Contribución de la manzana y la sidra al consumo de antioxidantes y su relación c on biomarcadores del estado de salud

Juan Alfonso Linares García

Cuadernos de la Cátedra
de la Sidra de Asturias Nº 4

Universidad de Oviedo

Contribución de la manzana y la sidra al consumo de antioxidantes y su relación con biomarcadores del estado de salud

Juan Alfonso Linares García

Cuadernos de la Cátedra de la Sidra de Asturias Nº 4

Reconocimiento-No Comercial-Sin Obra Derivada (by-nc-nd):
No se permite un uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas.

Usted es libre de copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, bajo las condiciones siguientes:

Reconocimiento – Debe reconocer los créditos de la obra de la manera especificada por el licenciador:

Juan Alfonso Linares García. Luis Benito García Álvarez (Responsable de edición) (2023).
Contribución de la manzana y la sidra al consumo de antioxidantes y su relación con biomarcadores del estado de salud.
Universidad de Oviedo.

La autoría de cualquier artículo o texto utilizado del libro deberá ser reconocida complementariamente.

No comercial – No puede utilizar esta obra para fines comerciales.

Sin obras derivadas – No se puede alterar, transformar o generar una obra derivada a partir de esta obra.
© 2022 Universidad de Oviedo
© Los autores

Algunos derechos reservados. Esta obra ha sido editada bajo una licencia Reconocimiento-No comercial-Sin Obra Derivada 4.0 Internacional de Creative Commons.
Se requiere autorización expresa de los titulares de los derechos para cualquier uso no expresamente previsto en dicha licencia. La ausencia de dicha autorización puede ser constitutiva de delito y está sujeta a responsabilidad.
Consulte las condiciones de la licencia en: https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode.es

Edita: Cátedra de la Sidra de Asturias y Universidad de Oviedo
Maquetación: lloviendoletras | Impreso en España

Servicio de Publicaciones de la Universidad de Oviedo
Edificio de Servicios - Campus de Humanidades
ISNI: 0000 0004 8513 7929
33011 Oviedo - Asturias
985 10 95 03 / 985 10 59 56
servipub@uniovi.es
www.publicaciones.uniovi.es

ISBN: 978-84-18482-76-2
DL: AS 03460-2022

Universidad de Oviedo

Contribución de la manzana y la sidra al consumo de antioxidantes y su relación con biomarcadores del estado de salud

Autor:
Juan Alfonso Linares García

Director:
Luis Benito García Álvarez

Máster Universitario en Biotecnología Alimentaria

Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, electricidad y la energía atómica: la voluntad

Albert Einstein

Agradecimientos

A la Dra. Sonia González Solares del Área de Fisiología (Departamento de Biología Funcional) de la Universidad de Oviedo por haberme dirigido y confiado para la realización de este estudio, además de haberme enseñado tanto.

A todo el grupo de investigación de la Dra. Sonia González Solares, especialmente el laboratorio 12 del área de fisiología en la facultad de medicina, por haberme ayudado y enseñado a realizar parte de los análisis de este trabajo y por haber tenido paciencia conmigo desde el primer día, dedicando parte de su tiempo.

A la Cátedra de la Sidra de Asturias por haberme permitido realizar este proyecto. A todos los voluntarios que han participado en el presente estudio.

A mi familia, por haberme cuidado desde siempre.

A mi primo, amigo, biotecnólogo e investigador Juan José Alba Linares del CINN-ISPA- IUOPA, por haberme siempre ayudado cuando ha podido.

A mis amigos del Grado de Biología, por todo el tiempo compartido en los 4 años.

A mis amigos del Máster de Biotecnología Alimentaria, por vivir la experiencia de un año tan fantástico.

A mis amigos de Asturias de toda la infancia, por haber construido una amistad tan larga, Sergio, Rubén, Diego, Álvaro, Pelayo, Jorge y Nacho.

A mis amigos del Conservatorio Profesional de Música, por haber establecido toda una disciplina en mí.

A todo el Club de MiraVerAhí por haber pasado tantas tardes inolvidables.

A todos ellos,

Índice

Investigación sobre dieta y salud en el Principado de Asturia 17

Resumen 19

Abstract 21

1. Introducción 23
1.1 Objetivos 24

2. Consideraciones teóricas y experimentales 25
2.1 Efectos beneficiosos de la manzana sobre la salud 25
2.2. Derivados de la manzana: La sidra 26
2.3. Componentes de la manzana: Polifenoles 27
2.4. Componentes de la manzana: Fibras 33
2.5. Mecanismos de acción 33
2.6. La microbiota. Posible nexo en la interacción manzana-salud 37

3. Metodología 39
3.1. Caracterización de la muestra 39
3.2. Evaluación nutricional 40
3.3. Análisis bioquímicos de sangre 40
3.4. Análisis microbiológicos y parámetros asociados a la microbiota 41
3.5. Análisis estadístico 41
3.6. Estimación de polifenoles en manzana y sidra 42
3.7. Estimación de los componentes mayoritarios de la manzana de sidra asturiana 44
3.8. Representaciones gráficas 44

4. Resultados 45
4.1. Estudio descriptivo de la muestra 45
4.2. Composición de la manzana de sidra asturiana 46
4.3. Polifenoles totales de la manzana y de la sidra 47
4.4. Principales grupos de polifenoles de la manzana y de la sidra 49
4.5. Asociaciones entre el consumo de manzana o sidra frente a biomarcadores y microbiota 50
4.6. Asociaciones entre la fibra alimentaria de la dieta frente a biomarcadores y microbiota 51
4.7. Asociaciones entre los principales grupos de polifenoles frente a biomarcadores y microbiota 52

5. Conclusión 54

6. Abreviaturas, siglas, acrónimos y símbolos 55

7. Bibliografía 56

Índice de figuras

Figura 1. Fórmula estructural de los dos grupos principales de ácidos fenólicos 28

Figura 2. Estructuras básicas del esqueleto de los diferentes tipos de flavonoides 29

Figura 3. Clases, subclases, y fuentes naturales de flavonoides 32

Figura 4. Vía para la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs) 34

Figura 5. Mecanismos de antiglicación de los polifenoles 36

Figura 6. Distintos componentes del peso seco de la manzana de sidra asturiana 47

Figura 7. Representación de los polifenoles procedentes de la manzana frente al total de polifenoles que aportan todos los alimentos de la dieta 48

Figura 8. Representación de los polifenoles procedentes de la sidra asturiana frente al total de polifenoles que aportan todos los alimentos de la dieta 48

Figura 9. Tipos de polifenoles presentes en la manzana 49

Figura 10. Tipos de polifenoles presentes en la sidra 50

Figura 11. Ilustración en el heatmap de las asociaciones del consumo de manzana y sidra 51

Figura 12. Ilustración en el heatmap de las asociaciones de fibra alimentaria total, soluble e insoluble dietética 52

Figura 13. Ilustración en el heatmap de las asociaciones de los polifenoles totales y las principales familias de polifenoles 53

Índice de tablas

Tabla 1. Efectos antiglicantes de los polifenoles 37

Tabla 2. Estudio descriptivo de la muestra con consumidores o no de sidra o manzana 45

Tabla 3. Representación de las medias de polifenoles provenientes del consumo de sidra, manzana y de la dieta global de los individuos 47

Investigación sobre dieta y salud en el Principado de Asturias

Tutores: Sonia González y Miguel Gueimonde

Según los datos registrados por el Observatorio de Salud en Asturias el cáncer y las enfermedades cardiovasculares, representan las principales causas de mortalidad en población adulta de ambos sexos. La aparición de estas patologías crónicas se ve influida por factores de diferente naturaleza, incluyendo factores genéticos, ambientales y del estilo de vida. Dentro de estos últimos, la dieta juega un papel esencial en la prevención de las enfermedades no trasmisibles. Algunos autores señalan que la alimentación, junto con el hábito tabáquico y el consumo de alcohol, pueden explicar casi dos terceras partes de los casos de cáncer. Esto ha despertado el interés de la comunidad científica que trata de identificar a los compuestos responsables de dicha asociación y de explorar los mecanismos a través de los cuales los alimentos, o determinados componentes de los mismos, podrían ayudar a prevenir el desarrollo de diversas enfermedades.

Es por todos conocida la frase "Que el alimento sea tu medicina y la medicina tu alimento", acuñada por Hipócrates (460- 370 a.c.) en alusión al efecto la dieta sobre nuestra salud. De entre la extensa variedad de alimentos generalmente asociados con la salud es muy posible que, si realizásemos una encuesta preguntando que alimentos específicos pueden tener un efecto beneficioso, un elevado porcentaje de respuestas incluiría a la manzana. Sin embargo, pese a la producción de un amplio repertorio de variedades de manzana en Asturias, han tenido que ser los ingleses los que han popularizado esta idea, mediante el dicho popular "One apple a day keeps the doctor away". Sin embargo, incluso a día de hoy también perduran algunas cuestiones sin resolver; las propiedades atribuidas a la manzana ¿Son empirismo o ciencia? ¿Son mito o realidad?. El trabajo que se presenta en este texto tiene como objeto desvelar algunas de estas estas cuestiones.

La investigación realizada se ha articulado a través de dos aspectos fundamentales. Por un lado, la cuantificación del consumo de manzana y sus

principales derivados en la población asturiana. Por otro, el análisis de distintos parámetros relacionados con la salud en la sangre o en las heces de los voluntarios que han participado en el estudio.

Si hay algo que ha caracterizado la transición en la investigación en el campo de la nutrición en las últimas décadas es el desarrollo de técnicas analíticas. Esto nos ha permitido saber que, en función del tipo de manzana, variedad y color, el contenido en determinados compuestos con actividad antioxidante varía produciendo diferentes reacciones en el organismo. Mediante el uso de técnicas cromatográficas de alta precisión se han identificado un gran número de compuestos fenólicos con una alta actividad antioxidante en las diferentes variedades de manzana y sus derivados. Por este motivo, de la plétora de compuestos que se podrían analizar en sangre se han seleccionado aquellos relacionados principalmente con el estrés oxidativo. No obstante, cabe señalar que uno de los grandes retos de la investigación en nutrición y salud es, precisamente, que los componentes, beneficiosos o no, no se consumen aislados. En el caso que nos ocupa, junto con los polifenoles de la manzana se ingieren importantes tipos de fibra dietética que también es un conocido mediador de la salud. Nuestro grupo de investigación lleva años explorando la asociación de ambos componentes con la composición de la microbiota intestinal, el eslabón central en este trabajo de investigación.

Bajo el término microbiota intestinal está representada toda la comunidad microbiana intestinal, incluyendo bacterias, hongos, arqueas y virus. Durante las últimas dos décadas el estudio detallado de esta microbiota intestinal ha permitido identificarla como un factor clave para el mantenimiento de la salud y un mediador clave en la acción que algunos alimentos beneficiosos pueden tener en la prevención de enfermedades.

Los resultados obtenidos en este Trabajo Fin de Máster prometen ser de gran utilidad para conocer la contribución de la manzana y sus derivados a la ingesta total de antioxidantes y fibra, así como para plantear diversas hipótesis que permitan avanzar en un futuro en el paradigma acerca de la relación entre el consumo de manzana y la salud, para como señala el refranero inglés “mantener alejado al doctor”

Resumen

Las manzanas son frutas que en su composición química contienen compuestos bioactivos de naturaleza fenólica denominados polifenoles, capaces de prevenir y ralentizar el envejecimiento celular, la oxidación atrapando radicales libres, y los derivados de las reacciones de Maillard. Uno de los principales derivados de la manzana es la sidra, una bebida producida a través del prensado y fermentado de la manzana, siendo Asturias el principal productor a nivel regional. El objetivo de este estudio fue valorar la asociación del consumo de manzana y derivados sobre diferentes marcadores relacionados con el estado de salud. Para ello, se analizó un grupo de 147 personas a las que se entrevistó mediante un cuestionario de frecuencia de alimentos. Posteriormente se realizaron análisis bioquímicos en sangre y microbiológicos en heces. Mediante un análisis estadístico utilizando el software IBM SPSS Statistics 27, se correlacionaron los biomarcadores relacionados con el estado de salud con el consumo de manzana y de sidra. A su vez se identificaron cuáles eran los principales componentes de la manzana asturiana y los principales polifenoles de la manzana y la sidra asturiana, mediante búsqueda bibliográfica para calcular la ingesta de polifenoles derivados de la manzana y la sidra en la muestra de estudio, a partir de la ingesta diaria de cada alimento en g/día y mL/día respectivamente. Nuestros resultados mostraron que la contribución de los polifenoles de manzana a la ingesta total de estos compuestos es muy importante, observándose relaciones positivas de estos compuestos con el ORAC antioxidante, fibras y pectinas, y negativas con la lipoperoxidación lipídica, y algunos grupos bacterianos como *Clostridium* y *Lactobacillus*.

