraniol	40	30.98	1246	1276	0.37±0.21	0.78±0.08
trans-2-Decenal	41	31.24	1271	1278	0.09±0.01	0.08±0.02
trans-Cinnamaldehyde ^t	42	31.72	1280	1283	19.3±1.1	18.1±1.9
(Z,Z)-2,4-Decadienal [†]	43	32.85	1304	1293	0.05±0.01	1.48±0.08
(E,E)-2,4-Decadienal†	44	33.93	1327	1316	0.34 ± 0.09	0.18±0.01
Citronellyl acetate	45	35.59	1363	1357	0.21±0.01	0.20±0.02
Eugenol [†]	46	35.84	1368	1364	0.28±0.01	0.28±0.05
Neryl acetate	47	36.07	1373	1365	2.25±0.04	2.19±0.29
α-Copaene	48	36.76	1388	1377	0.10±0.02	0.07±0.02
Geranyl acetate	49	36.97	1392	1382	3.09±0.12	2.88±0.19
Tetradecane [†]	50					
		37.91	1413	1400	0.18±0.01	0.19±0.01
(Z)-β-Farnesene	51	38.53	1427	1431	0.14±0.01	0.11±0.02
trans-Caryophyllene	52	38.79	1433	1428	1.18±0.03	1.11±0.06
α-Bergamotene	53	39.47	1448	1446	2.27±0.12	2.14±0.11
(E)-Cinnamyl acetate	54	39.86	1457	1441	0.08 ± 0.01	0.06±0.01
B-Santalene	55	40.60	1474	1476	0.10±0.06	0.04±0.01
$(E.E)$ - α -Farnesene	56	41.68	1499	1500	0.07±0.01	0.05±0.01
(E) - β -Bisabolene [‡]	57	42.44	1517	1508	0.22±0.01	0.20±0.03
γ-Bisabolene‡	58	42.73	1524	1525	2.76±0.12	
I-Disaboletie	30	42.73	1024	1525	2.70±0.12	2.60±0.13

[†]Both Kovats indexes and retention times of authentic standards were used for identification besides the general comparison of experimental mass spectra to spectra of authentic standards and Wiley library. ‡ Tentatively identified.

4 Ital. J. Food Sci., vol. 24 - 2012



Table 2 - Volatile compounds identified in royal jelly with their identification method and Kovats indices for the present study and literature values (NIST, 2011).

			Kovats Index (KI)		
Compound	Peak	RT (min)	Experimental	Literature	Concentration (mg kg ⁻¹)
1-Pentanol	1	5.72	778	771	0.28±0.01
Benzaldehyde [†]	2	14.79	955	960	0.54±0.05
1-Heptanol	3	15.75	971	970	0.14±0.01
1-Octen-3-ol [†]	4	16.27	980	982	0.10±0.01
Benzyl alcohol [†]	5	19.34	1034	1036	0.60±0.06
Phenylacetaldehyde [†]	6	19.50	1039	1050	0.16±0.01
cis-Sabinene hydrate	7	21.07	1066	1068	0.38±0.02
1-Octanol [†]	8	21.38	1072	1072	0.20±0.01
trans-Sabinene hydrate	9	22.76	1097	1080	0.54±0.02
Linalool	10	22.91	1099	1098	0.30±0.05
Nonanal [†]	11	22.99	1103	1103	0.16±0.02
cis-Limonene oxide	12	24.73	1135	1139	0.33 ± 0.03
Terpinen-4-ol	13	26.98	1177	1178	0.14±0.01
α-Terpineol	14	27.78	1191	1193	1.06±0.11
<i>cis-</i> Cinnamaldehyde [†]	15	28.96	1215	1215	0.90±0.09
trans-Carveol	16	29.22	1219	1207	0.12±0.01
Neral	17	30.11	1239	1235	0.72±0.07
trans-Cinnamaldehyde [†]	18	31.72	1269	1283	11.0±0.55

†Both Kovats indexes and retention times of authentic standards were used for identification besides the general comparison of experimental mass spectra to spectra of authentic standards and Wiley library.

each 100 g of the product. The data in literature show that a daily intake of 200 mg of RJ is recommended (RDI), and needed to have positive a positive impact on health (ASÍS, 1996). A daily consumption of 20 g of the RJ enriched ALP *turrón* will cover 100% of the RDI. In fact, the nor-

mal daily consumption of *turrón* during Christmas is usually higher (about 50 g).

Summing up, ALP turrón enriched with RJ will be of superior quality (according to its biological activity) as compared to the traditional ALP product and other types of turrón, such as Jijo-

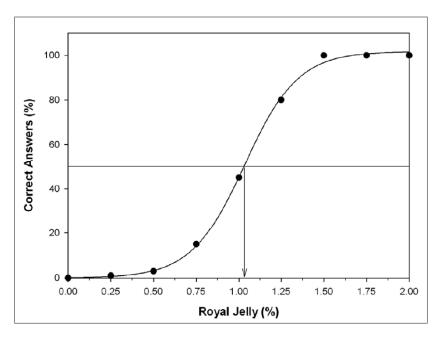


Fig. 1 - Determination of royal jelly detection threshold in "a la piedra" turrón.

Ital. J. Food Sci., vol. 24 - 2012 5



Table 3 - Flavour attributes selected for DSA.

Attribute	Characteristics
Acid	Taste associated with citric acid
Aftertaste	Remaining desirable and delicate flavour after swallowing
Astringent	Causing contraction of mouth tissues
Bitter	Taste associated with caffeine
Burnt	Smell of grilled meat, burnt smell
Cinnamon	Aroma and flavour of cinnamon
Lemon	Aroma and flavour of lemon
Nutty	Delicate, characteristics flavour of tree nut products
Oily	Oily taste or mouthfeel
Pungent	Burning or stinging sensation
Rancid	Associated with old or oxidised fat
Sweet	Taste associated with sugar
Toasted	Flavour of toasted nuts
Woody	Odour of almond hard shell

na or Alicante due to higher biological activity of RJ as compared with honey.

Volatile compounds

Total concentrations of volatile chemicals in control and functional ALP $turr\acute{o}n$ samples were 373 ± 7 mg kg⁻¹ and 376 ± 29 mg kg⁻¹, respectively. Table 1 shows that the addition of RJ at a concentration of 1.00% did not increase the concentrations of volatile compounds.

According to the composition (percentage of each ingredient) of ALP turrón, its ingredients can be ordered as follows: toasted almonds > sugar > lemon peel > cinnamon ≈ royal jelly. However, the order of the concentration of total volatiles from different raw materials was quite different: lemon peel > cinnamon > toasted almonds ≈ sugars > royal jelly. Total concentrations of the raw ingredients not studied until this study were: (i) lemon peel (15,135 \pm 176 mg kg⁻¹), (ii) cinnamon $(8,220 \pm 41 \text{ mg kg}^{-1})$, and (iii) RJ $(17.6 \pm 41 \text{ mg kg}^{-1})$ ± 1.3 mg kg⁻¹). The concentrations of total volatiles in sugar matrix and toasted almonds were previously established by VÁZQUEZ et al. (2007) and VÁZQUEZ-ARAÚJO et al. (2008) and were 174 mg kg-1 (for sugars at the end of the concentration step of honey, sugars, and water) and 228 mg kg-1 (mean value of almonds from three different cultivars: Marcona, Comuna, and California), respectively.

Therefore, the first conclusion from this study was that ALP *turrón* was more aromatic than Alicante and Jijona *turrón* mainly due to the lemon peel and cinnamon used in its formulation. Besides, the role of RJ in the aromatic profile of ALP *turrón* is insignificant due to its low concentration of volatile compounds.

The main compounds identified in the lemon peel were: limonene (7,890 mg kg⁻¹, 52.1% of total concentration of volatiles), γ -terpinene

(2,342 mg kg⁻¹, 15.5%), β -pinene (1,220 mg kg⁻¹, 8.1%), α -terpineol (464 mg kg⁻¹, 3.1%), geranial (408 mg kg⁻¹, 2.7%), neryl acetate (301 mg kg⁻¹, 2.0%), neral (291 mg kg⁻¹), and geranyl acetate (202 mg kg⁻¹, 1.3%). These compounds have already been reported for lemon products (ALLE-GRONE *et al.*, 2006).

trans-Cinnamaldehyde was the main compound in cinnamon (7,456 mg kg⁻¹) and represented almost 90.7% of the total concentration of volatile compounds in this raw material. Other important compounds were: cinnamyl acetate (199 mg kg⁻¹, 2.4% of total concentration of volatiles), eugenol (152 mg kg⁻¹, 1.8%), linalool (74.8 mg kg⁻¹, 0.9%), cis-cinnamaldehyde (62.5 mg kg⁻¹, 0.8%), α -terpineol (60.6 mg kg⁻¹, 0.7%), and terpinen-4-ol (45.0 mg kg⁻¹, 0.5%). The same compounds but at different concentrations were found by KAUL et al. (2003) in their studies of essential oils isolated from different parts of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum Blume) from India and Sri Lanka.

Eighteen volatile compounds were found and tentatively identified in the RJ extracts (Table 2). The main compound was *trans*-cinnamaldehyde, which represented 62.5% of the total concentration of volatiles; its main sensory descriptors are cinnamon, clove and spice. *trans*-Cinnamaldehyde seems to be responsible, at least in part, of the spice flavour of RJ. The most abundant compounds were α -terpineol, *cis*-cinnamaldehyde, neral, and benzyl alcohol, which represented 6.0, 5.1, 4.1 and 3.4% of the total concentration of volatiles.

Fifty-eight compounds were identified in both control and RJ enriched ALP turrón and can be grouped in eleven chemical families: monoterpenoids, monoterpenes, sesquiterpenes, aldehydes, aromatic hydrocarbons, furans, pyrazines, alcohols, pyrroles, ketones, and linear hydrocarbons. Monoterpenes, monoterpenoids, sesquiterpenes, aromatic hydrocarbons and aldehydes were the predominant chemical groups. The volatile compounds from the first three chemical groups are due to the addition of lemon peel to this confection, while aromatic hydrocarbons and aldehydes result from the addition of almond and/or cinnamon.

Taking into account low aromatic intensity of RJ (17.6 mg kg⁻¹) and its low percentage in the confection formula (1%), its on modification of the ALP *turrón* seems to be impossible.

The major group of chemicals found in control and RJ enriched ALP turrón extracts was that of monoterpenes (with 12 hydrocarbons present) comprising 86.8% and 87.3% of the concentration of total volatiles, respectively. A large amount of limonene (229 and 231 mg kg⁻¹) was composed of 61.4% of both the control and functional ALP turrón. γ -Terpinene, β -pinene, sabinene and α -pinene were the next most abundant monoterpenes found in ALP turrón samples. Even though limonene was more

6 Ital. J. Food Sci., vol. 24 - 2012



abundant than other monoterpenes and because of its high odour threshold (1 mg L⁻¹), the other compounds, such as α -pinene will play more important role in the final flavour of this product due to its very low odour threshold (0.006 mg L⁻¹). The odour units (concentration/threshold) of α -pinene and limonene were 727 (mean of both ALP *turrón* samples) and 230, respectively, showing a relatively low effect of limonene on ALP *turrón* flavour. In fact, β -pinene with a mean value of 267 also showed higher odour units than limonene.

On the other hand, the chemical group with the highest number of chemicals was monoterpenoids, 14. Within this group, the most abundant compounds were geranyl acetate, neral, neryl acetate, α -terpineol, and limonene oxide. However, the combination of relatively low concentrations and high odour thresholds reduced contribution of monoterpenoids to the odour and aroma of ALP *turrón*.

Finally, the less important chemical group present in the lemon peel was that of sesquiterpenes, representing only about 1.9% of the concentration of total volatiles. Eight compounds were included in this group, with γ -bisabolene and β -bergamotene being the most abundant ones.

Eight aldehydes (heptanal, 2-heptenal, Octanal, nonanal, etc.) were found in ALP turrón. Aldehydes increased with toasting of nuts and prolonged storage, due to the development of rancidity. They can enhance the aroma of foods both due to their high concentrations and low odour thresholds (VÁZQUEZ-ARAÚJO et al., 2008; VÁZQUEZ et al., 2007). This situation can also be true with ALP turrón, especially because of the

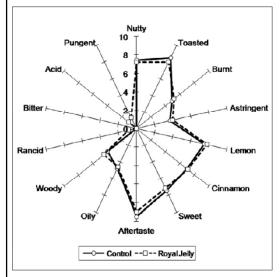


Fig. 2 - DSA of flavour attributes in control and functional (enriched with royal jelly) "a la piedra" turrón.

low odour thresholds. The mean odour units of the most important aldehydes found in the two types of ALP *turrón* under investigation were: 4,300 for decanal, 3,714 for (E,E)-2,4-decadienal, 2,140 for nonanal, and 1,100 for octanal.

Seven aromatic hydrocarbons were detected in ALP *turrón* (benzaldehyde, benzyl alcohol, *cis*- and *trans*-cinnamaldehyde, etc.). The predominant aromatic hydrocarbon was *trans*-cinnamaldehyde, present both in cinnamon and RJ. However, due to its high odour threshold (20 mg kg⁻¹), its importance is insignificant for the final aroma of the ALP *turrón*.

Only one or two compounds from the following chemical families: pyrazines, furans, pyrroles, ketones, alcohols and linear hydrocarbons, were found in ALP turrón, and their concentrations were low enough to affect the final odour and aroma of this confection. The low concentrations of pyrazines, furans and pyrroles also proved that almonds used in the manufacture of this confection are only slightly toasted.

Sensory evaluation

The flavor of RJ could be defined as having low but significant impact on the following attributes of the product: astringent, acid, pungent, spicy and/or rancid. Besides, trans-cinnamaldehyde, the most abundant compound in RJ, has a sharp spicy and even pungent taste. The addition of RJ is expected to improve the taste rather than the odour or aroma of ALP turrón, due to its low aromatic intensity.

Intensities of a number of flavour attributes (nutty, toasted, burnt, astringent, lemon, cinnamon, sweet, aftertaste, oily, and woody) did not show significant differences (p > 0.05) (Fig. 2) between the control and RJ enriched ALP $turr\acute{o}n$ samples. The contribution of rancidity, acidity, and pungency increased in about one unit (scale 0 to 10) in RJ enriched products as compared to the negligible intensities of these three attributes in the control samples.

CONCLUSIONS

Royal jelly was added at a maximum concentration possible without changing the main sensory properties of "a la piedra" (ALP) turrón, as perceived by a consumer panel; this concentration was determined at 1.0%. A total of 58 compounds was detected in both the control and the royal jelly (RJ) enriched ALP turrón, including monoterpenes, sesquiterpenes, monoterpenoids, pyrazines, furans, pyrroles, aldehydes, and aromatic hydrocarbons. The main chemical groups, terpenes and terpenoids, originated from the lemon peel, and their total concentration represented more than 90% of the total volatile compounds. However, the other compounds, e.g. aldehydes could also play an important role



in the final aroma of the ALP turrón, due to their low odour thresholds. Descriptive sensory analvsis proved that the main attributes characterizing this confection were lemon, toasted, nutty, sweet, cinnamon, and aftertaste; the addition of RJ slightly increased the scores of rancidity, acidity and pungency (these attributes were noticed by the trained panel but not by the consumer panel). Both the sensory and instrumental analyses of ALP turrón demonstrated the predominant role of the compounds present in lemon in the overall aroma of the product. The addition of RJ to the ALP turrón did not change its instrumental aroma profile or sensory properties significantly, but it will contribute with 500 mg per 50 g of ALP turrón ingested.

REFERENCES

- Alasalvar C., Shahidi F. and Cadwallader K.R. 2003. Comparison of natural and roasted Turkish tombul hazel-nut (Corylus avellana L.) volatiles and flavor by DHA/GC/MS and descriptive sensory analysis. J. Agric. Food Chem. 51: 5067.
- Allegrone G., Belliardo F. and Cabella P. 2006. Comparison of volatile concentrations in hand-squeezed judges of four different lemon varieties. J. Agric. Food Chem. 54: 1844.
- Asís M. 1996. "Propóleo: El Oro Púrpura de las Abejas". Editorial CIDA, La Habana (Cuba).
- Bankova V. 2005. Review: Recent trends and important developments in propolis research. eCAM 2: 29.
- Bolechowski A., Moral R., Bustamante M.A., Paredes C. and Agulló E. 2011. Composition of oregano essential oil (*Ori-ganum vulgare*) as affected by the use of winery-distillery composts. J. Essent. Oil Res. 23: 32.
- Kalogeropoulos N., Konteles S., Troullidou E., Mourtzinos I. and Karathanos V.T. 2009. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. Food Chem. 116: 452.
- Kaul P.N., Bhattacharya A.K., Rajeswara Rao B.R., Sya-

- masundar K.V. and Ramesh S. 2003. Volatile constituents of essential oils isolated from different parts of cinnamon (Cinnamomum zeylanicum Blume). J. Sci. Food Agric. 83: 53.
- Mateescu C. and Barbulescu D. 1999. Enhanced nutritive, functional and therapeutic action of combined bee products in complex food supplements. Rom. Biotech. Lett. 4: 163
- Meilgaard M., Civille G.V. and Carr B.T. 1999. "Sensory Evaluation Techniques, 3rd Edn.". CRC Press, Boca Raton, FL.
- Melliou E. and Chinou I. 2005. Chemistry and bioactivity of royal jelly from Greece. J. Agric. Food Chem. 53: 8987.
- Nagai T., Sakai M., Inoue R., Inoue H. and Suzuki N. 2001. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. Food Chem. 75: 237.
- Narita Y., Nomura J., Ohta S., Inoh Y., Suzuki K.M., Araki Y., Okada S., Matsumoto I., Isohama Y., Abe K., Miyata T. and Mishima S. 2006. Royal Jelly stimulates bone formation: physiologic and nutrigenomic studies with mice and cell lines. Bioscl. Biotech. Biochem. 70: 2508.
- NIST (National Institute of Standards and Technology). 2011. http://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser.html (accessed August 2011).
- Vázquez L., Verdú A., Miquel A., Burló F. and Carbonell-Barrachina A.A. 2007. Changes in physico-chemical properties, hydroxymethylfurfural and volatile compounds during concentration of honey and sugars in Alicante and Jijona turrón. Eur. Food Res. Technol. 225: 757.
- Vázquez-Araújo L., Enguix L., Verdú A., García-García E. and Carbonell-Barrachina A.A. 2008. Investigation of aromatic compounds in toasted almonds used for the manufacturing of turrón. Eur. Food Res. Technol. 227: 243.
- Vázquez-Araújo L., Pérez-Castejón V., Verdú A. and Carbonell-Barrachina A.A. 2005. Reclutamiento, selección, entrenamiento y validación de un panel de catadores especializado en turrón y sus materias primas. Alimentación 10: 92.
- Vázquez-Araújo L., Verdú A., Murcia R., Burló F. and Carbonell-Barrachina A.A. 2006. Instrumental texture of a typical Spanish confectionery product Xixona turrón as affected by commercial category and manufacturing company. J. Texture Stud. 37: 63.
- Verdú A., Vázquez-Araújo L. and Carbonell-Barrachina A.A. 2007. Mathematical quantification of almond content in Jijona *turrón*. Eur. Food Res. Technol. 226: 301.

Paper received August 21, 2011 Accepted October 17, 2011



International Journal of Food Science & Technology



International Journal of Food Science and Technology 2013, 48, 405-411

405

Original article

The effect of consumption of inulin-enriched Turrón upon blood serum lipids over a 5-week period

Elena Garcia-Garcia, 1* Elena Narbona, 1.2 Ángel A. Carbonell-Barrachina, 2 Joaquin Sanchez-Soriano 3 & Enrique Roche 1

- 1 Department of Applied Biology-Nutrition, Miguel Hernandez University, Elche, Alicante, Spain
- 2 Department of Agro-Food Technology, Food Quality and Safety Group, Miguel Hernandez University, Elche, Alicante, Spain
- 3 Operative Research Center, Miguel Hernandez University, Elche, Alicante, Spain

(Received 11 April 2012; Accepted in revised form 6 August 2012)

Summary

This study analysed the effects of consuming 30 g per day of 'Jijona turrón', a traditional Spanish Christmas nougat-type confection, on the circulating lipid parameters. Turrón is made of toasted almonds, honey and sugar. To make this product more appealing to consumers who need to control their lipid or glucose levels, a new product containing inulin was developed. Macro- and micronutrient contents were similar in both turrón with (JTI) or without (JT) inulin. A study with thirty-two volunteers was conducted, with a daily consumption of 30 g of either inulin-containing or not-inulin-containing turrón for a total of 5 weeks. At the beginning and at the end of the study, the circulating lipid parameters were quantified. The volunteers consuming both types of products maintained their circulating cholesterol within normal levels; however, consumers of JT presented a slightly but significant 8% decrease in LDL cholesterol level. On the other hand, the group consuming JTI maintained the levels of glycosylated haemoglobin, while volunteers consuming JT presented low but significantly higher levels of glycosylated haemoglobin.

Keywords

Confections, glycosylated haemoglobin, lipid profile, nougat.

Practical application

The information provided in this study proves that inulin can be used in the production of Jijona *Turrón*. At the same time, and compared with the commercially available sugar-free Jijona *Turrón*, sensory quality was improved. From the nutritional point of view, *turrón* and *turrón* with inulin in adequate doses could help in controlling circulating cholesterol and glycaemia.