Abstract

Apples are fruits that in their chemical composition contains bioactive compounds of a phenolic nature called polyphenols, capable of preventing and slowing down cellular aging, oxidation by trapping free radicals, and those derived from Maillard reactions. One of the main derivatives of the apple is cider, a drink produced by pressing and fermenting the apple, with Asturias being the main producer at the regional scene. The objective of this study was to assess the association of apple consumption and derivatives on different markers related to health status. To do this, a group of 147 people who were interviewed using a food frequency questionnaire was analyzed. Subsequently, biochemical analyzes in blood and microbiological analyzes in feces were performed. Through statistical analysis using IBM SPSS Statistics 27 software, biomarkers related to health status were correlated with apple and cider consumption. At the same time, the main components of the Asturian apple and the main polyphenols of the Asturian apple and cider were identified, through a bibliographic search to calculate the intake of polyphenols derived from apple and cider in the study sample, from of the daily intake of each food in g/day and mL/day, respectively. Our results showed that the contribution of apple polyphenols to the total intake of these compounds is very important, observing positive relationships of these compounds with the antioxidant ORAC, fibers and pectins, and negative relationships with lipid lipoperoxidation, and some bacterial groups such as *Clostridium* and *Lactobacillus*.

1. Introducción

La interacción de manzana y salud, comúnmente ha tenido connotaciones positivas, demostrando en varios estudios científicos efectos beneficiosos sobre el cáncer, la prevención de enfermedades cardiovasculares, y efectos protectores para nuestro intestino (Vallée Marcotte *et al.*, 2022). Uno de los principales derivados de la manzana en Asturias es la sidra, una bebida natural fermentada que se obtiene a partir del prensado y la fermentación de la manzana. Además del contenido en vitaminas como A y C con actividad antioxidante, dentro de los componentes principales de la manzana destacan los polifenoles y las fibras. El término polifenol engloba una alta cantidad de compuestos muy variados procedentes del reino vegetal que confieren color, aromas, astringencia a los alimentos además de atribuir propiedades antioxidantes (Santos-Buelga *et al.*, 2019). Mientras que en la manzana los principales polifenoles son: los ácidos hidroxicinámicos, los flavanoles y las dihidrocalconas siendo la floridzina exclusivo de esta fruta, en la sidra predominan los ácidos fenólicos (ácido gálico como principal representante), seguidos de los flavanoles, fenoles volátiles y dihidrocalconas. Otros de los componentes principales son las fibras, como la pectina asociada de forma positiva con la función intestinal.

Dentro de nuestro organismo y en los alimentos se originan las reacciones de Maillard, que generan productos finales de glicación avanzada (AGE) muy estables térmicamente capaces de influir negativamente sobre los vasos sanguíneos, envejecimiento y enfermedades crónicas (Shen *et al.*, 2020). Los polifenoles son capaces de interferir en diferentes puntos de este mecanismo de glicación para reducir o evitar la formación de estos compuestos con capacidad de dañar nuestro organismo. La microbiota es el conjunto de microorganismos comensales que colonizan nuestro cuerpo incluyendo bacterias, arqueas, virus y eucariotas unicelulares. La mayor población microbiana se encuentra en el intestino humano; en particular en el colon (Bäckhed *et al.*, 2004). Mientras que varios estudios han abordado el uso de las fibras alimentarias para modificar la microbiota intestinal, la información sobre otros componentes correlacionados, como los polifenoles, es escasa. Hasta la fecha, hay pocos estudios que se hayan centrado en las interacciones entre la ingesta de polifenoles y la microbiota: las pruebas de estudios en animales y humanos han demostrado que la suplementación con alimentos ricos en polifenoles, como el vino tinto, el té, el cacao o los arándanos, modula algunas poblaciones bacterianas

intestinales, pero los resultados no fueron concluyentes (Queipo- Ortuno *et al.*, 2012). Se sabe que la presencia natural de flavonoides en los alimentos y su interacción con otros componentes de la dieta, como las fibras, puede modificar el nivel de polifenoles disponibles para la microbiota intestinal (Vendrame *et al.*, 2011). En este sentido, es posible que las dihidrocalconas de las manzanas, junto con la fibra dietética, sean degradadas por el *Bifidobacterium*, favoreciendo su crecimiento. Este efecto de los polifenoles de las manzanas, previamente reportado en modelos animales y en humanos debería ser de especial interés para el mantenimiento de la salud (Sembries *et al.*, 2003) (Sembries *et al.*, 2006).

1.1. Objetivos

Los objetivos de este Trabajo Fin de Máster son:

a) Describir la ingesta de manzana y derivados en una muestra de sujetos adultos sin patologías declaradas.

b) Cuantificar los principales tipos de polifenoles procedentes de la manzana y/o sidra.

c) Estudiar el impacto del consumo de manzana, sidra o sus componentes bioactivos sobre diversos biomarcadores sanguíneos relacionados con el estado de salud.

d) Analizar la asociación del consumo de manzana, sidra o sus componentes bioactivos sobre la composición de la microbiota intestinal en los sujetos estudiados.

2. Consideraciones teóricas y experimentales

2.1. Efectos beneficiosos de la manzana sobre la salud

Siempre se le han atribuido efectos positivos en la salud al consumo de manzana debido a sus componentes y a sus propiedades nutricionales.

Varios estudios han relacionado específicamente el consumo de manzanas con un riesgo reducido de cáncer, principalmente el cáncer de pulmón (Boyer y Liu, 2004). En el Estudio de Salud de Enfermeras y el Estudio de Seguimiento de Profesionales de la Salud, en los que participaron más de 77 000 mujeres y 47 000 hombres, la ingesta de frutas y verduras se asoció con una reducción del 21 % en el riesgo de cáncer de pulmón en las mujeres, siendo las manzanas una de las frutas individuales asociadas con un menor riesgo de cáncer de pulmón (Feskanich *et al.*, 2000).

En un estudio en el que participaron 10.000 individuos, se observó una fuerte relación inversa entre la ingesta de flavonoides y el desarrollo de cáncer de pulmón siendo la manzana el único alimento inversamente relacionado con el riesgo de cáncer de pulmón (Knekt *et al.*,1996).

En el *Zutphen Elderly Study*, 728 hombres (de 65 a 84 años de edad) fueron estudiados para ver la relación entre las catequinas dietéticas y el cáncer epitelial. Como resultado se asoció el consumo de manzanas positivamente con una disminución de la incidencia de cáncer de pulmón epitelial. Además, también se mostró una asociación inversa entre los flavonoides de frutas y verduras y la incidencia total de cáncer y tumores del tracto alimentario y respiratorio (Arts *et al.*, 2001).

Según Sandoval-Ramírez *et al.*, el consumo regular de 100-150 g/día de manzanas enteras, es considerado una acción positiva para la prevención de las Enfermedades cardiovasculares (ECV) y la mortalidad por ECV. Además, la ingesta de manzanas propicia una mejora frente a diferentes factores de riesgo de ECV como la reducción de: la presión arterial, la presión de pulso, el colesterol total, el LDLc y el estado de inflamación, al tiempo que aumenta el HDLc y mejora la función endotelial. Esta información apoya el consumo regular de manzanas como un método eficaz para prevenir las enfermedades cardiovasculares (Sandoval-Ramírez *et al.*, 2020).

El consumo de manzanas también puede estar asociado con un menor riesgo de diabetes. En el estudio de 10,000 personas, se asoció un menor riesgo de diabetes tipo II con el consumo de manzanas, y una mayor ingesta de

quercetina, un componente principal de la piel de manzana. La ingesta de manzanas también se ha asociado con la pérdida de peso en 400 mujeres hipercolesterolémicas de mediana edad con sobrepeso en Brasil (de Oliviera *et al.*, 2003).

Se investigaron los efectos de las manzanas sobre las actividades enzimáticas y biológicas de la toxina colérica (CT). Cuando se identificó el extracto de polifenoles de manzana, se observó que, eran capaces de inhibir la toxina de una manera dosis dependiente siendo la catequina el principal compuesto inhibitorio (Saito *et al.*, 2002).

2.2. Derivados de la manzana: La sidra

En Europa, el término «sidra» se refiere a la bebida fermentada que se obtiene a partir de las manzanas. Su elaboración constituye una industria importante en países como el Reino Unido, su principal productor, seguido por Irlanda, Francia y España. Dentro de la Península Ibérica, Asturias, situada en la costa cantábrica del norte de España, es la principal región productora de sidra del país (alrededor del 80% del total) (Picinelli *et al.*, 2000).

El Código Alimentario Español (**BOE, 1979**) define la sidra como «una bebida elaborada a partir de la fermentación parcial o total del zumo de manzanas frescas o zumo concentrado de manzana, con una graduación alcohólica mínima del 4% (v/v)». Se incluyen dos tipos de sidra:

a) La sidra espumosa, elaborada a partir de zumo de manzana concentrado y/o mosto fresco de manzana, dónde se permite la adición de azúcares y anhídrido carbónico, así como la utilización de diferentes procesos de estabilización.

b) La sidra natural, que se elabora según los métodos tradicionales, que prohíbe la adición de azúcares y CO2, permitiendo el uso exclusivo de los jugos obtenidos a partir del prensado de las manzanas. Esta es una limitación para el proceso de producción, dependiendo de la disponibilidad de la materia prima (Picinelli *et al.*, 2000).

A pesar de ello, la elaboración de sidra tanto natural como espumosa, es una industria importante, con una producción media anual de más de 6 millones de litros elaborados en la región asturiana con denominación de origen protegida (DOP) en 2021. (Memoria Anual de actividades 2021, 2022).

La composición de la sidra se debe principalmente a la fermentación que es la base en la producción, y a otras cualidades como: la variedad de manzana, las condiciones de crecimiento, el cultivo de manzana, la etapa de maduración, el tipo de fermentación, las cepas de levadura, el equipo y el método de producción, y el uso de aditivos (Laaksonen *et al.*, 2017).

La sidra de manzana se ha caracterizado como una bebida funcional por su contenido rico en polifenoles bioactivos como la manzana, pero también por su microbioma natural que afecta de forma beneficiosa a la microbiota intestinal. Por lo tanto, los beneficios para la salud asociados con las manzanas y sus productos fermentados, como la sidra, posiblemente se atribuyen a su alto contenido de bioactivos, ya que son abundantes en minerales, potasio y magnesio, y son una rica fuente predominantemente de vitamina C y E, alto contenido de fitoquímicos, y polifenoles, como los flavonoides y los probióticos que benefician nuestro microbioma (Koutsos *et al.*, 2015).

Este derivado de la manzana contiene compuestos bioactivos que se han asociado con actividades que evitan la agregación plaquetaria, contra el mediador inflamatorio y trombótico PAF y el agonista plaquetario ADP. Un análisis por HPLC y GC-MS detectó los cambios producidos por la fermentación en el contenido de lípidos y la composición de ácidos grasos en esta bebida, rica en ácidos grasos monoinsaturados beneficiosos y ácidos grasos poliinsaturados omega 3 presentando una función antiinflamatoria y cardioprotectora (Tsoupras *et al.*, 2021).

2.3. Componentes de la manzana: Polifenoles

Los componentes principales de la manzana asociados al estado de salud son los polifenoles, y la fibra.

Los compuestos fenólicos de la dieta constituyen uno de los grupos de productos naturales más numerosos y ampliamente distribuidos en el reino vegetal presentando más de 8000 estructuras fenólicas diferentes, y entre ellas se han identificado más de 4000 flavonoides (Tsao, 2010). Las fuentes más ricas en polifenoles son grupos de alimentos y bebidas como: las frutas, verduras, cereales integrales y otros como el té, chocolate y vino (Bravo, 1998).

Los polifenoles vegetales comprenden una gran diversidad de compuestos, entre los que se suelen distinguir los flavonoides y varias clases de no

flavonoides. Estos últimos (**Figura 1**) son moléculas simples, como los ácidos fenólicos (que se subdividen en derivados del ácido benzoico y del ácido cinámico, basados en esqueletos C1-C6 y C3- C6, respectivamente (Cheynier, 2005).