Introduction

Jijona turrón (JT) is a typical Spanish confectionery product made from toasted almonds, sugars and honey (Fig. 1). Sucrose, honey and water are placed in a boiler-pan, called 'mecánica', and homogenised with an anchor impeller. The syrup is concentrated to approximately 80°Brix (Vazquez et al., 2007). At this point, egg albumin and toasted almonds are added

*Correspondent: E-mail: egarcia@umh.es

and the whole mass is manually homogenised. After cooling, the solid mass is crushed in a stone miller. At this time, almond oil is released and the solid particles remain suspended in a continuous fat phase. The suspension is then heated to 50–60 °C and gently stirred in a special hemispherical-shaped boiler-pan, called 'boixet', for approximately 1 h. Then, the temperature is raised to 70–80 °C and maintained until the correct consistency is obtained. The total time in the boixet is approximately 120 min. The mass obtained from the boixet is of a deformable semi-solid soft texture. At room temperature, the product hardens, becoming a breakable nonflowing semi-solid product (Chiralt et al., 1991).

In Spain, turrón is commercially classified according to its almond percentage. The minimum requirements are established by the Technical-Sanitary Regulation for the Production and Selling of Turrón and Marzipans (RTS, 1982). For example, supreme products (the only ones protected by specific denominations 'Jijona' and 'Alicante') require minimum almond percentages of 60% in Alicante turrón and 64% in Jijona turrón.

doi:10.1111/j.1365-2621.2012.03202.x



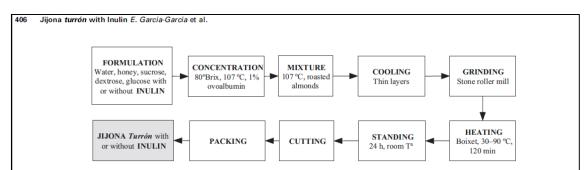


Figure 1 Jijona turrón production with or without inulin.

Other official organisations such as the Regulating Council of the Specific Denominations of JT and 'Alicante turrón' (CRIGPJTA, 2001) also establish minimum requirements for almond and honey contents.

Consumption of turrón is mainly confined to the Christmas season, with turrón production being limited to the period between September and December. To extend turrón consumption, and consequently the production period, as well as to broaden the market, turrón companies are trying to develop new commercial products to satisfy consumers' needs, for example, interest for foods with high fibre content or reduced calories without losing its other properties. Sugar-free turrón, already commercialised in the Spanish market, consists in a turrón in which the sugars have been replaced by other noncaloric sweetening components (e.g. maltitol and sorbitol). This product is presented with the first goal of satisfying the likes of consumers who must, for health reasons, limit their sugar intake such as in the case of diabetics or those with weight problems.

In this study, we propose a new form of turrón that contains inulin. This oligosaccharide, widely used in various food products, contains β-(2-1) links that are resistant to hydrolysis by the digestive enzymes of the stomach and the small intestine. Therefore, inulin arrives intact at the colon, as (Ellegard et al., 1997) demonstrated in volunteers who suffered an ileostomy. In the colon, inulin is fermented by a selective number of bacteria, predominantly Bifidobacterium, and is transformed into 40% bacterial biomass, 40% shortchain fatty acids, 15% lactic acid and 5% gases, mainly CO₂. Thus, and unlike many other dietary fibres, inulin fermentation by intestinal flora contributes to an optimal intestinal function, improving regularity and reducing constipation. Roberfroid, 2000a; De Hond et al., 2000; and Gibson et al., 1995; demonstrated that faeces weight increases 1.5 or 2 g per each inulin gram ingested. Finally, inulin also helps in maintaining a wellbalanced flora in the large intestine and has a reduced caloric value, ranging from 1.0 to 1.5 kcal g

There are currently no studies concerning the nutritional properties of *turrón* or the effects of its consumption on human health. Considering all the above information, the main focus of this study was to report the nutritional compositions of the traditional JT and the inulin-enriched product, their hedonic effects on consumers and some potential health benefits.

Materials and methods

JT samples were produced at the facilities of the company Pablo Garrigós Ibáñez, S.L. located in Jijona (Alicante, Spain). Three different types of *turrón* were used in different experiments within this study:

- 1 Traditional Jijona turrón (JT): 70% toasted almonds, 17% honey and 13% sugars.
- 2 Jijona turrón with inulin (JTI): 70% toasted almonds, 17% honey, 8% sugars and 5% inulin.
- 3 Jijona turrón without sugars added (sugar-free JT): 66% toasted almonds, 34% mix (maltitol and sorbitol).

Approximately 500 bars of 250 g of each product were produced at five different batches.

Physicochemical and microbiological analyses

Homogenous *turrón* samples were taken and stored at 4 °C in sealed plastic bags to prevent changes in moisture content and fat alteration. Before any analysis, the whole content of the plastic bags was removed and thoroughly mixed to increase product homogeneity.

All physicochemical and microbiological analyses were carried out using the official methods of analysis approved by the Ministry of Health and Consumption (MSC (Ministerio de Sanidad y Consumo), 1985) and (Horwitz, 2000). Analyses were performed at least in triplicate.

Mineral content determination by atomic absorptionemission spectrometry

A multi-place digestion block, Selecta Block Digest 20 (Barcelona, Spain), was used for sample mineralisation.

International Journal of Food Science and Technology 2012

© 2012 The Authors

build-up of any flavours from one sample to the next. Consumers were asked to expectorate samples after evaluation and to wait at least 2 min between samples.

A preference test and a satisfaction degree test were

Approximately 2 g of turrón samples were treated overnight with 1 mL of 30% H₂O₂ and 3 mL of 60% HNO₃ at room temperature in Pyrex tubes. Afterwards, the mix was heated at 40 °C for 30 min and then at 140 °C for 120 min. Then, they were left to cool down to room temperature, transferred to a volumetric flask and diluted to a final volume of 25 mL with ultrahigh-purity deionised water. Finally, the solutions were diluted 1:50 and stored at 4 °C until mineral analyses were carried out as reported in Perez- Lopez et al., 2007.

Determination of Ca, Mg, K, Na, Cu, Fe, Mn and Zn in previously mineralised samples was performed with a Unicam Solaar 969 atomic absorption spectrometer (Unicam Limited, Cambridge, UK). Measurements of Fe, Cu, Mn and Zn were carried out using flame atomic absorption spectroscopy with STAT (Slotted Tube Atom Trap) tubes as indicated in Carbonell-Barrachina *et al.*, 2002.

Instruments were calibrated using certified standards. In each analytical batch, at least two reagent blanks, one certified international reference material and one spike, were included to assess precision and accuracy for chemical analysis. The certified material selected for the current experiment was GBW07603 (bush, branches and leaves). This material was purchased from LGC Deselaers S.L. (Barcelona, Spain) and produced by the Institute of Geophysical and Geochemical Exploration of China (GBW07603). Analyses were performed at least in three replicates.

Sensory evaluation with consumer panel

Sensory evaluation (hedonic tests) was used to determine the degree of satisfaction of the consumers towards JT, JTI and sugar-free JT. Fifty consumers were recruited in the Campuses of Elche and Orihuela at the Miguel Hernandez University (Alicante, Spain): 34% men and 66% women, with ages ranging from 16 to 52 years. The principal selection criterion was that subjects had to be regular consumers of *turrón* during Christmas.

Measurements were performed in individual normalised booths with controlled illumination (70–90 foot candles). The testing room was at 23 ± 1 °C and 55 ± 5% of relative humidity (Meilgaard *et al.*, 2007; AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación), 1997).

Samples were always analysed within their shelf life period (1 year). Sample packages were opened the same day the sample was consumed. Five pieces of approximately ~1.5 cm² (~30 g) were provided to each volunteer in plastic dishes that have been previously coded with random three-digit numbers. Consumers used unsalted-top crackers and Lanjaron mineral water (Lanjaron, Granada, Spain) to clean their palates and reduce

A preference test and a satisfaction degree test were conducted using the same scorecard. Initially, a preference test was conducted using the *turrón* samples under study. Then, individual samples were scored for their degree of satisfaction on a structured scale of 9 points, where 4 = like very much, 0 = neither like nor dislike and -4 = dislike very much.

The entire experiment was repeated three times (different days), and the sensory scores were presented as the overall means \pm standard error.

Circulating lipid profile

A sample of thirty-two volunteers was recruited for a 5-week study. The subjects were informed, and all signed a written consent. The protocol was approved by the Ethics Committee of the University Miguel Hernandez. The exclusion criteria were as follows: circulating cholesterol >215 mg dL⁻¹, triglycerides >140 mg dL⁻¹, as well as the use of any of the following medications: statins, fibrates or resins. Volunteers were randomised in two groups, one consuming JT and the other JTI. Details of the anthropometric characteristics of each group are compiled in Table 1. Each patient received a total of 30 g of turrón every day. Biochemical determinations of total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides and glycosylated haemoglobin were determined at the beginning and end of the study (5 weeks) as indicated in (NCEP (National Cholesterol Education Program), 2001). All volunteers were instructed to consume the product at mid-morning or after lunch. Ingestion registries as well as turrón consumption were included in the daily energy intake (Table 2).

Statistical procedures

Statistical analyses were performed with the Excel v. 7.0 software package. Data from mineral analyses were examined by one-way (type of *turrón*) analysis of variance using STATGRAPHICS Plus 5.0 software (Manugistics, Inc., Rockville, MD, USA). Wherever

Table 1 Anthropometric characteristics of volunteers. Data are means \pm standard error

Parameter	Group consuming JT ($n = 15$)	Group consuming JTI (n = 17)
Weight (kg)	73.70 ± 4.96	67.76 ± 3.54
Height (cm)	169.09 ± 2.14	165.06 ± 1.91
BMI (kg m ⁻²)	25.51 ± 1.42	24.76 ± 1.15

© 2012 The Authors

International Journal of Food Science and Technology 2012



Table 2 Daily energy intake and macronutrient composition of the diets designed for volunteers, including $turr\acute{o}n$ consumption. Results are expressed as means \pm standard error

Parameter	Group consuming JT (n = 15)	Group consumin JTI (n = 17)
Energy (kcal)	2785 ± 168	2790 ± 80
Carbohydrates (%)	42.17 ± 2.22	41.66 ± 1.04
Proteins (%)	16.07 ± 0.55	16.00 ± 0.25
Fat (%)	41.77 ± 2.06	42.34 ± 0.85

F values were significant, Tukey's multiple range test was used to separate the mean effects; significance was defined at $P \leq 0.05$.

Data from lipid profile, body mass index (BMI) and energy consumption were analysed by the following hypothesis tests: t-test, sign test and signed rank test for paired samples, using STATGRAPHICS Centurion XV software (StatPoint Technologies, Inc. Warrington, VA, USA); significance was defined at $P \leq 0.05$.

Results and discussion

Composition information

Table 3 shows the macronutrient composition and microbiological analysis of the two types of turrón used in this study. The mean total fat content of both products (Table 3) was significantly (*P*-value < 0.05) higher than the minimum content established by the Spanish legislation, which is 34.0% (RTS, 1982). This limit is set to assure that a minimum almond content has been used in the production. Regarding the proteins, the mean content of the two turrón samples was approximately 17%, which is significantly (*P*-value < 0.05) higher than the 12% minimum established by the Spanish legislation (RTS, 1982).