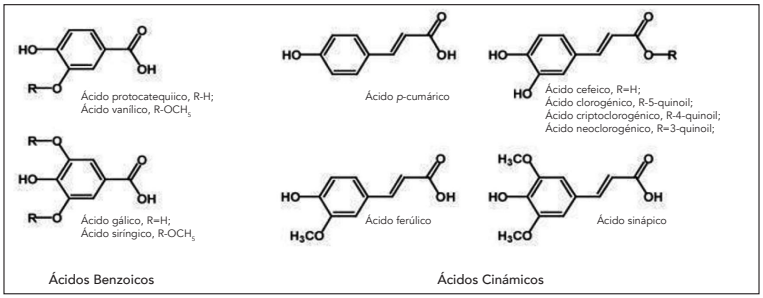

Figura 1. Se representan en fórmula estructural los dos grupos principales de ácidos fenólicos, con ejemplos (Adaptado de Cheynier, 2005).

Los flavonoides se pueden subdividir en diferentes subgrupos según el carbono del anillo C al que se une el anillo B y el grado de insaturación y oxidación del anillo C (**Fig. 2**). Los flavonoides en los que el anillo B está enlazado en la posición 3 al anillo C se denominan isoflavonas. Aquellos en los que el anillo B está enlazado en la posición 4 al anillo C se denominan neoflavonoides, mientras que aquellos en los que el anillo B está enlazado en la posición 2 al anillo C se pueden subdividir en varios subgrupos sobre la base de las características estructurales del anillo C. Estos subgrupos son: flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, flavanoles o catequinas, antocianinas y chalconas (Panche *et al.*, 2016).

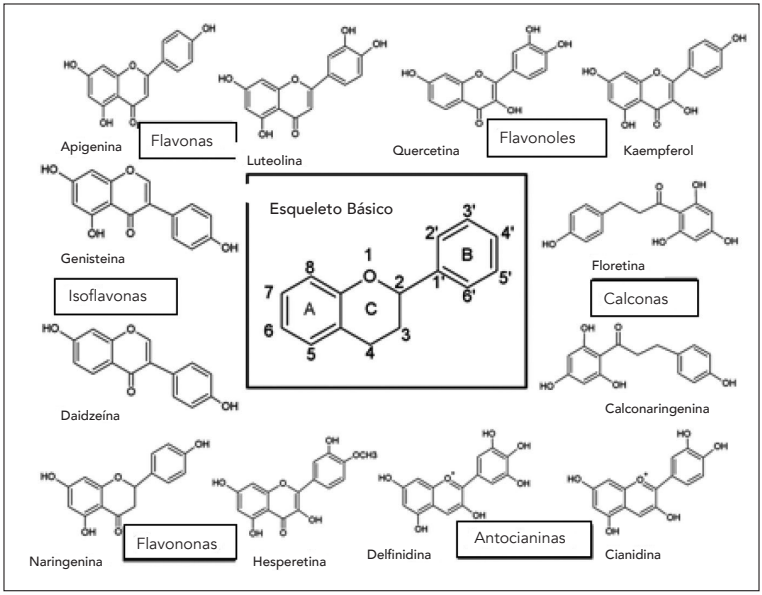

Figura 2. Estructuras básicas del esqueleto de los diferentes tipos de flavonoides (Panche *et al.*, 2016).

A) Las flavonas: son uno de los subgrupos más importantes de flavonoides, están presentes en hojas, flores y frutos como glucósidos. Las principales fuentes de flavonas son el apio, el perejil, los pimientos rojos, la manzanilla, la menta y el ginkgo biloba o las cáscaras de los cítricos. Algunas de las más conocidas son la luteolina, apigenina, tangeretina, tangeretina, nobiletina y sinensetina (Claudine *et al.*, 2004). Sus estructuras químicas presentan un doble enlace entre las posiciones 2 y 3 y una cetona en la posición 4 del anillo C. La mayoría de las flavonas tienen un grupo hidroxilo en la posición 5 del anillo A, mientras que la hidroxilación en otras posiciones, en su mayor parte en la posición 7 del anillo A o 3' y 4' del anillo B, puede variar según la clasificación taxonómica de la verdura o fruta en particular (**Figura 3**) (Hostetler *et al.*, 2017).

B) Los flavonoles son flavonoides con un grupo cetona, y componentes básicos de las proantocianinas. Los flavonoles más estudiados son kaempferol, quercetina, miricetina y fisetina. Las cebollas, la col rizada, la lechuga, los tomates, las manzanas, las uvas, las bayas, el té y el vino tinto son fuentes de flavonoles.

   En comparación con las flavonas, los flavonoles tienen un grupo hidroxilo en la posición 3 del anillo C, que también puede estar glicosilado (**Figura 3**). Al igual que las flavonas, los flavonoles también tienen patrones de metilación e hidroxilación muy diversos y, considerando los diferentes patrones de glicosilación, son el subgrupo más común y más grande de flavonoides en frutas y verduras (Panche *et al.*, 2016).

C) Las flavanonas son otra clase importante presente en todos los cítricos como naranjas, limones y también en las uvas. La hesperidina, la naringenina y el eriodictiol son ejemplos de esta clase de flavonoides. Estos compuestos son los responsables del sabor amargo del jugo y la cáscara de los cítricos. A nivel estructural las flavanonas, también llamadas dihidroflavonas, tienen el anillo C saturado; por lo tanto, a diferencia de las flavonas, el doble enlace entre las posiciones 2 y 3 está saturado y esta es la única diferencia estructural entre estos dos subgrupos de flavonoides (**Figura 3**) (Sykuła *et al.*, 2021).

D) Los isoflavonoides son un subgrupo grande y muy distintivo de flavonoides, sin embargo, presentan una distribución limitada en el reino vegetal y encontrándose predominantemente en la soja y otras plantas leguminosas (**Figura 3**). Las isoflavonas como la genisteína y la daidzeína se consideran comúnmente fitoestrógenos debido a su actividad estrogénica en ciertos modelos animales (Veitch, 2013).

E) Los neoflavonoides son una clase de compuestos polifenólicos. Mientras que los flavonoides tienen un esqueleto de 2-fenilcromeno-4-ona, los neoflavonoides tienen un esqueleto de 4-fenilcromeno sin sustitución del grupo hidroxilo en la posición 2. La primera neoflavona aislada de fuentes naturales en 1951 fue la calofilolida de las semillas de *Calophyllum inophyllum*.

F) Los flavanoles también llamados dihidroflavonoles o catequinas, son los derivados 3-hidroxi de las flavanonas. Son un subgrupo muy

diversificado y multisustituido. Los flavanoles también se denominan flavan-3-oles ya que el grupo hidroxilo siempre está unido a la posición 3 del anillo C. A diferencia de muchos flavonoides, no hay doble enlace entre las posiciones 2 y 3. Los flavanoles se encuentran abundantemente en plátanos, manzanas, arándanos, melocotones y peras (Luo *et al.*, 2022).

G) Las antocianinas son pigmentos responsables de los colores en plantas, flores y frutos. La cianidina, delfinidina, malvidina, pelargonidina y peonidina son las antocianinas más estudiadas. Ocurren predominantemente en las capas celulares externas de varias frutas como arándanos, grosellas negras, uvas rojas, uvas merlot, frambuesas, fresas, arándanos, arándanos y moras (**Figura 3**). La estabilidad, junto con los beneficios para la salud de estos compuestos, facilita su uso en la industria alimentaria en una variedad de aplicaciones. El color de la antocianina depende del pH y también de la metilación o acilación de los grupos hidroxilo en los anillos A y B (Iwashina, 2013).

H) Las calconas son una subclase de flavonoides. Se caracterizan por la ausencia del 'anillo C' de la estructura básica del esqueleto de flavonoides. Por lo tanto, también pueden denominarse flavonoides de cadena abierta. Los principales ejemplos de chalconas incluyen floridzina, arbutina, floretina y calconaringenina. Las calconas se encuentran en cantidades significativas en tomates, peras, fresas, gayubas, manzanas y ciertos productos de trigo (**Figura 3**). Las calconas y sus derivados han atraído una atención considerable debido a sus numerosos beneficios nutricionales y biológicos (Zhuang *et al.*, 2017).

La ingesta de flavonoides a través de fuentes alimenticias es la forma más sencilla y segura de combatir enfermedades y modular actividades enzimáticas (Panche *et al.*, 2016).

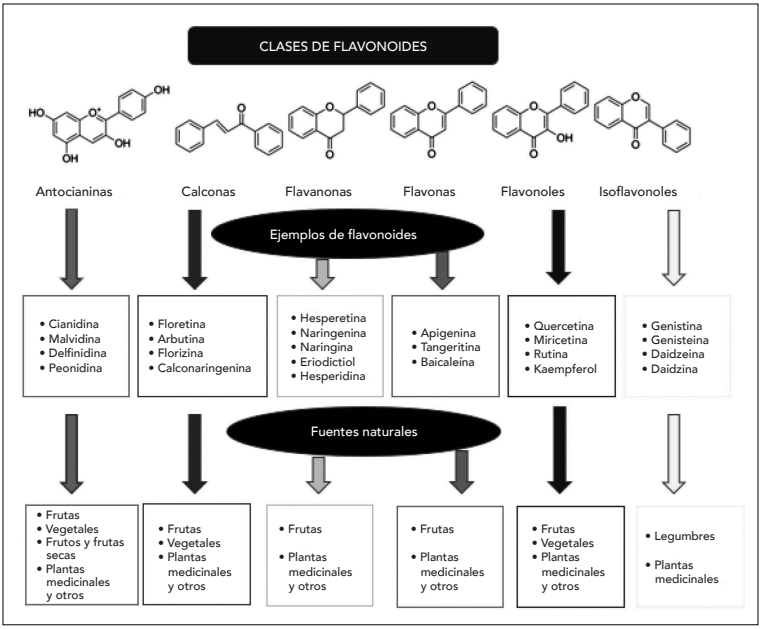

Figura 3. Clases, subclases y fuentes naturales de flavonoides. (Adaptado de Panche *et al.*, 2016).

Las manzanas son un alimento bajo en grasas y altas en carbohidratos, con fructosa como azúcar predominante, también son una rica fuente de vitaminas (principalmente C y E), minerales (potasio y magnesio), triterpenoides, como el ácido ursólico, fibra (soluble e insoluble) y polifenoles (Koutsos *et al.*, 2015).

Los principales polifenoles de las manzanas son los ácidos hidroxicinámicos (que se encuentran principalmente como ésteres quínicos, como el ácido clorogénico), los flavanoles (catequinas y procianidinas) y las dihidrocalconas; la floretina 2'- O -glucósido y la floretina-2'- O -(2"- O -xilosil) glucósido, donde sus concentraciones son más altas en la piel que en la pulpa. Los flavonoles y las antocianinas están presentes en cantidades

más pequeñas y están casi completamente restringidos a la piel. Todos estos compuestos son constituyentes de las frutas más comúnmente consumidas, excepto la floridzina, una dihidrochalcona que es específica de las manzanas. (Cheynier, 2005).

En la sidra asturiana los ácidos fenólicos (ácidos hidroxi y dihidroxicinámicos) constituyen el grupo mayoritario, seguidos de los flavanoles (catequina, epicatequina y procianidinas), fenoles volátiles y dihidrocalconas, mientras que los flavonoles son minoritarios (Lobo *et al.*, 2009).

2.4. Componentes de la manzana: Fibras

Las manzanas contienen aproximadamente entre un 2 % y un 3 % de fibra, son ricas en fibra insoluble, incluidas la celulosa y la hemicelulosa, siendo la pectina la principal fibra soluble que contiene homogalacturonanos (que consisten en largas cadenas de ácidos galacturónicos con enlaces α-(1–4)) y ramnogalacturonanos. El grado de metilación, de los residuos de ácido galacturónico influye fuertemente en las propiedades fisicoquímicas y funcionales. En estudios se ha propuesto que la pectina de manzana tiene propiedades beneficiosas para reducir el colesterol y el metabolismo de la glucosa. Además, la pectina es un agente gelificante e influye en el tiempo de tránsito, el vaciado gástrico y la absorción de nutrientes del intestino. Es resistente a la degradación por el ácido gástrico y las enzimas intestinales y, por lo tanto, llega al colon, donde la microbiota intestinal lo fermenta en ácidos grasos de cadena corta (AGCC), contribuyendo a la microbioma intestinal (Koutsos *et al.*, 2015).