Also, the Spanish legislation establishes maximum contents for moisture and ashes, 4.5% and 2.5%, respectively, to assure proper almond contents and a long shelf life (RTS, 1982). The average contents for moisture and ashes of the two turrón samples were significantly lower than the reference levels (RTS, 1982). Carbohydrate values are not typified in legislation; however, there are important differences, depending on the diverse qualities. This parameter is very dependent on the formulation, which is influenced not only by the content of honey, but by its type, as well as by the variety of sugars that can be added during production.

Finally, microbiological parameters indicated an absence of microorganisms. Therefore, all legal requirements were reached by the *turrón* samples and can be considered as acceptable products for the Spanish market.

Table 3 Physicochemical and microbiological analyses of JT and JTI. Results are expressed as means \pm standard error when necessary.

Parameter	Unit	JT	JTI
Humidity*	% (w/w)	$2.99\pm0.04^{\dagger}$	$2.67\pm0.04^{\dagger}$
Dry matter	% (w/w)	97.29 ± 0.05	97.17 ± 0.04
Proteins	% (w/w)	$17.07\pm0.04^{\dagger}$	$17.08\pm0.04^{\dagger}$
Ashes at 550 °C*	% (w/w)	$2.41\pm0.02^{\dagger}$	$2.06\pm0.02^{\dagger}$
Total fat*	% (w/w)	$39.81\pm0.07^{\dagger}$	$37.43\pm0.04^{\dagger}$
Carbohydrates*	% (w/w)	28.89 ± 0.04	36.77 ± 0.04
Crude fibre*	% (w/w)	3.91 ± 0.03	3.64 ± 0.03
Energy	kcal per 100 g	540	554
Energy	kJ per 100 g	2260	2314
Total Enterobacteraceaes	CFU g ⁻¹	Absence	Absence
Escherichia coli	CFU g ⁻¹	Absence	Absence
Staphylococcus aureus			
Enterotoxigenic	CFU g ⁻¹	Absence	Absence
Moulds and yeasts	CFU g ⁻¹	Absence	Absence
Salmonella sp.	Abs/pres.	Absence	Absence
Classification according to	the results	Acceptable	

^{*}Statistically significant differences, P < 0.05.

Table 4 summarises the contents of macroelements (Ca, Mg, K and Na) and microelements (Fe, Zn, Cu, and Mn) in almonds, JT and JTI. Almonds are included because they represent the main source of minerals in *turrón*. JT and JTI were prepared by the same company, using the same raw materials and formulation; therefore, mineral contents of the resulting products were statistically identical for both JT and JTI.

Sensory evaluation

In the preference test, 64% of the consumers preferred JT, because they frequently consume this product

Table 4 Mineral (macro- and microelements) contents of toasted almonds, JT and JTI. Results are expressed in mg/100g of product as means ± standard error

Mineral	Almond	JT	JTI
Macroeleme	ents		
Ca	216 ± 10^a	144 ± 18^{b}	116 ± 15^{b}
Mg	276 ± 15^a	182 ± 8 ^b	187 ± 10^{b}
K	687 ± 34^a	463 ± 20^b	517 ± 25 ^b
Na	28 ± 1^a	19 ± 1 ^b	18 ± 1 ^b
Microeleme	nts		
Fe	3.72 ± 0.19^a	2.53 ± 0.15^{b}	2.55 ± 0.15^{b}
Zn	3.12 ± 0.17^{a}	2.10 ± 0.31^{b}	2.71 ± 0.40^{b}
Cu	1.17 ± 0.05^{a}	0.78 ± 0.15^{b}	0.63 ± 0.06^{b}
Mn	2.24 ± 0.10^{a}	1.49 ± 0.17^{b}	1.02 ± 0.26^{b}

Values followed by the same letter, within a row, were not significantly different at P < 0.05.

International Journal of Food Science and Technology 2012

© 2012 The Authors

[†]There are statistically significant evidences to conclude that the corresponding mean content satisfies the RTS, 1982, P < 0.05.

ING.

during Christmas, while 24% of the consumers preferred JTI and only 12% preferred sugar-free JT.

Data from the degree of satisfaction study agreed well with data from the preference test; the $turr\acute{o}n$ type that obtained the highest score was JT (2.3 \pm 0.3), followed by JTI (1.3 \pm 0.2) and finally sugar-free JT (0.7 \pm 0.2). However, it is important to note even the product with the lowest score, sugar-free JT, was positively liked by consumers (all values were above 0).

The final conclusion from this section is that inulin leads to *turrón* samples with higher preference and satisfaction degree than artificial sweeteners, such as maltitol or xylitol.

Dietary intervention

A very simple intervention study was carried out to analyse health impact of moderate turrón consumption. Both groups of volunteers consumed a diet with approximately 40% of fat (Table 2) and presented an altered circulatory lipid profile (Table 5). Total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides were selected as indicators of circulating lipid status. High circulating values correlated with a high risk of cardiovascular disease (NCEP (National Cholesterol Education Program), 2001). Also, glycosylated haemoglobin was selected as an indicator for cardiovascular risk (Genuth, 2008; Little et al., 2011; ACCORD Study Group, 2011) and for long-term glycaemia alterations (Little et al., 2011). The circulating parameters were determined at the beginning and end of the study. The mean weight loss was not statistically significant in both consumer populations at the

Table 5 Changes in lipid profile and glycosylated haemoglobin according to consumption of JT and JTI. Data are means \pm standard error.

		Time (day)		
Parameter	1	35		
Cholesterol (mg dL ⁻¹)	JT	215.93 ± 14.23	207.40 ± 10.84	
	JTI	186.82 ± 7.81	190.94 ± 8.99	
LDL Cholesterol (mg dL ⁻¹) [†]	JT	138.49 ± 11.21	127.90 ± 10.24*	
	JTI	110.88 ± 7.50	112.47 ± 8.44	
HDL Cholesterol (mg dL ⁻¹)	JT	54.74 ± 3.17	54.34 ± 2.38	
	JTI	61.47 ± 3.03	61.59 ± 2.97	
Triglycerides (mg dL ⁻¹)	JT	134.53 ± 14.78	126.77 ± 17.22	
	JTI	71.94 ± 4.78	82.00 ± 9.32	
Glycosylated haemoglobin(%)‡	JT	5.90 ± 0.07	$6.09 \pm 0.10*$	
	JTI	5.98 ± 0.09	5.95 ± 0.12	

^{*}Statistically significant differences, P < 0.05

end of the study. Total cholesterol, triglycerides and HDL cholesterol presented nonsignificant changes in JT and JTI consumers. The only modest but significant reduction was observed for LDL cholesterol in JT but not in JTI consumers. Finally, glycosylated haemoglobin increased significantly in JT consumers, but remained unchanged in the JTI group.

This study is the first scientific report that presents the nutritional composition of Spanish turrón. Fat deriving from almonds is one of the main constituents of turrón (Verdu et al., 2007a). In this context, fat is very important in JT because (i) together with sugars gives the proper aroma, flavour and texture, (ii) is essential in maintaining turrón structure, and (iii) is the key factor for consumer acceptance (Lluch et al., 1992; Martinez & Chiralt, 1995; Martinez-Navarrete et al., 1996). Most of the final aroma compounds have their origin in fatty acids that are present in almond oil. However, at the same time, the fat component con-cerns consumers because of its implication in health status. For this reason, consumers care for JT with low levels of oiliness (Verdu et al., 2007b). Because the amount of almond used in the production of this product is established and cannot be modified, changes during production are an alternative to control fat content. For instance, if the boixet time is extended, a slow increase in the amount of protein-stabilised oil droplets will be found (Martinez et al., 1997). Conversely, a method to decrease the extra fat content is by extending the standing stage, in which the excess of oil is released, collected, stored and sold mainly for cosmetics (Vazquez-Araujo et al., 2006). However, these changes are very modest and have a low impact in the circulating lipid profile of consumers.

In this context, functional products could be an alternative for circulating lipid control in consumers. In addition, this new product may allow manufacturers to extend time consumption of turrón beyond Christmas. Taking all this in mind, we decided to develop a new functional turrón by adding inulin, which has been used in other products with the purpose of controlling circulating lipid profile. Inulin is a dietetic fibre that limits intestinal cholesterol absorption. However, the traditional product (JT) is already efficient in controlling circulating LDL cholesterol, when moderately consumed. Although the addition of inulin was initially conceived with this goal, we could not observe a similar effect with JTI consumption. However, differences in circulating cholesterol and LDL cholesterol in JTI consumers were only marginal; this discrepancy observed with JT consumption could be due to the initial lipid profile of studied populations. In this context, the studies that have evaluated the effects of inulin with regard to the control of circulating lipid profile show that inulin administration has modest effects in normolipaemic subjects, whereas

The Authors

nternational Journal of Food Science and Technology © 2012 Institute of Food Science and Technology

International Journal of Food Science and Technology 2012

 $^{^{\}dagger}$ Statistically significant differences, P < 0.05, between mean variations in JT and JTI groups.

 $^{^{\}ddagger}$ Statistically significant differences, P < 0.10, between mean variations in JT and JTI groups.

Funcionalización de Turrón Protegido: PUBLICACIONES

410 Jijona turrón with Inulin E. Garcia-Garcia et al.

more evident effects were observed in patients with hyperlipaemia, coinciding with our observations. Other studies, such as (Leteixer et al., 2003), have shown a significant decrease in circulating triglyceride levels in 8 healthy subjects consuming 10 g/day of inulin. In addition, many of the studies regarding inulin use higher amounts than those used in this study (2 g per day) (Roberfroid et al., 1998; Roberfroid & Slavin, 2000b). Nevertheless, we could not reach such amounts in our product because we have observed that increasing the amount of inulin could disturb product structure, therefore affecting consumer acceptance and its subsequent commercialisation.

On the other hand, the sweet flavour of inulin could result in obtaining a product with more acceptable hedonic properties (Tungland & Meyer, 2002). În this sense, we indeed observed that JTI was well accepted by consumers, even better than sugar-free JT that is already present in the Spanish market. However, the functional turrón is less accepted than JT. This experimental situation was expected because generally the consumers prefer the products they regularly consume, and their first reaction is to reject or give low satisfaction values to what is new and not known. Altogether, this information is very valuable because it proves that inulin has a better acceptance and sensory characteristics than other sweeteners in preparing functional turrón. In addition, the functional product (JTI) is efficient in maintaining glycosylated haemoglobin. In this sense, JTI represents an adequate option for people who want to control their glycaemia. Furthermore, recent evidence has shown that a glycosylated haemoglobin value under 7% correlates with a reduced risk of cardiovascular disease (Little 2011; ACCORD Study Group, 2011)

In conclusion, the administration of 2 g per day of inulin in a functional product does not provide the expected results in the control of lipid profile in volunteers; however, a beneficial effect was observed on the control of glycosylated haemoglobin. In any case, this is a point that deserves additional investigation.

Conclusions

JTI in correct amounts represents a new dessert with interesting nutritive and hedonic qualities that can be considered as an alternative to sugar-free JT. This is the first attempt found in the scientific literature in which turrón nutritional composition is shown. In addition, this is also the first study in which turrón companies try to change the matrix of protected products by incorporating new ingredients (i.e. inulin). Also, JTI could be produced under a protected geographical indication guaranteeing to consumers its high qualities. Therefore, there is still work to do to make the enriched product closer to the traditional turrón, but is currently a new

option being marketed in Spain. Finally, this is the first study in which the effect of the *turrón* consumption on human health parameters is considered.

Acknowledgements

Authors want to thank Isabel Piqueras-Ruiz and Francisco Bejarano Toledo for their help in sample collection. Enrique Roche is recipient of the following grants: Instituto de Salud Carlos III-FEDER (PS09/01093) and Fundacion Salud 2000-Merck Serono.

Declaration of interest

Funding for this research was provided by the Company Pablo Garrigós Ibáñez, S.L. through a contract signed with Universidad Miguel Hernández (Production of Functional *Turrón*) represented by Elena Garcia-Garcia and Angel A. Carbonell-Barrachina.

References

ACCORD Study Group. (2011). Long-term effects of intensive glucose lowering on cardiovascular outcomes. New England Journal of Medicine, 364, 818–828.

AENOR (Asociación Españaola de Normalización y Certificación). (1997). Sensory Analysis. UNE standards. Madrid, Spain: AENOR. Carbonell-Barrachina, A.A., García, E., Sánchez-Soriano, J., Aracil, P. & Burló, F. (2002). Effects of raw materials, ingredients and production lines on arsenic and copper concentrations in confectionery products. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50, 3738–3742. Chiralt, A., Galotto, M.J. & Fito, P. (1991). Changes in rheological

Chiralt, A., Galotto, M.J. & Fito, P. (1991). Changes in rheological properties and particle-size distribution during the manufacture of "Xixona turrón". *Journal of Food Engineering*, 14, 117–128.

CRIGPITA (2001). Consejo Regulador de las Indicaciones Geográficas Protegidas Jijona y Turrón de Alicante. Jijona (Alicante), Spain.

De Hond, E.M., Geypens, B.J. & Ghoos, Y.F. (2000). Effect of long chicory inulin on bowel habit and transit time in constipated persons. *Nutrition Research*, **20**, 731–736. Ellegard, L., Andersson, H. & Bosaeus, I. (1997). Inulin and oligo-

Ellegard, L., Andersson, H. & Bosaeus, I. (1997). Inulin and oligo-fructose do not influence the absorption of cholesterol, and the excretion of cholesterol, Fe, Ca, Mg, and bile acids but increase energy excretion in man. A blinded, controlled cross-over study in ileostomy subjects. European Journal of Clinical Nutrition, 51, 1–5. Genuth, S. (2008). The UKPDS and its global impact. Diabetic Med-

icine, 25(Suppl 2), 57-62.

Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X. & Cummings, J.H. (1995).

Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligo-

fructose and inulin. Gastroenterology, 108, 975–982. Horwitz, W. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC Interna-

tional, 17th edn. Gaithersburg, MD: AOAC International.
Leteixer, D., Diraison, F. & Beylot, M. (2003). Addition of inulin to a high carbohydrate diet reduces hepatic lipogenesis and plasma triacylglycerol concentration in humans. American Journal of Clinical Nutrition, 77, 559–564.

cal Nutrition, 77, 559-564.

Little, R.R., Rohlfing, C.L. & Sacks, D.B.; National Glycohemoglobin Standarization Program (NGSP) Steering Committee. (2011). Status of hemoglobin A1c measurement and goals for improvement: from chaos to order for improving diabetes care. Clinical Chamietry, 57:205-214

Chemistry, 57:205–214. Little, R.R., Lenters-Westra, E., Rohlfing, E. & Slingerland, R. (2011). Point-of-care assays for hemoglobin A(1c): is performance adequate?. Clinical Chemistry, 57(9), 1333–1334.

International Journal of Food Science and Technology 2012

© 2012 The Authors

Lluch, M.A., Galotto, M.J. & Chiralt, A. (1992). Scanning electron microscopy studies of a typical Spanish confectionery product: "Xixona turrón". Food Structure, 11, 181–186. Martinez, N. & Chiralt, A. (1995). Glass transition and texture in a

typical Spanish confectionery product: Xixona turron. J Text Stud, 26, 653-663.

Martinez, N., Chiralt, A. & Fito, P. (1997). Transport phenomena in the phase inversion operation of Xixona turrón manufacture. Journal of Food Engineering, 32, 313–324.

Martinez-Navarrete, N., Fito, P. & Chiralt, A. (1996). Influence of conditions of manufacture and storage time on the textural charac-

teristics of Xixona turrón. Food Control, 7, 317–324.

Meilgaard, M., Civille, G.V. & Carr, B.T. (2007). Sensory evaluation techniques, 4th edn. Boca Raton, FL: CRC Press.

MSC (Ministerio de Sanidad y Consumo). (1985). Turrón y mazapán. In: Análisis de alimentos, Métodos oficiales y recomendados por el Centro de Investigación y Control de la Calidad. Pp. 467–476. Madrid, Spain: MSC.

NCEP (National Cholesterol Education Program). (2001). Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program. Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). JAMA, 285, 2486-2497.

Perez- Lopez, A.J., Lopez- Nicolas, J.M. & Carbonell- Barrachina, A.A. (2007). Effects of organic farming on mineral contents and aroma composition of Clemenules mandarin juice. European Food Research and Technology, 225, 255–260.

Roberfroid, M.B. (2000a). Chicory fructooligosaccharides and the gastrointestinal tract. Nutrition, 16, 677-679.

Roberfroid, M.B. & Slavin, J. (2000b). Nondigestible oligosaccharides. Critcal Reviews in Food Sci and Nutrition, 40, 461–480.

rides. Criteal Reviews in Food Sci and Nutrition, 40, 461–480.

Roberfroid, M.B., Van Loo, J.A.E. & Gibson, G.R. (1998). The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products.
Journal of Nutrition, 128, 11–19.

RTS. (1982). Reglamentación Técnico Sanitaria para la elaboración,
circulación y venta de turrones y mazapanes. Real Decreto 1787/

82. (Boletín Oficial del Estado, BOE 2/08/82) modified by Real
Decreto 1167/90 (BOE 26/09/90). Madrid, Spain.

Tungland, B.C. & Meyer, D. (2002). Non-digestible oligosaccharides
(dietary fiber): their physiology and role in human health and food.
Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 3, 73–92.

Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 3, 73–92. Vazquez, L., Verdu, A., Miquel, A., Burlo, F. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2007). Changes in physico-chemical properties, hydrox-

na, A.A. (2007). Changes in physico-chemical properties, nydroxymethylfurfural and volatile compounds during concentration of honey and sugars in Alicante and Jijona turrón. European Food Research and Technology, 225, 757–767.
Vazquez-Araujo, L., Verdu, A., Miquel, A., Murcia, R., Burlo, F. & Carbonell- Barrachina, A.A. (2006). Instrumental texture of a typical Spanish confectionery product Xixona turrón as affected by commercial category and manufacturing company. Journal of Text Studies 27, 63–70

Studies, 37, 63–79.

Verdu, A., Vazquez-Araujo, L. & Carbonell- Barrachina, A.A. (2007a). Mathematical quantification of almond content in Jijona turrón. European Food Research and Technology, 226, 301–306.

Verdu, A., Serrano-Megias, M., Vazquez-Araujo, L., Perez- Lopez, A.J. & Carbonell- Barrachina, A.A. (2007b). Differences in Jijona turrón concepts between consumers and manufacturers. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87, 2106-2111.

© 2012 The Authors

International Journal of Food Science and Technology 2012





Reportaje Técnico

54

Turrón "a la piedra" funcional

La adición de propóleo es beneficiosa para la salud

Elena Narbona^{1,2}, Carolina Alcaraz^{1,2}, Elena García García^{2,3} y Ángel Antonio Carbonell-Barrachina¹.

1 Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Edificio Oriol. Orihuela (Alicante). 2 Unidad de Fisiología Celular y Nutrición. Instituto de Bioingeniería. Universidad Miguel Hernández. Elche (Alicante). 3 Ciber de Diabetes y Enfermedades metabólicas (Ciberdem)



Los consumidores del siglo XXI no sólo esperan consumir productos de elevada calidad sino que, además, esperan que tengan algún extra añadido. El consumidor de turrón no es una excepción a esta moda; además, cierto tipo de consumidor es reticente a comprar este producto por su elevado contenido graso. Por eso, la funcionalización del turrón ayudaría a atraer su atención e intentar convencerle de que sus virtudes son muchas y merece la pena consumir pequeñas cantidades de turrón de calidad funcional. La propuesta es el turrón "a la piedra" con propóleo.

I turrón "a la piedra" es uno de los grandes desconocidos en el mundo de este dulce navideño. En la imagen de más arriba, se muestran tres tipos de turrón: 1) Alicante, 2) Jijona y 3) "a la piedra". Es muy probable que un elevado porcentaje de españoles, incluyendo consumidores habituales de turrón, no fuese capaz de distinguir entre el turrón de Jijona y el de "a la piedra".

En el turrón "a la piedra", la masa está obtenida por simple molturación de la almendra tostada y el azúcar en un molino de granito y posterior refinado hasta un tamaño de partícula inferior a 50 μ m. A esta mezcla, se le añade ralladura de limón y finalmente, y tras el moldeado del producto, se espolvorea canela en la superficie de las tabletas.

El producto tiene que tener un contenido mínimo de almendra (45-50%), porque si no el aceite generado durante la molturación de la almendra tostada no sería suficiente para mantener la cohesión de las partículas del producto [1].

Este tipo de turrón, por tanto, no contiene miel, y sería interesante para mantener la dualidad almendra-miel de los turrones protegidos por el Consejo Regulador de las Indicaciones Geográficas Protegidas Jijona y Turrón de Alicante (CRIGPJTA) poder adicionarle algún otro tipo de producto de la colmena como, por ejemplo, propóleo. Se ha de pensar en un ingrediente que, por sus características físico-químicas y organolépticas, no disminuya la calidad del producto y que aporte beneficios adicionales para la salud de los consumidores.

ALIMENTACION 242 | Abril 2009



RESULTADOS Y DISCUSIÓN





5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se resumen los principales resultados y discusión de los distintos trabajos realizados que han sido publicados en revistas internacionales. La versión completa de estos se encuentra en el capítulo 4.

5.1. COMPOSICIÓN VOLÁTIL DEL TURRÓN "A LA PIEDRA" FUNCIONAL CON PROPÓLEO

5.1.1. Umbral de detección del propóleo

Uno de los objetivos de este estudio fue determinar el umbral de detección del propóleo ya que este presenta un olor desagradable y peculiar. Para ello se realizó una prueba sensorial a veinticinco consumidores habituales a los que se les preguntó si eran capaces de notar diferencia alguna entre una muestra control de turrón a la piedra y ocho muestras de turrón a la piedra con diferentes concentraciones de propóleo. Los resultados de estas catas revelaron que el umbral de detección del propóleo en el turrón a la piedra fue de 0,055 %. En consecuencia, la cantidad final de propóleo seleccionada para adicionar al turrón a la piedra fue de 0,050 %.