2.5. Mecanismos de acción

La reacción de Maillard es una función de glicación no enzimática que implica varios pasos y mucho tiempo para poder completarse (**Figura 4**).

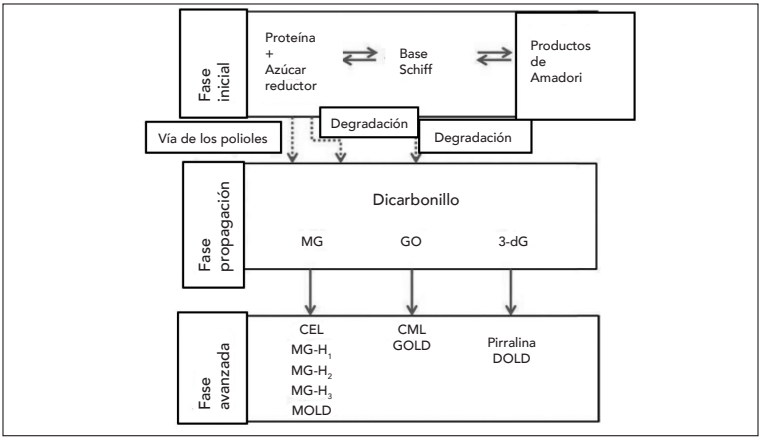

Figura 4. Vía para la formación de AGEs. Los grupos amino N-terminales de la proteína y el azúcar reductor forman dicarbonilos, (metilglioxal, glioxal y 3-desoxiglucosona) a través de la vía de los polioles, la glucólisis o la autooxidación del azúcar reductor, lo que lleva a la generación de AGE patológicos. AGE = producto final de glicación avanzada; CEL = N ε- carboxietillisina; CML = N ε -carboximetil-lisina; 3-dG = 3- desoxiglucosona; DOLD = dímero de lisina de 3-desoxiglucosona; GO = glioxal; GOLD = dímero de glioxal-lisina; MG = metilglioxal; MG-H = hidroimidazalona derivada de MG; MOLD = dímero de metilglioxal-lisina. (Adaptado de Vauzour *et al.*, 2010).

A) Fase inicial

En la fase inicial de la reacción de Maillard, los azúcares reductores, como la glucosa, la fructosa o la ribosa, actuarán sobre los grupos amino terminales de las proteínas, los ácidos nucleicos o los fosfolípidos para formar bases de Schiff inestables, que se volverán más estables ceto-aminas, también llamadas productos de Amadori.

Las reacciones en esta fase son todas reversibles y dependiendo de las concentraciones de sustrato y el tiempo de reacción, estas reacciones tienen diferentes efectos. Además, las bases de Schiff son propensas a la oxidación para producir radicales libres, lo que da como resultado la formación de productos intermedios de carbonilo activo (Bonnefont- Rousselot, 2002).

B) Fase de propagación o fase intermedia

Durante el proceso de reordenamiento de Amadori, la función de oxidación inducida por la función catalítica de los iones metálicos o el oxígeno producirá muchos compuestos de carbonilo, incluidos MG, glioxal y 3-desoxiglucosona.

C) Fase avanzada

La fase avanzada es la última fase de la reacción de Maillard, donde los compuestos de dicarbonilo forman isómeros con los residuos de arginina y lisina de las proteínas, denominados productos finales de glicación avanzada (AGE), muy estables térmicamente.

Los AGE están relacionados con enfermedades de los vasos sanguíneos, así como con enfermedades relacionadas con el envejecimiento y crónicas, la acumulación crónica en el riñón induce daño en los túbulos capilares y renales, lo que provoca un deterioro de la función renal además de neuropatía diabética. Muchos alimentos, bebidas y sustancias contienen derivados de AGE como los azúcares (Nemet *et al.*, 2006).

Hay muchos pasos en la síntesis de AGE, por lo tanto, las funciones de antiglicación pueden ocurrir en cualquier paso (**Figura 5**). A continuación, se enumeran varios mecanismos posibles que pueden retrasar o reducir la síntesis de AGE (Yeh *et al.*, 2017) (Vauzour *et al.*, 2010).

(1) Reducción de la producción de radicales libres durante el proceso de glicación: la primera etapa de la reacción de Maillard se acompaña de la producción de una gran cantidad de radicales libres. Además, las bases de Schiff son propensos a la oxidación para producir radicales libres y grupos carbonilo reactivos. Por lo tanto, en la etapa temprana de la glicación, la captura de radicales libres para reducir el estrés oxidativo y la disminución de la producción de grupos carbonilo y dicarbonilo reactivos pueden inhibir la función de glicación.

(2) Reducción de la producción de base de Schiff y productos de Amadori: el bloqueo de los grupos carbonilo o dicarbonilo de los azúcares reductores puede inhibir la producción de AGE.

(3) Desintoxicación del metabolito de dicarbonilo reactivo MG: GLO I es una parte del sistema de glioxalasa presente en el citosol de las

células. Cataliza la isomerización de hemitioacetal para provocar la conversión espontánea de α-oxoaldehído RCOCHO y glutatión (GSH) en derivados de S-2-hidroxiacilglutatión, RCH(OH)CO-SG, lo que reduce la producción de a-oxoaldehído y sustancias relacionadas con la glicación en el cuerpo.

(4) Inhibición de la generación de productos Amadori en fase avanzada.

(5) El bloqueo del entrecruzamiento de los AGE también puede inhibir la producción de AGE.

(6) La producción de AGE está asociada con la presencia de iones de metales de transición. Por lo tanto, la quelación de iones metálicos puede inhibir la producción de AGE.

(7) Bloquear la función de RAGE y reducir el posterior desarrollo de estrés oxidativo e inflamación

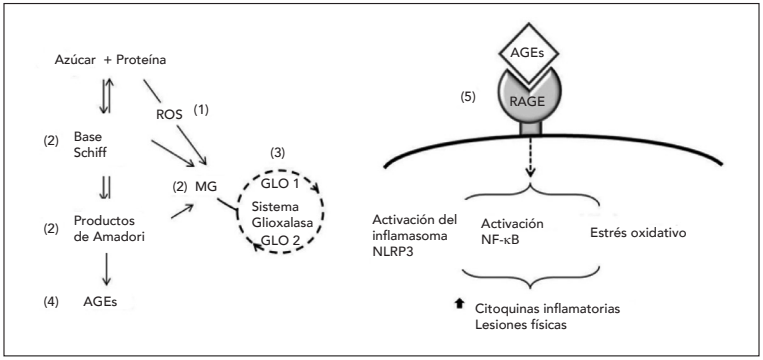

Figura 5. Mecanismos de antiglicación de los polifenoles. inhibición de AGE. (1) Inhibición de la formación de ROS durante la glicación. (2) Inhibición de la base de Schiff, productos de Amadori y posterior formación de grupos dicarbonilo. (3) Desintoxicación del precursor de AGE - MG por el sistema de glioxalasa. (4) Inhibición de la formación de AGE dañinos. (5) El bloqueo de la interacción AGE-RAGE inhibe el estrés oxidativo y la generación de ROS, los estímulos inflamatorios y las lesiones físicas a través de diferentes vías. AGE = producto final de glicación avanzada; GLO = glioxalasa; MG = metilglioxal; RAGE = receptor de AGE; ROS = especies reactivas de oxígeno. (Adaptado de Yeh *et al.*, 2017).

Estudios han confirmado que diferentes sustancias polifenólicas tienen funciones antiglicación, reduciendo la producción de compuestos carbonílicos se puede conseguir protección cardiovascular o retrasar el desarrollo de la diabetes mellitus y sus complicaciones a través de la función antiglicación (Xiao y Högger, 2015).

Los polifenoles en productos naturales tienen propiedades antioxidantes y pueden influir en la producción de AGE a través de diferentes mecanismos (**Tabla 1**).

Tabla 1. Efectos antiglicantes de los polifenoles. (Adaptado de Yeh *et al.*, 2017).

Mecanismo de antiglicación	Tipo de polifenol	Función
(1) Inhibición de ROS	Ácidos fenólicos	Propiedades antioxidantes
	Lignanos	Inhibición de ROS mediada por NADPH oxidasa
	Flavonoides	Propiedades antioxiantes
(2) Inhibición de la formación de MG	Ácidos fenólicos	Atrapa MG
	Flavonoides	
(3) Desintoxicación de MG	Estibenos + flavonoides	Activación de GLO 1
(4) Inhibición de la formación dañina de AGE	Ácidos fenólicos	Inhibición de la formación de AGE (p. ej. CEL y CML)
	Flavonoides	Inhibición de la formación de AGE
(5) Receptor AGE	Estibenos	Mejorar las complicaciones de la Diabetes Mellitus (DM)

2.6. La microbiota. Posible nexo en la interacción manzana-salud

El intestino humano hospeda una amplia y diversa cantidad de microorganismos, que comprende aproximadamente 10^{12} células microbianas por gramo de contenido intestinal y hasta 1000 especies diferentes de microorganismos, denominándose microbiota intestinal (Eckburg *et al.*, 2005). El colon humano está colonizado principalmente por dos filos, *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, que representan más del 90 % de todos los filotipos, seguidos por una menor abundancia relativa de *Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacterium* y *Verrucomicrobia* (Robles Alonso y Guarner, 2015).

La microbiota intestinal tiene unas funciones muy importantes sobre nuestro organismo:

A) Aumenta la eficiencia de la obtención de energía de la dieta a través del metabolismo de los componentes dietéticos no digeribles.
B) Mantiene la homeostasis inmunológica. C) Sintetiza vitaminas, como la B 12 y la K.
D) Proporciona una barrera contra patógenos invasores.
E) Refuerza las uniones estrechas de las células epiteliales intestinales.

Las *Bifidobacterias*, los *Lactobacilos* y las bacterias productoras de butirato, como *Faecalibacterium prausnitzii* y *Eubacterium rectale*, se consideran comúnmente como bacterias promotoras de la salud involucradas en la fermentación sacarolítica que producen ácidos grasos de cadena corta (SCFA) (Wallace *et al.*, 2011). En contraste, el crecimiento excesivo de otras bacterias, como las *Enterobacteriaceae* y ciertos grupos de *Clostridios*, se asocia con implicaciones negativas para la salud, una composición inadecuada de la microbiota se ha asociado con enfermedades metabólicas como la obesidad, la diabetes tipo I y tipo II y la aterosclerosis, ciertos tipos de cáncer y enfermedades autoinmunes (Delzenne y Cani, 2011).

Los perfiles de microbiota intestinal se pueden alterar a través de la dieta según el tipo y la cantidad de componentes de los alimentos que llegan al colon (Tuohy *et al.*, 2012). La fibra dietética, es un sustrato importante para la fermentación del colon, juega un papel importante contra el desarrollo de enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2, las enfermedades cardíacas, la obesidad y el cáncer (Mann y Cummings, 2009). Según Gibson *et al.*, (2010), un prebiótico dietético es «un ingrediente fermentado selectivamente que da como resultado cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal, lo que otorga beneficios para la salud del huésped».

La fibra es la principal fuente de energía para la microbiota intestinal que conduce a la producción de SCFA butirato, acetato y propionato, los cuales presentan múltiples funciones en el huésped, como fuentes de energía clave para la mucosa intestinal, el hígado, los músculos u otros tejidos periféricos, contribuyendo entre el 7% y el 8% de las necesidades energéticas diarias. Pero lo que es más importante, desempeñan un papel importante en la función celular, el sistema inmunitario, el metabolismo de los lípidos, la motilidad y la

permeabilidad intestinales, lo que afecta el riesgo de trastornos gastrointestinales, cánceres y ECV (Tuohy *et al.*, 2012).

Además, hasta el 90 % de los polifenoles vegetales de la dieta, incluidas las manzanas, llegan intactos al colon (Del Rio *et al.*, 2013). La interacción con la microbiota intestinal es recíproca, ya que las bacterias comensales transforman los polifenoles en metabolitos aromáticos simples, mientras que los polifenoles tienen la capacidad de modular la composición de la microbiota intestinal, inhibiendo algunas poblaciones bacterianas y estimulando otras (Laparra y Sanz, 2010).

3. Metodología

3.1. Caracterización de la muestra

Este estudio se realiza a partir de cuestionarios dietéticos, muestras sanguíneas y fecales procedentes de una muestra de 147 individuos, el 70.8% mujeres, con un rango de edad comprendido entre 19 y 95 años (57.84 ± 17.19) y con un índice de masa corporal (IMC) entre 19 y 40 kg/m². Todos los individuos de la cohorte fueron reclutados en el Principado de Asturias y dieron su consentimiento informado para la participación en el presente estudio. Además, los participantes fueron seleccionados conforme a los siguientes criterios de exclusión:

(a) No haber sido diagnosticados previamente de alguna patología inmune, enfermedad inflamatoria intestinal o cualquier otra condición que pudiese afectar a la función intestinal.

(b) No haber estado sometidos a tratamiento médico como corticoides orales, agentes inmunosupresores, anticuerpos monoclonales, antibióticos o inmunoterapia.

(c) No haber consumido algún suplemento con contenido en probióticos o prebióticos durante el mes previo al estudio.

Para la realización del estudio se obtuvo la aprobación ética del Comité Regional de Ética para la Investigación Clínica («*Servicio de Salud del Principado de Asturias nº13/2010*») en cumplimiento de la Declaración de Helsinki de 1964, última revisión en 2013.

3.2. Evaluación nutricional

La ingesta dietética fue evaluada mediante un cuestionario de frecuencia de alimentos (FFQ), con la asistencia de dietistas profesionales, los cuales interrogaron a los sujetos sobre el consumo habitual de más de 160 alimentos. Se prestó atención a las prácticas culinarias, elaboración del menú y a las cantidades ingeridas a través de imágenes de tamaños de ración diferentes. La Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (ORAC) de los distintos alimentos se obtuvo a partir de la base de datos del ORAC de Alimentos Seleccionados del USDA. Esta base de datos indica los valores de ORAC hidrofílico, ORAC lipofílico y ORAC total para 275 alimentos como µmol de equivalentes de Trolox (TE)/100 g (Fernández-Navarro *et al.*, 2017).

La información sobre las fibras dietéticas solubles e insolubles, además de pectina y hemicelulosa se determinó a partir del método de Marlett y Cheung (1997).

3.3. Análisis bioquímicos de sangre

Se extrajeron muestras de sangre en ayunas mediante venopunción, posteriormente las muestras se mantuvieron en hielo y se centrifugaron. Las alícuotas de plasma y suero se mantuvieron a -20 °C hasta que se realizaron los análisis.

Los niveles séricos de proteína C reactiva (PCR) se determinaron utilizando un kit CRP Human Instant ELISA (Ebioscience, San Diego, CA, EE. UU.), y los de malondialdehído (MDA) con un ensayo colorimétrico de peroxidación lipídica (Byoxytech LPO-586, Oxis International SA, París, Francia) (Fernández-Navarro *et al.*, 2019).

Los biomarcadores de interés estudiados en nuestra cohorte han sido:

1. **El cociente LDL/HDL**, (cociente que cuando aumenta es perjudicial para el desarrollo de aterosclerosis) (Mertens y Holvoet, 2001).
2. **La proteína C reactiva**, considerada una «proteína de fase aguda», un indicador temprano de enfermedades infecciosas o inflamatorias, se utiliza como un dispositivo de detección de inflamación, un marcador de actividad de la enfermedad y como complemento de diagnóstico (Clyne y Olshaker, 1999).

3. **El malonaldehido** (**MDA**) en suero, está asociado a la peroxidación lipídica y es generado en situaciones de estrés oxidativo (Pereira *et al.*, 2016).

3.4. Análisis microbiológicos y parámetros asociados a la microbiota

Para analizar la microbiota y cuantificar los grupos bacterianos, a cada sujeto se le pidió que depositara una muestra fecal (10-50g), después de la entrevista para la evaluación nutricional, se recolectó en condiciones de esterilidad y se congeló a -80ºC hasta su posterior análisis.

Se homogeneizó la mezcla, utilizando un Stomacher y se extrajo ADN utilizando el mini kit de heces de ADN QIAamp (Qiagen, Hilden, Alemania). Finalmente, mediante un sistema de PCR en tiempo real se cuantificó los grupos bacterianos. (Fernández-Navarro *et al.*, 2018).

Los parámetros asociados a la microbiota y las distintas familias de microorganismos estudiadas han sido:

A) **Las pectinas**, solubles e insolubles procedentes de la dieta global.

B) **Las hemicelulosas**, solubles e insolubles procedentes de la dieta global.

C) Los tres tipos de **fibras**, soluble, insoluble y total, presentes en la totalidad de la dieta proveniente de distintos alimentos.

D) **La Microbiota** procedente del intestino y del colon a través de muestras de heces y mediante métodos de identificación de microorganismos: *Enterobacterias, Akkermansia, Bacteroides, Clostridium, Lactobacillus, Faecalibacterium, Bifidobacterium.*

3.5. Análisis estadístico

Para examinar las posibles relaciones existentes entre el consumo de manzana o sidra y los parámetros bioquímicos en sangre periférica, se ha empleado el *software IBM SPSS Statistics 27*, una potente plataforma estadística, que permite realizar ensayos estadísticos y analizar un gran conjunto de datos. Se incluyen todos los aspectos del ciclo de vida de la analítica, desde la preparación y la gestión de datos hasta el análisis y la creación de informes, donde se puede trabajar las bases de datos y realizar diferentes tipos de test estadísticos (*IBM SPSS Statistics*, 2022).

Se elaboraron unas tablas descriptivas para poder observar diferencias entre las dietas de los diferentes grupos poblacionales, según su ingesta de polifenoles o no de manzana y sidra. Se describieron diferentes variables como: edad, género, hábitos sedentarios, hábito tabáquico, IMC.

Con análisis estadísticos, además de medias y recuentos, utilizando análisis estadísticos de *chi-cuadrado*, una de las distribuciones de probabilidad más usadas en inferencia estadística, principalmente en pruebas de hipótesis y en la construcción de intervalos de confianza, esta prueba se basa en encontrar la diferencia al cuadrado entre los valores reales y los esperados, y dividir esa diferencia entre los valores de los datos esperados.

A continuación, se llevaron a cabo análisis de correlación para determinar qué biomarcadores o parámetros microbiológicos se asocian positiva o negativamente con el consumo de manzana y de sidra en la dieta. A través de modelos de regresión lineal simple, se evalúa si la asociación entre ambas variables es estadísticamente significativa (mediante la distribución t de Student, se contrasta si la pendiente del modelo es distinta de 0 con un 95% o más de confianza estadística).

Paralelamente, mediante el coeficiente de correlación de Pearson, se cuantifica si dicha asociación es positiva (>1) o negativa (<1), de forma que cuánto más tiende su valor a la unidad en valor absoluto, más fuerte es la relación lineal entre ambas variables (la ecuación de una línea recta describiría perfectamente la asociación de variables).

En este estudio, consideramos la asociación entre variables como estadísticamente significativa si el p-valor es menor de 0,05*, muy significativa si el p-valor<0,01** y extremadamente significativa si el p-valor<0,001***.

3.6. Estimación de polifenoles en manzana y sidra

Para la estimación de los tipos de polifenoles que integran la composición química de manzana y la sidra asturiana, se ha recurrido a una búsqueda bibliográfica en los siguientes repositorios de literatura científica: *PubMed, Google Scholar* y *Web of Science (WOS)*. Se han utilizado las palabras clave «apple», «cider»,» polyphenols»,»asturian», »variety», »composition» como términos de búsqueda. Con el fin de acotar los artículos de referencia para este trabajo, se han empleado los siguientes criterios de selección:

1) Estudios a nivel autonómico que hayan sido realizados en el Principado de Asturias, dado que la muestra de individuos procede íntegramente de esta región.
2) Artículos que analicen diferentes variedades de manzana o sidra, especialmente de origen asturiano.
3) Estudios considerados de referencia en el campo de estudio según su impacto científico en número de citas.
4) Aquellos que sean, en la medida de lo posible, más recientes y, por tanto, más actualizados.

Con todo lo anterior, se ha seleccionado en el caso de los polifenoles de la manzana el artículo de Lobo *et al.*, (2009), en el cual se utilizan muestras de diferentes variedades de manzanas: *Meana, Durona de tresali, De la Riega, Perezosa, Carrió* y *Limón Montés*, una mezcla de manzanas asturianas, y una mezcla de manzanas asturianas y extranjeras. Las distintas muestras se prensaron, se envasaron y se protegieron de la luz y la humedad hasta su análisis. Posteriormente, se extrajeron los polifenoles de la pulpa de la manzana con acetona y agua (70:30), se centrifugó y se filtró el residuo, para identificar mediante cromatografía líquida (HPLC) los distintos polifenoles presentes en la muestra.

Adicionalmente se utilizó la base de datos *Phenol Explorer*, una herramienta que contiene valores de contenido de polifenoles para distintos alimentos, procedentes de publicaciones científicas (*Phenol explorer database on polyphenol contents in foods,* 2022).

En cuanto a la sidra, el artículo de referencia es García *et al.*, (2009), en el que se analizaron 44 sidras naturales asturianas y pertenecientes a 43 llagares diferentes. Las muestras se desgasificaron en un baño de ultrasonidos durante 10 min para eliminar todo el dióxido de carbono, y se filtraron a través de un filtro de membrana de acetato de celulosa de 0,45 µm. El análisis se llevó a cabo mediante HPLC en una columna de fase reversa utilizando como disolventes ácido acético acuoso al 2% y metanol al 100%.

Si bien es cierto que nuestros artículos de referencia han sido publicados hace más de diez años, nuestra selección de literatura científica ha primado otros requisitos de mayor importancia para el presente trabajo, como, por ejemplo, el análisis de variedades de manzana y de sidra de origen asturiano o el número de citas en este campo especializado.

Además, ambos trabajos de referencia son autoría de investigadores pertenecientes al Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario del Principado de Asturias (SERIDA), un organismo público del Principado de Asturias que realiza actividades de investigación, desarrollo e innovación orientadas a la mejora y modernización de las capacidades productivas y tecnológicas del sector agroalimentario asturiano (*Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario*, 2022).

3.7. Estimación de los componentes mayoritarios de la manzana de sidra asturiana

Al igual que el apartado anterior, se recurrió a una búsqueda bibliográfica, con los mismos criterios y procedimientos, para determinar la contribución de los principales tipos de biomoléculas sobre la composición general de las manzanas de sidra asturiana.

En consecuencia, el artículo seleccionado es el de Calvete-Torre *et al.*, (2021), donde se utilizaron manzanas de sidra de las variedades *Solarina, Regona, Raxao, Verdialona, De la Riega, Xuanina, Collaos, Perico* y *Durona de Tresali* con el fin de analizar y cuantificar su contenido en peso seco de carbohidratos, lípidos, proteínas, fibras, minerales, ácido málico y fenoles a través de diferentes métodos de extracción acoplados a cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID).

3.8. Representaciones gráficas

Con *Microsoft Excel* se elaboraron diferentes gráficas para poder visualizar y analizar el porcentaje de sólo los polifenoles de manzana /o sidra frente al sumatorio del conjunto de polifenoles totales ingeridos en la dieta del individuo para calcular cuánto aportan estos polifenoles respecto al global de alimentos en cada dieta individualizada. Además, se generaron figuras para identificar el aporte de cada tipo de polifenol en cada alimento ya fuese sidra o manzana. Además, también se produjeron gráficos para ver cuál es el aporte de distintos compuestos químicos respecto al peso seco de la manzana de sidra.

Para poder comparar las correlaciones, empleamos varios *heatmap* para poder asociar los parámetros de interés y su correlación positiva o negativa además de la significancia, todo ello sencillo y visualmente.

El diseño de los heatmap se realizó con el lenguaje de programación R en el entorno de R Studio, un software de desarrollo integrado para el lenguaje de programación, dedicado a la computación estadística y gráficos. Incluye una consola, editor de sintaxis que apoya la ejecución de código, así como herramientas para el trazado, la depuración y la gestión del espacio de trabajo (*R Studio*, 2022).

4. Resultados

En esta sección, se expondrán los resultados obtenidos durante el estudio realizado a partir de individuos procedentes de Asturias.

4.1. Estudio descriptivo de la muestra

Se realizó un análisis descriptivo en el que figuran por grupos de consumidores/no consumidores de manzana y consumidores/no consumidores de sidra para observar si hay alguna diferencia entre estos grupos estadísticamente (**Tabla 2**).

Como resultado se puede comprobar que el consumo de sidra está relacionado con individuos de hábitos más sedentarios, mientras que, en el resto de categorías como la edad, hábito tabáquico y IMC, los resultados no son significativos para el consumo de manzana o sidra.

Tabla 2. Estudio descriptivo de la muestra con consumidores o no de sidra o manzana frente a las variables de edad, género, hábito sedentario. hábito tabáquico y BMI.