5.1.2. Actividad biológica

La ingesta diaria recomendada (RDI) de própolis es de 100 mg. El turrón a la piedra enriquecido aporta 50 mg de propóleo por cada 100 g de producto, cantidad "normal" consumida durante las fiestas navideñas. Esto representaría el 50 % de la RDI de propóleo.

Por tanto, el turrón a la piedra con propóleo, debido a las múltiples propiedades antioxidantes, antibacterianas y antifúngicas que posee este en comparación con la miel, presume ser de calidad superior que el turrón a la piedra tradicional y otros tipos de turrón como el de Jijona o de Alicante.



5.1.3. Compuestos volátiles

Según la composición del turrón a la piedra, sus ingredientes pueden ordenarse como sigue: almendras tostadas > azúcar > raspadura de limón > canela > propóleo. Sin embargo, el orden de acuerdo a la concentración total de compuestos volátiles de cada materia prima es diferente: raspadura de limón > canela > propóleo > almendra tostada. La primera conclusión obtenida de este estudio fue que el turrón a la piedra es más aromático que el turrón de Alicante y Jijona principalmente debido a la raspadura de limón y a la canela usados en su formulación.

En el extracto de <u>propóleo</u> los compuestos volátiles principales fueron: alcohol bencílico, alcohol feniletílico, *trans*-pinocarveol y mirtenol.

Los principales compuestos identificados en la <u>raspadura de limón</u> fueron: limoneno, α -terpineol, geraniol, neril acetato, nerol y geranil acetato.

El principal compuesto hallado en la <u>canela</u> fue el *trans*-cinamaldehído representando casi el 91 % de la concentración total de volátiles.

En el turrón a la piedra funcional se hallaron los siguientes compuestos: alcohol bencílico, benzaldehído, *trans*-cinamaldehído y furfural. Debido a la baja concentración de propóleo añadido al turrón ALP, el único compuesto cuya concentración resultó significativa fue el alcohol bencílico. Sin embargo y debido al elevado umbral de detección de este compuesto, su importancia en el aroma final del turrón ALP fue insignificante.

Tanto en el turrón ALP control como en el funcional, el limoneno fue el monoterpeno mayoritario. A pesar de esto, debido a su elevado umbral olfativo, otros monoterpenos como el a-pineno (681 unidades de aroma) jugarán un papel más importante en el flavor final.

El geranil acetato fue el monoterpenoide más importante, contribuyendo al flavor final del turrón ALP (control y funcional) con 529 unidades de aroma.

Las unidades de aroma de los aldehídos (almendra tostada y notas vegetales verdes) más importantes en el turrón ALP fueron 6929 para el 2,4-decadienal, 4350 para decanal, 2170 para nonanal y 1007 para octanal. Se ha observado que la concentración de numerosos aldehídos aumenta significativamente en el tostado de



la almendra debido a su alta concentración y bajo umbral olfativo (Vázquez *et al.*, 2007; Vázquez-Araújo *et al.*, 2008),

5.1.4. Evaluación sensorial

El aroma del propóleo es característico debido a la alta intensidad de las notas aromáticas que lo componen: olor canforáceo, menta, especias, madera, tierra y balsámico. Además, algunos de los compuestos más abundantes en el propóleo tienen un intenso sabor a tostado, como ocurre con el alcohol bencílico. Por este motivo, fue importante que después de la adición del propóleo, el perfil sensorial del turrón ALP no fuese significativamente afectado puesto que las notas aromáticas descritas no eran esperadas o deseables en este tipo de producto y podrían disminuir la aceptación por parte de los consumidores.

Las intensidades para los atributos que componen el flavor (almendrado, tostado, quemado, astringente, limón, canela, dulce, regusto, aceite y madera) no fueron significativamente diferentes (p > 0.05) en el turrón ALP control y funcional.

Las contribuciones de los atributos "rancio", "amargo", "ácido" y "acre", fueron insignificantes sobre el resto de flavores en el turrón ALP debido a la frescura de los otros ingredientes (almendras tostadas, canela, limón, raspadura de limón y propóleo). Sin embargo, los defectos "rancio" y "acre" pueden desarrollarse durante el almacenamiento.

5.2. COMPOSICIÓN VOLÁTIL DEL TURRÓN "A LA PIEDRA" FUNCIONAL CON JALEA REAL

5.2.1. Umbral de detección de la jalea real

Del mismo modo que ocurre con el propóleo, la jalea real presenta un flavor desagradable, o al menos inesperado para los consumidores de turrón, y, por tanto, es fundamental determinar su umbral de detección. En este caso, los resultados de las valoraciones sensoriales mostraron que a la concentración 1,03 % aproximadamente, el 50 % del panel de catadores pudo notar diferencias con respecto a la muestra control. En consecuencia, la concentración final de jalea real elegida para la elaboración del turrón ALP fue del 1,0 %.



5.2.2. Actividad biológica

La ingesta diaria recomendada (RDI) de jalea real es de 200 mg. El turrón a la piedra enriquecido aporta 1000 mg de propóleo por cada 100 g de producto. Por tanto, bastarían 20 g de producto para cubrir el 100 % de la RDI. Sin embargo, la cantidad habitual consumida durante las fiestas navideñas es incluso mayor (alrededor de 50 g).

La jalea real posee una alta concentración en proteínas, aminoácidos libres, lípidos y vitaminas. Debido a su composición nutricional y a las numerosas propiedades asociadas a ésta, la jalea real resulta un producto idóneo para ser incorporado al turrón ALP. Así pues, comparando la jalea real con la miel, cabe esperar que el turrón ALP enriquecido con jalea real será de calidad igual o superior que el turrón a la piedra tradicional y otros tipos de turrón como el de Jijona o de la Alicante.

5.2.3. Compuestos volátiles

No se detectaron cambios significativos en la concentración de volátiles entre el turrón ALP control y el funcional (1,0 % de jalea real). Según la composición del turrón a la piedra, sus ingredientes pueden ordenarse como sigue: almendras tostadas > azúcar > raspadura de limón > canela \approx jalea real. Sin embargo, el orden de acuerdo a la concentración total de compuestos volátiles de cada materia prima es diferente: raspadura de limón > canela > almendra tostada > jalea real.

El principal compuesto encontrado en la jalea real fue el transcinamaldehído, presente también en la canela. Sin embargo, debido a la baja intensidad aromática y al bajo porcentaje usado en la formulación (1,0 %), parece que la jalea real no desempeña un papel importante en el perfil aromático del turrón ALP enriquecido con jalea real.

5.2.4. Evaluación sensorial

El flavor de la jalea real a pesar de no ser intenso resulta determinante en los siguientes atributos: astringente, acidez, picante y/o penetrante, especiado y/o



rancio. Al *trans*-cinamaldehído, compuesto más abundante, se le atribuye un intenso sabor a especia e incluso un sabor penetrante o acre. La adición de la jalea real influye más en el sabor que en el aroma del turrón ALP, debido a su baja intensidad aromática.

5.3. EFECTOS DEL CONSUMO DE TURRÓN ENRIQUECIDO CON INULINA DURANTE 5 SEMANAS SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO DE LOS CONSUMIDORES.

5.3.1. Composición del turrón de Jijona y turrón de Jijona con inulina

Los resultados obtenidos de los análisis fisicoquímicos y microbiológicos que se realizaron al turrón de Jijona (TJ) y al turrón de Jijona enriquecido con inulina (TJI) mostraron que ambos cumplen con la Reglamentación Técnico Sanitaria (R.T.S.) para la elaboración, circulación y venta de turrones y mazapanes (R.D. 1787/82).

Tanto en el TJ como en el TJI, el <u>contenido total de grasas</u> fue significativamente superior (p < 0.05) que el mínimo (34 %) establecido por la R.T.S. Este límite es establecido para asegurar un contenido mínimo de almendra en la formulación de este producto.

También se incluyó en este estudio el turrón de Jijona sin azúcar; ya que es uno de los productos que más demandan los consumidores y que mejor futuro parece tener.

5.3.2. Evaluación sensorial

En el <u>test de preferencia</u> el 64 % de los consumidores encuestados prefirieron el turrón de Jijona puesto que eran consumidores habituales del producto durante las fiestas navideñas, el 24 % prefirió el turrón de Jijona con inulina y el 12 % prefirió el turrón de Jijona sin azúcar.

Del mismo modo que el test de preferencia, la <u>medición del grado de</u> <u>satisfacción</u> mostró que el turrón que obtuvo la máxima puntuación fue el turrón de



Jijona (2,3 \pm 0,3), seguido del turrón de Jijona con inulina (1,3 \pm 0,2) y finalmente el turrón de Jijona sin azúcar (0,7 \pm 0,2).

Por tanto, una de las conclusiones obtenidas de este estudio es que la inulina proporciona a las muestras de turrón mejores resultados, (en las pruebas de preferencia y en la medición del grado de satisfacción), que los edulcorantes artificiales, como el maltitol y xilitol, utilizados en la elaboración del turrón de Jijona sin azúcar.

5.3.3. Intervención dietética

El objetivo de este estudio fue analizar el efecto del consumo moderado de turrón sobre la salud del consumidor.

Treinta y dos voluntarios reclutados para el estudio consumieron 30 g de turrón de Jijona (grupo 1) y turrón de Jijona con inulina (grupo 2) durante cinco semanas. Los parámetros estudiados antes y después del consumo de turrón fueron: colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicéridos y hemoglobina glicosilada.

No se detectaron cambios significativos en el colesterol total, triglicéridos y colesterol HDL de los voluntarios tras el consumo de TJ y TJI. Sin embargo, se observó una ligera reducción pero significativa del colesterol LDL en el grupo que consumió TJ pero no en el que consumió TJI. Finalmente, la hemoglobina glicosilada aumentó significativamente en los consumidores de TJ aunque permaneció invariable entre los consumidores de TJI.

El contenido graso en el TJ es de gran importancia debido a las características que le aporta al producto en cuanto a sabor, aroma, textura, estructura y grado de aceptación por parte del consumidor (Lluch *et al.*, 1992; Martinez-Navarrete *et al.*, 1996). Por otra parte, el contenido graso es probablemente el factor que limita el consumo habitual de este producto por el consumidor potencial (Verdú *et al.*, 2007).

Debido a esto, inicialmente cabe esperar que un producto funcional, como el TJI, podría suponer una alternativa en el control del perfil lipídico del consumidor puesto que la inulina es una fibra dietética capaz de limitar la absorción de



colesterol en el intestino. Así pues, podría extenderse el consumo de turrón más allá del periodo navideño.