		Consumo de manzana				**Consumo de sidra**			
		No consume		Consume		No consume		Consume	
		Media	Recuento	Media	Recuento	Media	Recuento	Media	Recuento
Edad		60,6[a] (19,3)	10[a]	56,5[a] (16,0)	33[a]	58,4[a] (18,2)	36[a]	55,0[a] (18,8)	7[a]
Género	Hombre		38[a]		66[a]		88[a]		16[a]
	Mujer		22[a]		29[a]		49[a]		2[a]
Hábito sedentario	Sedentario		15[a]		43[a]		46[a]		12[a]
	Activo		22[a]		37[a]		54[a]		5[a]

		Consumo de manzana				Consumo de sidra			
		No consume		Consume		No consume		Consume	
		Media	Recuento	Media	Recuento	Media	Recuento	Media	Recuento
Hábito tabáquico	No		9[a]		13[a]		17[a]		5[a]
	Sí		6[a]		16[a]		18[a]		4[a]
	Exfumador		15[a]		27[a]		33[a]		9[a]
BMI	≤25		9[a]		20[a]		23[a]		6[a]
	25-26,99		9[a]						
	27-29,99		15[a]						
	30-39,99		0[2]		0[2]		0[2]		0[2]
	≥40		10[a]		33[a]		36[a]		7[a]

4.2. Composición de la manzana de sidra asturiana

En el análisis de la composición de las manzanas de sidra de diferentes variedades, se ha comprobado cuales son los principales componentes químicos del peso seco. Las fibras insolubles (31,1%) son el principal componente del peso seco, seguidamente el ácido galacturónico (14,7%), las fibras solubles (14,2%), y el azúcar más abundante la fructosa (13%), en menor medida aparecen otros compuestos principalmente azúcares como la glucosa (5,4%). Otros compuestos minoritarios son las proteínas (3,7%), el ácido málico (2,2%), aunque es uno de los ácidos más abundantes de la manzana, las grasas (1,6%) o la sacarosa (1,6%). Finalmente, como los compuestos más minoritarios se encuentran los minerales (0,7%) y los polifenoles (0,5%). Cabe destacar que, aunque los polifenoles aparecen en una proporción minoritaria, estos son compuestos bioactivos de gran actividad, dónde una mínima cantidad va a influir de manera muy importante en el organismo (**Figura 6**). Si bien es cierto el peso seco contribuye a un 19% del peso total de la manzana donde el principal componente de la misma es el agua, aun así, se podría determinar que el alimento está constituido sobre todo por carbohidratos y fibra.

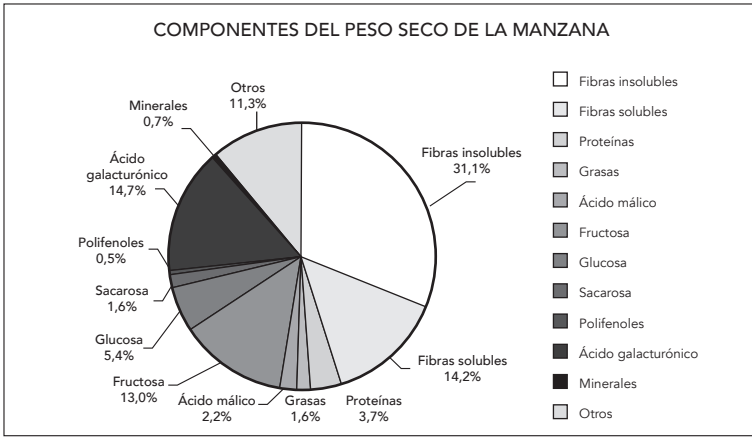

Figura 6. En la imagen se presentan los distintos componentes del peso seco de la manzana de sidra asturiana. Se representan en porcentajes las fibras insolubles y solubles, proteínas, grasas, ácido málico, fructosa. glucosa, sacarosa, polifenoles y ácido galacturónico, minerales y otros compuestos.

4.3. Polifenoles totales de la manzana y de la sidra

Para evaluar la aportación de polifenoles provenientes de la manzana y de la sidra respecto a la dieta en global, se calculó la media de los polifenoles de manzana, sidra y los polifenoles totales de todos los individuos de la cohorte (**Tabla 3**).

Tabla 3. Representación de las medias de polifenoles (mg) provenientes del consumo de sidra, manzana y de la dieta global de los individuos.

	Polifenoles de Manzana (mg)	Polifenoles de sidra (mg)	Polifenoles totales de la dieta (mg)
Media	204,3158	17,6561	1.366,4207
N	147	147	147
Desviación estándar	252,4807	72,0954	954,8721

Como resultado se pone de manifiesto que 204,32 mg (un 15%) son los polifenoles que aportan las manzanas (**Figura** 7) y 17,66 mg (un 1,2%) son procedentes de la sidra (**Figura 8**), frente a un total de 1.366,42 mg polifenoles totales ingeridos en la dieta global. El resultado es interesante ya que podemos observar una contribución significativa de la manzana al total de polifenoles consumidos por la muestra. En la sidra el porcentaje es menor debido principalmente a la poca cantidad que consumen los individuos de la muestra de esta bebida, además el consumo de la sidra, como bebida alcohólica de consumo ocasional, hace que la contribución sea limitada frente a fuentes de polifenoles que se consumen en la alimentación diaria.

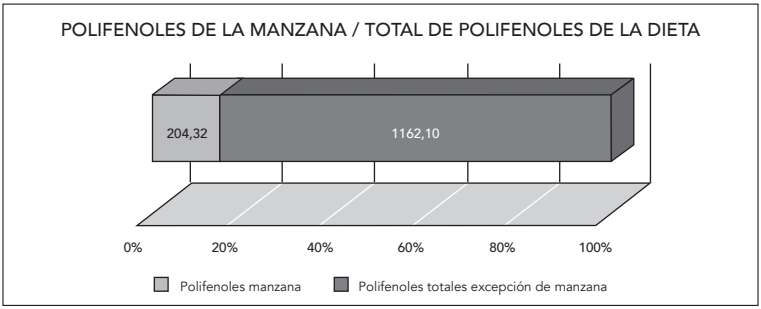

Figura 7. Representación de los polifenoles procedentes de la manzana frente al total de polifenoles que aportan todos los alimentos en la dieta.

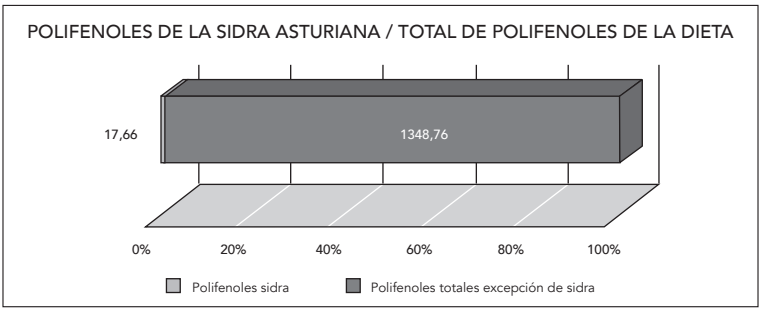

Figura 8. Representación de los polifenoles procedentes de la sidra asturiana frente al total de polifenoles que aportan todos los alimentos en la dieta.

4.4. Principales grupos de polifenoles de la manzana y de la sidra

Los resultados del estudio de la composición de los distintos grupos de polifenoles presentes en la manzana y en la sidra fueron los siguientes:

- Respecto a la manzana los principales grupos de polifenoles han sido los flavonoles aportando un 34%, las dihidrocalconas un 24% y los ácidos fenólicos un 22%, seguidamente los flavanoles un 18%, y finalmente el ácido gálico con una representación del 2% (Figura 9). Cabe destacar que hay una gran diversidad de polifenoles donde las concentraciones han sido bastante equilibradas, es por ello que el consumo de manzana puede aportar un buen equilibrio de polifenoles.

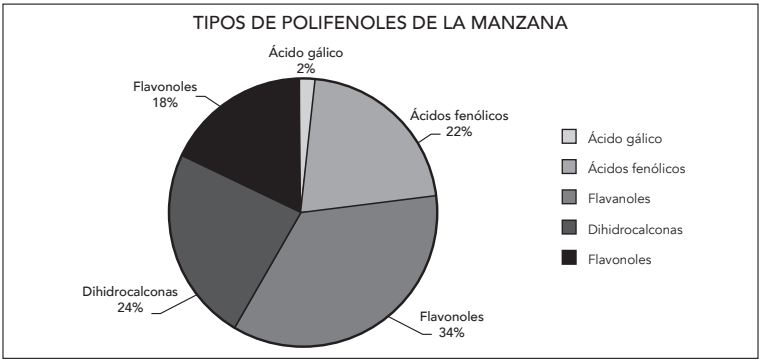

Figura 9. Tipos de polifenoles presentes en la manzana (con su representación en porcentajes): ácido gálico, ácidos fenólicos, flavanoles, dihidrocalconas y flavonoles.

- En el caso de la sidra los resultados variaron siendo el principal componente el ácido gálico con una representación del 76%, seguido por los ácidos fenólicos 13%, flavanoles 5%, fenoles volátiles 3%, dihidrocalconas 2% y finalmente con una menor representación 1% los flavonoles (**Figura 10**). Es un resultado muy interesante, que indica que la transformación de la manzana en sidra altera la composición de polifenoles principalmente debido a las fermentaciones de los microorganismos presentes en el microbioma de la bebida. y es por ello que se podría considerar una buena fuente de ácido gálico y en definitiva de ácidos fenólicos.

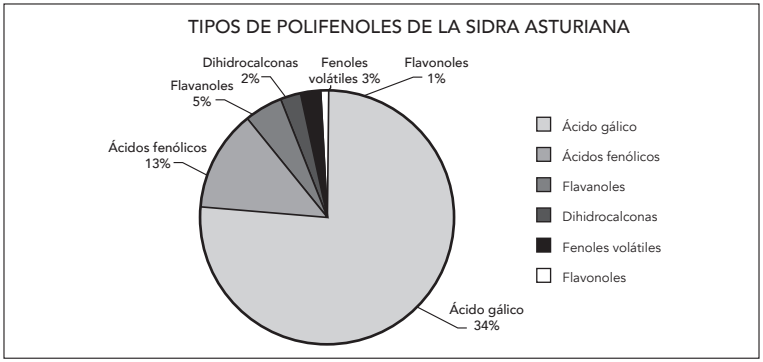

Figura 10. Tipos de polifenoles presentes en la sidra (con su representación en porcentajes): ácido gálico, ácidos fenólicos, flavanoles, dihidrocalconas, fenoles volátiles y flavonoles.

4.5. Asociaciones entre el consumo de manzana o sidra frente a biomarcadores y microbiota

Como podemos observar en el primer *heatmap* (**Figura 11**), el consumo de manzana está asociado positivamente a el consumo de sidra (p-valor<0,05), a su vez también hay una correlación positiva frente a los tres tipos de fibra provenientes de las dietas de los individuos. El consumo de sidra, sin embargo, se asocia con la fibra soluble. Otro de los resultados es que tanto el consumo de manzana o sidra es muy beneficioso para los tres tipos ORAC total, ORAC lipofílico p-valor<0,05; y ORAC hidrofílico p-valor<0,001. Esto tiene implicaciones en el consumo de antioxidantes de la dieta (Jiménez-Morales *et al.*, 2022).

Además, el consumo de manzana y sidra están asociados con una mayor ingesta de pectinas y polifenoles, como los flavanoles (en el caso de la manzana). No obstante, hay una asociación negativa con las flavonas dietéticas, esto es debido a la propia composición química de la manzana, dónde las flavonas es un tipo de polifenol casi inexistente. En el caso del consumo de sidra, los flavonoles están asociados significativamente p-valor<0,01. El consumo de manzana está correlacionado positivamente con el grupo de *Enterobacterias*

p-valor<0,05. Un resultado muy interesante es la asociación negativa entre el consumo de sidra y el MDA en suero, significando que el consumo de esta bebida es capaz de alterar y reducir la oxidación lipídica en nuestro organismo (Tsikas, 2017).

En la microbiota, los géneros bacterianos *Lactobacillus* y *Clostridium* han sido correlacionados negativamente con un p-valor<0,05 con el consumo de sidra, esto puede deberse a que la sidra, con su contenido en probióticos sea capaz de desplazar a géneros bacterianos como Clostridium (Bibbò *et al.*, 2016).

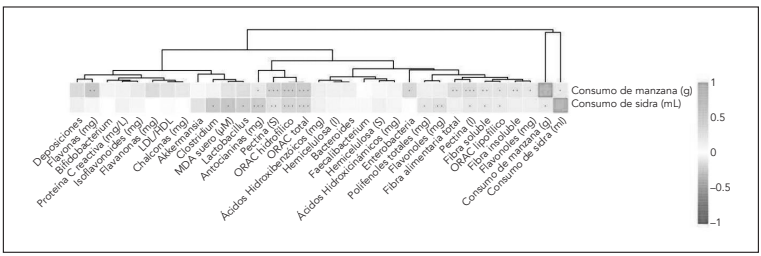

Figura 11. Ilustración del heatmap, en filas el consumo de manzana y el consumo de sidra, y en columnas los biomarcadores y los análisis de microbiota. La escala muestra la correlación de Pearson desde valores negativos cercanos al -1 en color rojo a valores positivos cercanos al 1 en color verde. En esta matriz los asteriscos indican la significancia del p-valor: 1 asterisco cuando el p-valor<0,05, dos asteriscos cuando el p-valor<0,01 y tres asteriscos cuando el p-valor<0,001.

4.6. Asociaciones entre la fibra alimentaria de la dieta frente a biomarcadores y microbiota

En el segundo *heatmap* (**Figura 12**), indica que cuando el consumo de fibra aumenta, hay una mayor presencia de ORAC, contenido en polifenoles (principalmente antocianinas, flavonoles, flavanonas y ácidos fenólicos), y pectinas y hemicelulosas. Analizando la correlación con la microbiota, la fibra alimentaria de la dieta de la muestra está asociada con un mayor nivel de *Bacteroides* (Simpson y Campbell, 2015). Además, un mayor consumo de

fibra soluble está significativamente vinculado con una reducción del cociente LDL/HDL y del MDA en suero. Otros de los resultados obtenidos es que la fibra soluble procedente de la dieta está asociada positivamente al consumo de sidra y en el caso de la manzana los tres tipos de fibras están vinculados.

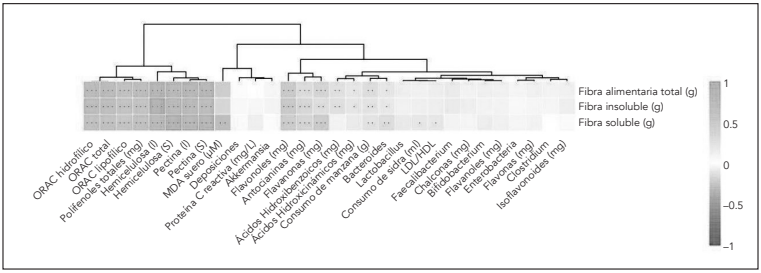

Figura 12. Ilustración del heatmap, en filas los tres tipos de fibra procedente de la dieta de los individuos: fibra alimentaria total, fibra insoluble y fibra soluble, y en columnas los biomarcadores, los análisis de microbiota y el consumo de manzana y sidra. La escala muestra la correlación de Pearson desde valores negativos cercanos al -1 en color rojo a valores positivos cercanos al 1 en color verde. En esta matriz los asteriscos indican la significancia del p-valor: 1 asterisco cuando el p-valor<0,05, dos asteriscos cuando el p-valor<0,01 y tres asteriscos cuando el p-valor<0,001.

4.7. Asociaciones entre los principales grupos de polifenoles frente a biomarcadores y microbiota

En la **Figura 13**, donde se representan los polifenoles totales de la dieta y las principales familias de estos, se puede identificar que una dieta rica en polifenoles se le asocia positivamente con la fibra, las pectinas, el ORAC, ambas hemicelulosas, y el género bacteriano *Bacteroides* y tienen una correlación negativamente con el MDA.

Los principales polifenoles que han contribuido al ORAC han sido las antocianinas, las calconas, los flavanoles, los ácidos fenólicos y los flavonoles, mientras que las flavanonas se han asociado al ORAC lipofílico, por ser un compuesto más apolar.

Podemos atribuir una bioactividad a los polifenoles provenientes de la manzana debido a que los *ácidos fenólicos, flavanoles, dihidrocalconas* y *flavonoles*

que son los polifenoles que se encuentran con mayor proporción en la manzana son los principales polifenoles asociados a la propiedad de neutralizar radicales libre y prevenir la oxidación, y además el consumo de manzana está estrechamente ligado con el poder antioxidante.

Al igual que para la manzana, la sidra presenta una relación con los ácidos fenólicos y con los flavonoles, pero en su composición, dado que el principal polifenol es el ácido gálico, no tendría una bioactividad tan grande comparado a la manzana, aun así, no hay duda de que aportaría poder antioxidante. Además, casi todos los principales grupos de polifenoles presentes en la dieta se asocia con el aumento de fibra y como hemos podido comprobar en el caso de la sidra, su consumo se vincula a la fibra de carácter soluble, (puesto que la fibra insoluble también está relacionada con los polifenoles totales, con las pectinas y con los biomarcadores de poder antioxidante).

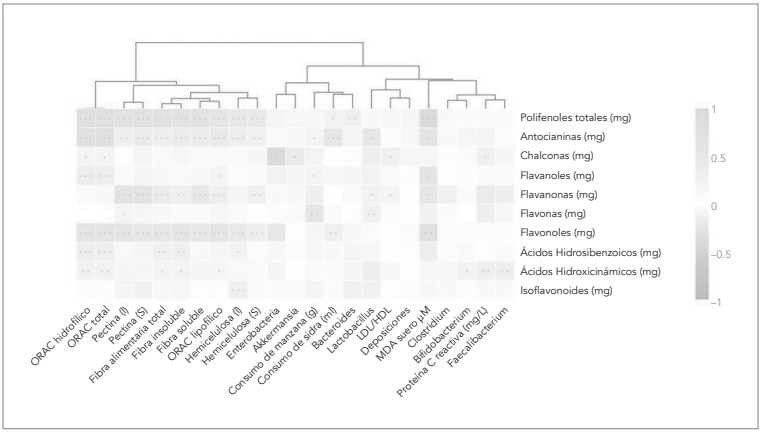

Figura 13. Ilustración del *heatmap*, en filas los polifenoles totales y las principales familias de polifenoles procedentes de la dieta de los individuos, y en columnas los biomarcadores, los análisis de microbiota y el consumo de manzana y sidra. La escala muestra la correlación de Pearson desde valores negativos cercanos al -1 en color rojo a valores positivos cercanos al 1 en color verde. En esta matriz los asteriscos indican la significancia del p-valor: 1 asterisco cuando el p-valor<0,05, dos asteriscos cuando el p-valor<0,01 y tres asteriscos cuando el p-valor<0,001.

5. Conclusión

Las principales aportaciones de este estudio han consistido en: (1) identificar cuáles son los principales polifenoles presentes en la manzana y la sidra asturiana, (2) correlacionar el consumo de manzana y sidra proveniente de individuos de la cohorte con biomarcadores y parámetros de la microbiota, (3) asociar el consumo de manzana y sidra con efectos beneficiosos para la salud.

1. Se han identificado a los flavanoles y a las dihidrocalconas como principales polifenoles consumidos por la muestra a partir de la manzana mientras que la sidra, el ácido gálico y los ácidos fenólicos han sido los principales polifenoles presentes en la muestra.
2. El consumo de manzana y de sidra se asoció con una menor concentración de MDA que es un marcador sanguíneo de lipoperoxidación y con un mejor ratio HDL/LDL, además de contribuir al ORAC, un biomarcador que indica el estado antioxidante.
3. Las *Enterobacterias* se han asociado positivamente con el consumo de manzana mientras que *Clostridium*, y *Lactobacillus* se han asociado negativamente al consumo de sidra.
4. Las dietas con mayor contenido en fibra, tanto soluble como insoluble, y más concretamente las pectinas, presentan un mayor aporte de polifenoles, además de estar correlacionadas positivamente con el ORAC y el ratio HDL/LDL y negativamente con la concentración de MDA.

Estos resultados abren la puerta a futuros trabajos acerca del impacto de estos compuestos sobre la salud cardiovascular y habría que profundizar en el futuro en el posible efecto prebiótico de estos alimentos.

6. Abreviaturas, siglas, acrónimos y símbolos

ADP: Adenosín difosfato

AGE: Producto final de glicación avanzada

BOE: Boletín Oficial del Estado

DM: Diabetes Mellitus

DOP: Denominación de Origen Protegida

ECV: Enfermedades Cardiovasculares

FFQ: Cuestionario de Frecuencia de Alimentos

GC-MS: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

HDLc: Lipoproteínas de alta densidad del colesterol

HPLC: Cromatografía líquida de alta eficacia

IMC: índice de masa corporal

LDLc: Lipoproteínas de baja densidad del colesterol

MDA: Malonaldehido

MG: Metilglioxal

ORAC: capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno

PAF: Factor Activador de plaquetas ROS: Especies Reactivas de Oxígeno

SCFA/AGCC: Ácidos grasos de cadena corta

SERIDA: Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario del Principado de Asturias

TC: Toxina colérica WOS: Web of Science

7. Bibliografía

1. Arts I, Hollman P, Mesquita H, Feskens E, Kromhout D. Dietary catechins and epithelial cancer incidence: the Zutphen Elderly Study. Int J Cancer. 2001; 92:298–302.
   doi: 10.1002/1097-0215(200102)9999:9999<::AID- IJC1187>3.0.CO;2-8.
2. Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., Semenkovich, C. F., & Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 101(44), 15718–15723.
   https://doi.org/10.1073/pnas.0407076101
3. Bibbò, S., Ianiro, G., Giorgio, V., Scaldaferri, F., Masucci, L., Gasbarrini, A., & Cammarota, G. (2016). The role of diet on gut microbiota composition. *European review for medical and pharmacological sciences*, 20(22), 4742–4749.
4. Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2002 Sep; 5(5):561-8.
   doi: 10.1097/00075197-200209000-00016. PMID: 12172481.
5. Boyer, J., & Liu, R. H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. Nutrition journal, 3, 5.
   https://doi.org/10.1186/1475-2891-3-5
6. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutr Rev. 1998 Nov;56(11):317-33.
   doi: 10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x. PMID: 9838798.
7. Calvete-Torre, I., Muñoz-Almagro, N., Pacheco, M. T., Antón, M. J., Dapena, E., Ruiz, L., Margolles, A., Villamiel, M., & Moreno, F. J. (2021). Apple pomaces derived from mono-varietal Asturian ciders production are potential source of pectins with appealing functional properties. *Carbohydrate polymers, 264*, 117980.
   https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117980
8. Cheynier V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. Am J Clin Nutr. 2005 Jan; 81(1 Suppl):223S-229S.
   doi: 10.1093/ajcn/81.1.223S. PMID: 15640485.
9. Claudine Manach, Augustin Scalbert, Christine Morand, Christian Rémésy, Liliana Jiménez, Polyphenols: food sources and bioavailability, The American Journal of Clinical Nutrition, Volume 79, Issue 5, May 2004, Pages 727–747,
   https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727

10. Clyne, B., & Olshaker, J. S. (1999). The C-reactive protein. *The Journal of emergency medicine*, 17(6), 1019-1025.
https://doi.org/10.1016/S0736-4679(99)00135-3

11. Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. Antioxidants & redox signaling, 18(14), 1818–1892.
https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581

12. Delzenne, N. M., & Cani, P. D. (2011). Gut microbiota and the pathogenesis of insulin resistance. Current diabetes reports, 11(3), 154–159.
https://doi.org/10.1007/s11892-011-0191-1

13. de Oliviera M, Sichieri R, Moura A. Weight loss associated with a daily intake of three apples or three pears among overweight women. Nutr. 2003; 19:253–256.
doi: 10.1016/S0899-9007(02)00850-X.

14. Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S. R., Nelson, K. E., & Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. Science (New York, N.Y.), 308(5728), 1635–1638.
https://doi.org/10.1126/science.1110591

15. Fernández Navarro, T. (2019). «Dieta y Obesidad: relación con la Microbiota Intestinal» [Tesis doctoral, Universidad de Oviedo]. Repositorio de tesis de la Universidad de Sevilla.
https://digibuo.uniovi.es/dspace/handle/10651/51140

16. Fernández-Navarro, T., Díaz, I., Gutiérrez-Díaz, I., Rodríguez-Carrio, J., Suárez, A., de Los Reyes-Gavilán, C. G., Gueimonde, M., Salazar, N., & González, S. (2019). Exploring the interactions between serum free fatty acids and fecal microbiota in obesity through a machine learning algorithm. *Food research international (Ottawa, Ont.),* 121, 533–541.
https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.009

17. Fernández-Navarro T, Salazar N, Gutiérrez-Díaz I, de Los Reyes-Gavilán CG, Gueimonde M, González S. Different Intestinal Microbial Profile in Over-Weight and Obese Subjects Consuming a Diet with Low Content of Fiber and Antioxidants. Nutrients. 2017 May 27;9(6):551.
doi: 10.3390/nu9060551. PMID: 28555008; PMCID: PMC5490530.

18. Fernández-Navarro, T., Salazar, N., Gutiérrez-Díaz, I., Sánchez, B., Rúas- Madiedo, P., de Los Reyes-Gavilán, C. G., Margolles, A., Gueimonde, M., &

González, S. (2018). Bioactive compounds from regular diet and faecal microbial metabolites. *European journal of nutrition*, 57(2), 487–497. https://doi.org/10.1007/s00394-016-1332-8

19. Feskanich D, Ziegler R, Michaud D, Giovannucci E, Speizer F, WIllett W, Colditz G. Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92:1812–1823. doi: 10.1093/jnci/92.22.1812.
20. García, Y. D., Valles, B. S., & Lobo, A. P. (2009). Phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: Apple pomace. Food Chemistry, 117(4), 731-738. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.049.
21. Gibson, G. R., Scott, K. P., Rastall, R. A., Tuohy, K. M., Hotchkiss, A., Dubert- Ferrandon, A., & Buddington, R. (2010). Dietary prebiotics: current status and new definition. Food Sci Technol Bull Funct Foods, 7(1), 1-19.
22. Hostetler, G. L., Ralston, R. A., & Schwartz, S. J. (2017). Flavones: Food Sources, Bioavailability, Metabolism, and Bioactivity. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 8(3), 423–435. https://doi.org/10.3945/an.116.012948
23. *IBM SPSS Statistics* (2022, 27 de Junio). IBM. https://www.ibm.com/es- es/products/spss-statistics
24. Iwashina, T (2013) Flavonoid properties of five families newly incorporated into the order Caryophyllales (Review). Bull Natl Mus Nat Sci 39, 25–51.
25. Jiménez-Morales, W. A., Cañizares-Macias, M., & Pedraza-Chaverri, J. (2022). Fast ORAC-SIA method for antioxidant capacity determination in food samples. *Food chemistry*, 384, 132524. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132524
26. Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A, Maatela J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. BMJ. 1996 Feb 24;312(7029):478-81. doi: 10.1136/bmj.312.7029.478. PMID: 8597679; PMCID: PMC2349921.
27. Koutsos, A., Tuohy, K. M., & Lovegrove, J. A. (2015). Apples and cardiovascular health--is the gut microbiota a core consideration?. Nutrients, 7(6), 3959–3998. https://doi.org/10.3390/nu7063959
28. Laaksonen O., Kuldjärv R., Paalme T., Virkki M., Yang B. Impact of apple cultivar, ripening stage, fermentation type and yeast strain on phenolic composition of apple ciders. Food Chem. 2017; 233:29–37. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.067.

29. Laparra, J. M., & Sanz, Y. (2010). Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. Pharmacological research, 61(3), 219–225. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.11.001

30. Lobo, A. P., García, Y. D., Sanchez, J. M., Madrera, R. R., & Valles, B. S. (2009). Phenolic and antioxidant composition of cider. Journal of Food Composition and Analysis, 22(7-8), 644-648.

31. Luo, Y., Jian, Y., Liu, Y., Jiang, S., Muhammad, D., & Wang, W. (2022). Flavanols from Nature: A Phytochemistry and Biological Activity Review. *Molecules (Basel, Switzerland), 27*(3), 719. https://doi.org/10.3390/molecules27030719

32. Mann, J. I., & Cummings, J. H. (2009). Possible implications for health of the different definitions of dietary fibre. Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD, 19(3), 226–229. https://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.02.002

33. Marlett, J. A., & Cheung, T. F. (1997). Database and quick methods of assessing typical dietary fiber intakes using data for 228 commonly consumed foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 97(10), 1139–1150. https://doi.org/10.1016/S0002-8223(97)00275-7

34. Memoria Anual de actividades 2021. Consejo Regulador de la DOP Sidra de Asturias. [(acceso 09 Julio 2022)]. Available online: https://sidradeasturias.es/memoria-anual/

35. Mertens, A., & Holvoet, P. (2001). Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 15*(12), 2073–2084. https://doi.org/10.1096/fj.01-0273rev

36. Nemet I, Varga-DefterdarovićL, Turk Z. Methylglyoxal in food and living organisms. Mol Nutr Food Res. 2006 Dec;50(12):1105-17. doi: 10.1002/mnfr.200600065. PMID: 17103372.

37. Panche, A., Diwan, A., & Chandra, S. (2016). Flavonoids: An overview. Journal of Nutritional Science, 5, E47. doi:10.1017/jns.2016.41

38. Pereira, M. C., Miralles, R., Serra, E., Morros, A., Palacio, J. R., & Martinez, P. (2016). Peroxidación lipídica en la membrana de los linfocitos y oxidación proteica en el suero de personas ancianas, ¿marcadores potenciales de fragilidad y dependencia? resultados preliminares. *Revista Española de Geriatría y Gerontología, 51*(1), 25-28. https://doi.org/10.1016/j.regg.2015.03.002

39. *Phenol explorer database on polyphenol contents in foods* (2022, 28 de Julio).Phenol explorer.
http://phenol-explorer.eu/

40. Picinelli, A., Suárez, B., Moreno, J., Rodríguez, R., Caso-García, L. M., & Mangas, J. J. (2000). Chemical characterization of asturian cider. Journal of agricultural and food chemistry, 48(9), 3997–4002.
https://doi.org/10.1021/jf991284d

41. Queipo-Ortuno, M.I.; Boto-Ordonez, M.; Murri, M.; Gomez-Zumaquero, J.M.; Clemente-Postigo, M.; Estruch, R.; Cardona, D.F.; Andres-Lacueva, C.; Tinahones, F.J. Influence of red wine polyphenols and ethanol on the gut microbiota ecology and biochemical biomarkers. Am. J. Clin. Nutr. 2012, 95, 1323–1334.

42. Robles Alonso, V., & Guarner, F. (2013). Linking the gut microbiota to human health. The British journal of nutrition, 109 Suppl 2, S21–S26.
https://doi.org/10.1017/S0007114512005235

43. *R Studio* (2022, 27 de Junio). RStudio.
https://www.rstudio.com/

44. Santos-Buelga, C., González-Paramás, A. M., Oludemi, T., Ayuda-Durán, B., & González-Manzano, S. (2019). Plant phenolics as functional food ingredients. *Advances in food and nutrition research, 90*, 183–257.
https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.012

45. Saito T, Miyake M, Toba M, Okamatsu H, Shimizu S, Noda M. Inhibition by apple polyphenols of ADP-ribosyltransferase activity of cholera toxin and toxin-induced fluid accumulation in mice. Microbiol Immunol. 2002;46(4):249-55.
doi: 10.1111/j.1348-0421.2002.tb02693.x. PMID: 12061627.

46. Sandoval-Ramírez BA, Catalán Ú, Calderón-Pérez L, Companys J, Pla-Pagà L, Ludwig IA, Romero MP, Solà R. The effects and associations of whole-apple intake on diverse cardiovascular risk factors. A narrative review. Crit Rev Food Sci Nutr. 2020; 60(22):3862-3875.
doi: 10.1080/10408398.2019.1709801. Epub 2020 Jan 13. PMID: 31928209.

47. Sembries, S.; Dongowski, G.; Jacobasch, G.; Mehrlander, K.; Will, F.; Dietrich, H. Effects of dietary fibre-rich juice colloids from apple pomace extraction juices on intestinal fermentation products and microbiota in rats. Br. J. Nutr. 2003, 90, 607–715.

48. Sembries, S.; Dongowski, G.; Mehrlander, K.; Will, F.; Dietrich, H. Physiological effects of extraction juices from apple, grape, and red beet pomaces in rats. J. Agric. Food Chem. 2006, 54, 10269–10280.

49. *Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario* (2022, 27 deJunio). SERIDA.
http://www.serida.org/index.php

50. Shen, C. Y., Lu, C. H., Wu, C. H., Li, K. J., Kuo, Y. M., Hsieh, S. C., & Yu, C. L. (2020). The Development of Maillard Reaction, and Advanced Glycation End Product (AGE)-Receptor for AGE (RAGE) Signaling Inhibitors as Novel Therapeutic Strategies for Patients with AGE-Related Diseases. *Molecules (Basel, Switzerland), 25*(23), 5591.
https://doi.org/10.3390/molecules25235591

51. Simpson, H. L., & Campbell, B. J. (2015). Review article: dietary fibre- microbiota interactions. *Alimentary pharmacology & therapeutics, 42*(2), 158–179.
https://doi.org/10.1111/apt.13248

52. Sykuła, A., Kowalska-Baron, A., Gałćki, K., Błazićka, P., & Łodyga- Chruć cićka, E. (2021). Structural and Spectral Investigation of a Series of Flavanone Derivatives. *Molecules (Basel, Switzerland), 26*(5), 1298.
https://doi.org/10.3390/molecules26051298

53. Tsao R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246.
https://doi.org/10.3390/nu2121231

54. Tsikas D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical biochemistry*, 524, 13–30.
https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.021

55. Tsoupras, A., Moran, D., Pleskach, H., Durkin, M., Traas, C., & Zabetakis, I. (2021). Beneficial Anti-Platelet and Anti-Inflammatory Properties of Irish Apple Juice and Cider Bioactives. Foods (Basel, Switzerland), 10(2), 412.
https://doi.org/10.3390/foods10020412

56. Tuohy, K. M., Conterno, L., Gasperotti, M., & Viola, R. (2012). Up-regulating the human intestinal microbiome using whole plant foods, polyphenols, and/or fiber. Journal of agricultural and food chemistry, 60(36), 8776–8782.
https://doi.org/10.1021/jf2053959

57. United States Department of Agriculture (USDA) U.S. Dep. Agric; 2017. [(acceso 09 Julio 2022)]. Database for the Oxigen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Selected Foods. Available online:
http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl

58. Vallée Marcotte, B., Verheyde, M., Pomerleau, S., Doyen, A., & Couillard, C. (2022). Health Benefits of Apple Juice Consumption: A Review of Interventional Trials on Humans. Nutrients, 14(4), 821. https://doi.org/10.3390/nu14040821

59. Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A., Corona, G., Oruna-Concha, M. J., & Spencer, J. P. (2010). Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. Nutrients, 2(11), 1106–1131. https://doi.org/10.3390/nu2111106

60. Veitch N. C. (2013). Isoflavonoids of the leguminosae. *Natural product reports, 30*(7), 988–1027. https://doi.org/10.1039/c3np70024k

61. Vendrame, S.; Guglielmetti, S.; Riso, P.; Arioli, S.; Klimis-Zacas, D.; Porrini, M. Six-week consumption of a wild blueberry powder drink increases bifidobacteria in the human gut. J. Agric. Food Chem. 2011, 59, 12815–12820

62. Wallace, T. C., Guarner, F., Madsen, K., Cabana, M. D., Gibson, G., Hentges, E., & Sanders, M. E. (2011). Human gut microbiota and its relationship to health and disease. Nutrition reviews, 69(7), 392–403. https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2011.00402.x

63. Xiao JB, Högger P. Dietary polyphenols and type 2 diabetes: current insights and future perspectives. Curr Med Chem. 2015;22(1):23-38. doi: 10.2174/0929867321666140706130807. PMID: 25005188.

64. Yeh, W. J., Hsia, S. M., Lee, W. H., & Wu, C. H. (2017). Polyphenols with antiglycation activity and mechanisms of action: A review of recent findings. Journal of food and drug analysis, 25(1), 84–92. https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.017

65. Zhuang, C., Zhang, W., Sheng, C., Zhang, W., Xing, C., & Miao, Z. (2017). Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chemical reviews*, 117(12), 7762–7810. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00020

Universidad de Oviedo

Cátedra de la Sidra de Asturias

Alimentos del paraíso natural

Garantía de Calidad y Origen

CONSEJO REGULADOR · DENOMINACIÓN DE ORIGEN

SIDRA DE ASTURIAS