Sin embargo, el tradicional TJ es eficiente en el control del colesterol LDL cuando su consumo es moderado tal y como mostró este estudio. Aunque la adición de inulina fue inicialmente concebida para este propósito, no se pudo observar el mismo efecto entre los consumidores de TJI. Esta discrepancia pudo ser debida al perfil lipídico inicial de la población estudiada. Teniendo en cuenta lo anterior, estudios que han evaluado previamente los efectos de la inulina en el control del perfil lipídico muestran que la administración de esta fibra tiene efectos modestos en sujetos con normolipidemia mientras que tiene efectos más evidentes en pacientes con hiperlipidemia; estas observaciones coinciden con las reflejadas en el presente estudio. Otros estudios, (Leteixer et al., 2003), muestran que un consumo de 10 g/día de inulina reduce significante los niveles de triglicéridos. El consumo planificado en este estudio (30 g/día) de TJI proporciona 2 g/día de inulina por lo que dicha cantidad no sería alcanzada y tampoco sería viable incrementar la cantidad de inulina en el producto puesto que se ha observado que ésta podría modificar negativamente la estructura del turrón, afectando a la aceptación del consumidor y consecuentemente a la comercialización del mismo.

Por otra parte, el TJI fue mejor valorado que el TJ sin azúcar, el cual se encuentra disponible en el mercado, y peor valorado que el TJ. Posiblemente esto último se deba a que el consumidor consume regularmente este producto y suele rechazar o dar una menor puntuación a los productos nuevos o poco conocidos; es decir, la primera respuesta de un consumidor ante un producto nuevo es de rechazo.

Finalmente es importante resaltar que se observó que el TJI fue eficiente en el mantenimiento de la hemoglobina glicosilada por lo que sería una opción para aquellos consumidores que deseen controlar su glucemia.

Nuestros <u>objetivos</u> eran estudiar la posibilidad de incorporación de sustancias con carácter funcional a diferentes tipos de turrón sin alterar significativamente sus propiedades sensoriales, elaborar perfiles aromáticos de los mismos y determinar los efectos de la intervención nutricional de TJI sobre el perfil lipídico del consumidor.

Los <u>principales resultados</u> que hemos obtenido en esta tesis doctoral son:



En el <u>primer artículo</u> alcanzamos el primero de los objetivos puesto que la incorporación de propóleo no afectó a las propiedades sensoriales del turrón a la piedra. Para ello la determinación del umbral de detección del propóleo fue determinante, puesto que el propóleo posee un flavor desagradable. El turrón a la piedra con propóleo aporta 50 mg de propóleo por cada 100 g de producto, esto supone el 50 % de la RDI del propóleo. Comparando el propóleo con la miel, podemos afirmar que el turrón a la piedra con propóleo es de calidad superior al turrón ALP tradicional e incluso otros como el turrón de Jijona y Alicante. Los resultados obtenidos de la evaluación del perfil aromático del turrón ALP con propóleo revelan en primer lugar, que éste es más aromático que el turrón de Jijona y Alicante debido a la raspadura de limón y a la canela usados en su formulación. La adición de <u>propóleo al 0,050 %</u> no varió significativamente el perfil aromático del turrón ALP tal y como se esperaba.

Los resultados obtenidos en el <u>segundo artículo</u> son similares al primero puesto que la jalea real, entendida como sustancia funcional, incorporada al turrón ALP no afecta a las características sensoriales de éste. El turrón a la piedra enriquecido (<u>1 % de jalea real</u>) aporta 1000 mg de propóleo por cada 100 g de producto. Por tanto, 20 g de producto cubren el 100 % de la RDI. De igual modo que el propóleo, la jalea real resulta idónea para ser incorporada en el turrón ALP debido a que en comparación con la miel, el turrón ALP enriquecido es de calidad superior que el turrón tradicional e incluso que el turrón de Alicante y Jijona. Debido a la baja intensidad aromática de la jalea real, la concentración de volátiles en el turrón ALP con jalea depende prácticamente de la raspadura de limón y la canela. Sin embargo influye más en el sabor.

El <u>tercer artículo</u> reveló que el turrón de Jijona fue el preferido por los consumidores encuestados, seguido por el turrón de Jijona con inulina que obtuvo mayor puntuación que el turrón de Jijona sin azúcar (disponible en el mercado). Se evaluó la incidencia del consumo de TJ y de TJI sobre el perfil lipídico y hemoglobina glicosilada. Los resultados mostraron que el colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos permanecieron sin cambios significativos tras cinco semanas consumiendo 30 g de TJ y TJI. Por otro lado, se observó una ligera reducción pero significativa del colesterol LDL tras el consumo de TJ pero no de TJI. Inicialmente la incorporación de inulina al turrón de Jijona tuvo como objetivo intervenir positivamente en el control del colesterol LDL. Sin embargo, se pudo observar que



Funcionalización de Turrón Protegido: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

el TJ ya es eficiente por sí mismo en el control del colesterol LDL cuando su consumo es moderado. Este inesperado resultado pudo deberse al perfil lipídico inicial del grupo intervenido y a la cantidad de inulina aportada por el turrón de Jijona. No es viable incorporar una cantidad mayor de inulina (5 %) al turrón de Jijona puesto que modifica la estructura de éste repercutiendo negativamente en la aceptación del consumidor. Finalmente, se observó que los consumidores de TJI mantenían los niveles de hemoglobina glicosilada por lo que el TJI resulta interesante en el control de la glucemia.











6. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones obtenidas en esta tesis doctoral son las siguientes:

- 1. Las <u>concentraciones de propóleo y jalea real</u> seleccionadas para adicionar al turrón a la piedra sin modificar las principales propiedades sensoriales de éste fueron 0,05 % y 1,0 %, respectivamente.
- 2. La <u>concentración de inulina</u> seleccionada para adicionar al turrón de Jijona sin alterar significativamente la textura del mismo fue del 5 %.
- 3. Tanto en el turrón ALP con propóleo como en el turrón ALP con jalea real, los principales compuestos volátiles, terpenos y terpenoides, son originados por la raspadura de limón y la concentración total de éstos representa más del 90 % del contenido total de los compuestos volátiles detectados experimentalmente. Sin embargo, otros compuestos podrían desempeñar un papel importante en el aroma final del turrón ALP debido a su bajo umbral de detección, por ejemplo, los aldehídos. Según el análisis sensorial descriptivo, en ambos turrones, turrón ALP con propóleo y turrón ALP con jalea real, los atributos que caracterizan estas confecciones son limón, tostado, almendrado, dulce, canela y postgusto. Por otro lado, la adición de jalea real incrementa ligeramente los atributos: rancio, ácido y penetrante o acre (estos atributos fueron detectados por el panel entrenado pero no por el panel de consumidores). El análisis sensorial e instrumental del turrón ALP con propóleo y del turrón ALP con jalea real demuestran el papel predominante de los compuestos derivados del limón en el aroma del producto. La <u>adición de propóleo y jalea</u> real al turrón ALP <u>no cambia</u> significativamente ni el perfil aromático ni las propiedades sensoriales del mismo.
- 4. El turrón ALP enriquecido con propóleo aporta <u>50 mg de propóleo por cada</u> <u>100 g de producto</u>. En el caso del turrón ALP con jalea real, éste aporta <u>1000 mg de jalea real por cada 100 g de turrón</u> ingerido.
- 5. El <u>turrón ALP enriquecido</u> con propóleo o jalea real podría ser de <u>calidad</u> <u>superior</u> que el turrón ALP tradicional y otros turrones que usan miel en su



formulación como el turrón de Jijona y turrón de Alicante debido a las propiedades funcionales de estos ingredientes.

- 6. El turrón de Jijona con inulina (TJI) recibe elevados valores de aceptabilidad, confirmando la viabilidad del TJ con la incorporación de inulina como nuevo ingrediente. El TJI obtiene mejores resultados en las pruebas de preferencia y medición del grado de satisfacción que el turrón de Jijona sin azúcar, por lo que resulta una alternativa muy interesante. La formulación del TJI permite diversificar este tipo de turrones "saludables" disponibles en el mercado.
- 7. El TJ es eficiente en el control del <u>colesterol LDL</u> cuando su consumo es moderado; no se han obtenidos estos resultados en el consumo de TJI. Sin embargo, las causas pueden deberse al perfil lipídico inicial de la población intervenida.
- 8. Los <u>beneficios</u> que aporta el añadir el ingrediente inulina al turrón de Jijona tienen que ver con el mantenimiento o disminución en el marcador bioquímico de hemoglobina glicosilada. El <u>TJI</u>, a diferencia de su homologo tradicional, podría ser beneficioso para aquellos grupos de población que deseen tener un <u>control glucémico</u> como es el caso de los diabéticos.

Esta Tesis Doctoral es el primer estudio en la literatura científica sobre intervención nutricional con turrón de Jijona, siendo objeto de estudio el efecto del consumo de turrón sobre la salud del consumidor. Es también el primer estudio en el cual las compañías turroneras intentan cambiar la matriz de sus productos protegidos incorporando nuevos ingredientes.

El TJI ha sido <u>comercializado</u> en el mercado español y en el mercado internacional. Los datos proporcionados por la empresa *Pablo Garrigós Ibáñez S.L.* muestran que el 87 % las ventas de este nuevo producto han correspondido al mercado nacional, mientras que el 13 % han sido ventas realizadas en Emiratos Árabes Unidos (13 %), México (18 %), Estados Unidos (38 %) y Australia (4 %). Además, estos resultados dan pié a estudios futuros en los que se trate de mejorar los nuevos productos, haciendo éstos más cercanos al turrón tradicional pero con las ventajas de su funcionalización.

BIBLIOGRAFÍA Maguel Hermández





7. BIBLIOGRAFÍA

Α

- Abellán, G., Villanueva, M., & Álvaro, P. (1997). Discriminant analysis of Jijona nougat qualities. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung* 205: 274-276.
- Abrams, S. A., Griffin, I. J., Hawthorne, K. M., Liang, L., Gunn, S., Darlington, G. & Ellis, K. J. (2005). A combination of prebiotic short and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *American Journal of Clinical Nutrition* 82: 471-476.
- Abrams, S.A., Hawthorne, K.M., Aliu, O., Hicks, P.D., Chen, Z. & Griffin, I. J. (2007). An inulin-type fructan enhances Calcium absorption primarily via an effect on colonic absorption in humans. *The Journal of Nutrition* 137(10): 2208-2212.
- AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación). (1997). *Análisis Sensorial. Norma UNE*. AENOR, Madrid.
- Alasalvar, C., Shahidi, F. & Cadwallader, K.R. (2003). Comparison natural and roasted Turkish tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) volatiles and flavor by DHA/GC/MS and descriptive sensory analysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51: 5067-5072.
- Asís, M. (1993). *Apiterapia para Todos, como Usar los Siete Productos de la Colmena para Curar*. Editorial Científico-Técnica, La Habana (Cuba).
- Asís, M. (2005). *Propóleo, el Oro Púrpura de las Abejas*. Editorial CIDA, La Habana (Cuba).

В

- Blázquez Abellán, G., Díaz Marquina, A., & Orzáez Villanueva, M.T. (1996). Turrón de Jijona: Comercialización, venta y consumo. *Alimentaria* Abril: 117-121.
- Blázquez Abellán, G., Orzáez Villanueva, M. T., & Díaz Marquina, A. (1996).

 Denominación Específica Jijona. *Alimentaria* Abril: 123-125.
- Bankova, V. (2005). Review: recent trends and important developments in propolis research. *eCAM* 2:29-32.



- Banskota, A.H., Tezuka, Y. & Kadota, Sh. (2000). Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy Research* 15: 561-571.
- Boi, M. (2006). Las abejas al descubierto. Vida Apícola 140: 21-23.
- Broto, P. & Mañé M. 1998. La jalea real en la salud humana. *Vida Apícola* 87: 20-23.
- Burdock, G.A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food and Chemical Toxicology* 36: 347-363.

C

- Carbonell- Barrachina, A.A., García, E., Sánchez-Soriano, J., Aracil, P. & Burló, F. (2002). Effects of raw materials, ingredients and production lines on arsenic and copper concentrations in confectionery products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 3738-3742.
- Chaintreau, A. (2001). Simultaneous distillation-extraction: from birth to madurity-review. *Flavour and Fragance Journal* 16: 136-148.
- Chiralt Boix, A., Martinez Navarrete, N., Barat Baviera, J.M., Martinez Monzo, J. & Fito Maupoey, P. (1999). *Aplicación de nuevas tecnologías para la elaboración del turrón de Jijona*. Editorial Generalitat Valenciana, Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació, Valencia.
- Chiralt, A., Galotto, M.J. & Fito, P. (1991). Changes in rheological properties and particle-size distribution during the manufacture of "Xixona turrón". *Journal of Food Engineering* 14: 117-128.
- CRIGPJTA. (2001). Consejo Regulador de las Indicaciones Geográficas Protegidas

 Jijona y Turrón de Alicante, Jijona (Alicante).

D

- Dayon, M. & Labrecque, J.A. (2008). Functional foods: a conceptual definition. *British Food Journal* 110(11): 1133-1149.
- De Hond, E.M., Geypens, B.J., & Ghoos, Y.F. (2000). Effect of long chicory inulin on bowel habit and transit time in constipated persons. *Nutrition Research* 20: 731-736.



- De Luis, D. A., De la Fuente, B., Izaola, B., Conde, R., Gutierrez, S., Morillo, M. & Teba Torres, C. (2010). Ensayo clínico aleatorizado con una galleta enriquecida en inulina en el patrón de riesgo cardiovascular de pacientes obesos. *Nutrición Hospitalaria* 25(1): 53-59.
- Del Cueto, D. (1994). Miel, polen y jalea real, fuentes de alimentación, salud y belleza. *Vida Apícola* 65: 44-51.

Ε

Ellegard, L., Andersson, H. & Bosaeus, I. (1997). Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, and the excretion of cholesterol, Fe, Ca, Mg, and bile acids but increase energy excretion in man. A blinded, controlled cross-over study in ileostomy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition* 51: 1-5.

F

Fert, G. (2001). Producción de Jalea Real. Vida Apícola 106: 35-40.

G

- Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X. & Cummings, J.H. (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 108: 975-982.
- Gómez, A. (1994). Otra de tipos de colmenas, Layens o Dadant. *Vida Apícola,* 68, 22-24.
- González, A. & Bernal, R. (1997). *Propóleos: un camino hacia la salud*. Editorial Pablo de la Torriente, La Habana (Cuba).

н

- Hladon, B., Bylka, W. & Ellnain-Wojtaszek, M. (1980). In vivo studies on the cytostatic activity of propolis extracts. *Arzneimittelforschung* 30: 1847-1848.
- Holloway, L., Moynihan, S., Abrams, S.A., Kent, K., Hsu, A.R. & Friedlander, A.L. (2007). Effects of oligofructose-enriched inulin on intestinal absorption of calcium and magnesium and bone turnover markers in postmenopausal women. *British Journal of Nutrition* 97(2): 365-372.



Κ

- Kalogeropoulos, N., Konteles, S., Troullidou, E., Mourtzinos, I. & Karathanos, V.T. (2009). Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry* 116: 452-461.
- Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Heliovaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T. & Aromaa, A. (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *The American Journal of Clinical Nutrition* 76: 560–568.
- Krumbein, A. & Auerswald, H. (2000). Aroma volatiles in tomato varieties-instrumental, sniffing and quantitative descriptive analysis. In: *Frontiers of Flavour Science* (edited by P. Schieberle & K.H. Engel, Germany) 51-55, Garching, Germany: Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie.
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R. & Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Ethnopharm* 64: 235-240.

L

- Leteixer, D., Diraison, F. & Beylot, M. (2003). Addition of inulin to a high carbohydrate diet reduces hepatic lipogenesis and plasma triacylglycerol concentration in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 77: 559-564.
- Lluch, M.A., Galotto, M.J. & Chiralt, A. (1992). Scanning electron microscopy studies of a typical Spanish confectionery product: "Xixona turrón". *Food Structure* 11: 181-186.

М

- Machado, J.M., Martinez, A.S. & Torres, E. (1991). Acción del propóleo contra algunos virus de los animales domésticos. *Revista Cubana de Ciencias Veterinarias* 22(1): 25-30.
- Maidana, J. (1999). Propóleos. Características físicas en relación a la procedencia y origen vegetal. *Vida Apícola* 95: 21-27.
- Martinez-Navarrete, N., Fito, P. & Chiralt, A. (1996). Influence of conditions of manufacture and storage time on the textural characteristics of Xixona turrón. *Food Control* 7: 317-324.



- Menne, E., Guggenbuhl, N. & Roberfroid, M. (2000). Fn-type inulin hydrolyate has a prebiotic effect in humans. *Journal of Nutrition* 130: 1197-1199.
- Menrad, K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering* 56: 181-188.
- Meilgaard, M., Civille, G.V. & Carr, B.T. (1999). Sensory evaluation techniques. Editorial CRC Press, Boca Raton, Florida.
- MSC (Ministerio de Sanidad y Consumo). (1985). Turrón y Mazapán. En: *Análisis de alimentos. Métodos oficiales y recomendados por el centro de Investigación y Control de la Calidad*. MSC: 467-476, Madrid.

Ν

- Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H. & Suzuki, N. (2001). Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly and propolis. *Food Chemistry* 75: 237-240.
- Nagai, T. & Inoue, R. (2004). Preparation and functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food Chemistry* 84: 181-186.
- Narita, Y., Nombra, J., Ohta, S., Inoh, Y., Suzuki, K.M., Araki, Y., Okada, S., Matsumoto, I., Isohama, Y., Abe, K., Miyata, T. & Mishima, S. (2006). Royal jelly stimulates bone formation: physiologic and nutrigenomic studies with mice and cell lines. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 70(10): 2508-2514.

O

OPA La Unió de Llauradors (Organización Profesional Agraria). (2011). La crisis de la almendra. Disponible en: http://www.gastronomiaycia.com/2011/10/26/lacrisis-de-la-almendra/ (último acceso en enero de 2014).

Ρ

- Palou, A., Serra, F. & Pico, C. (2003). General aspects on the assessment of functional foods in the European Union. *European Journal of Clinical Nutrition* 57: 12-17.
- Pérez-López, A.J., López-Nicolás, J.M. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2007). Effects of organic farming on mineral contents and aroma composition of Clemenules mandarin juice. *European Food Research and Technology* 225: 255-260.



R

- Rao, V.A. (2001). The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutrition Research* 21(6): 843-848.
- Roberfroid, M. (2005). Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition* 93(1): 13-25.
- Roberfroid, M. (2007). Inulin-type fructans: functional food ingredients. *Journal of Nutrition* 137(11): 2493-2502.
- Rojas, N.M. & Lugo, S. (1988). Efecto antifúngico del propóleo sobre cepas del genero cándida. En: *Investigaciones Cubanas sobre el propóleo* 42-54. Consejo científico del instituto de medicina veterinaria, Matanzas (Cuba).
- RTS. (1982). Reglamentación Técnico Sanitaria para la elaboración, circulación y venta de turrones y mazapanes. Real Decreto 1787/82. (Boletín Oficial del Estado, BOE 2/08/82) modificado por el R.D. 1167/90 (BOE 26/09/90), Madrid.

S

Serra Bonvehi, J. (2005). Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. *European Food Research and Technology* 221: 19-29.

Т

Tuohy, K.M., Finlay, R.K., Wynne, A.G. & Gibson, G.R. (2001). A human volunteer study on the prebiotic effects of HP-inulin-faecal bacteria enumerated using fluorescent in situ hybridisation (FISH). *Anaerobe* 7: 113-118.

٧

- Vázquez, L., Verdú, A., Miquel, A., Burló, F. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2007). Changes in physico-chemical properties, hydroxymethylfurfural and volatile compounds during concentration of Money and sugars in Alicante and Jijona turrón. *European Food Research and Technology* 225: 757-767.
- Vázquez-Araújo, L., Enguix, L., Verdú, A., García-García, E., Carbonell-Barrachina, A.A. (2008). Investigation of aromatic compounds in toasted almonds used



- for the manufacturing of turrón. *European Food Research and Technology* 227: 243-254.
- Verdú, A., Serrano-Megias, M., Vázquez-Araújo, L., Pérez-López, A.J. & Carbonell-Barrachina, A.A. (2007). Differences in Jijona turrón concepts between consumers and manufacturers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 2106-2111.
- Villegas, G. (2010). Turrones y Dulces de Navidad: El ahorro en las cestas amarga la fiesta. Disponible en: http://www.alimarket.es/noticia/43739/Turrones-y-Dulces-de-Navidad--El-ahorro-en-las-cestas-amarga-la-fiesta (último acceso en enero de 2014).















8. ANEXOS

ANEXO I: COMUNICACIONES A CONGRESOS

Las comunicaciones a congresos derivadas de esta Tesis Doctoral son las siguientes:

Narbona, E., Fuentes, E., Roche, E., Carbonell-Barrachina, A.A. & García-García, E. (2007). Elaboración de turrón blando con inulina. Presentación póster y ponencia. *V Congreso Nacional de la Sociedad Española de Dietética, Madrid.*

Alcaraz, C., Narbona, E., García-Redón, E., Carbonell-Barrachina, A.A. & García-García, E. (2008). Elaboración de turrón a la piedra con jalea real. Presentación póster. *XIII Congreso Anual en Ciencia y Tecnología, CYTALIA, Madrid.*

Narbona, E., Alcaraz, C., Fuentes, E., Carbonell-Barrachina, A.A. & García-García, E. (2008). Elaboración de turrón a la piedra con propóleo. Presentación póster. *XIII Congreso Anual en Ciencia y Tecnología, CYTALIA, Madrid.*

Narbona, E., García-García, E., Fuentes, E., Cirici, M. & Aranceta, J. (2008). Elaboración de turrón de Jijona con inulina. *VI Congreso Internacional de Alimentación, Nutrición y Dietética, Madrid. Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria* 28 (1): 76-76.

Narbona, E., Fuentes, E., Roche, E., Carbonell-Barrachina, A.A. & García-García, E. (2009). Elaboración de turrón blando con inulina. Presentación póster. *V Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Murcia.*







ISSN 0211-6057

nutrición clínica

Dietética Hospitalaria

Nutr Clin Diet Hosp 2008; 28(supl. 1)

VI Congreso Internacional alimentación, nutrición y dietética

III Simposio de alimentos funcionales

















