

## **EFFECTO DE LOS EDULCORANTES EN LAS INTERACCIONES FISICOQUÍMICAS EN UNA BEBIDA A BASE DE SEMILLA DE AGUACATE Y MUCILAGO DE NOPAL.**

Hernández-Huerta H.A.<sup>a\*</sup>, Padilla-Camberos E.<sup>a,b</sup>, Espinosa-Andrews H.<sup>a,b</sup>, Villanueva-Rodríguez S.<sup>a,b</sup>.

<sup>a</sup> Posgrado Interinstitucional en Ciencia y Tecnología (PICYT), Sede Guadalajara. Av. Normalistas 800, Col. Colinas de la Normal, Guadalajara Jalisco C.P. 44270.

<sup>b</sup> Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., Avenida Normalistas 800, Colonia Colinas de la Normal, C.P. 44270, Guadalajara, Jal., México.\* [qhildaahh@gmail.com](mailto:qhildaahh@gmail.com)

### **RESUMEN**

La semilla del aguacate tiene una amplia riqueza polifenólica; estos compuestos tienen efectos antioxidantes, hipocolesterolémicos e hipoglucemiantes. Además el mucílago del nopal también reporta efectos hipoglucemiantes e hipocolesterolémicos. Por lo que, se formuló una bebida con estos extractos, adicionando aditivos, con la finalidad de impartir características sensoriales agradables al paladar. Esta diversidad de componentes, conlleva a la existencia de complejas interacciones entre ingredientes afectando la vida útil, características sensoriales y disponibilidad de los compuestos bioactivos, por lo que, el uso de soluciones modelo, por ser un sistema controlado, permitiría deducir algunas de las posibles interacciones en la bebida. El objetivo de este estudio fue observar el efecto de los edulcorantes en las interacciones fisicoquímicas entre polifenol-pectina. Las variables de estudio fueron: polifenol, pectina y edulcorante. Las variables de respuesta capacidad antirradical (% I), fenoles totales (mg/LEAG) y HPLC (ppm). Los resultados indicaron que existe una interacción polifenol-edulcorante, la adición de un edulcorantes a la solución polifenol-pectina, contribuyen al aumento o disminución de la concentración de polifenoles disponibles, este fenómeno también es observado en la bebida formulada.

### **ABSTRACT**

The seed of the avocado has a wide polyphenolic richness; these compounds have antioxidant, hypocholesteremic and hypoglycemic effects. Besides cactus mucilage also reported hypoglycemic and hypocholesteremic effects. So a drink was formulated with these extracts, adding additives, in order to provide pleasant sensory characteristics. This variety of components, carry to the existence of complex interactions between ingredients affecting the shelf life, sensory characteristics and the availability of bioactive compounds, the use of model solutions, as a controlled system, allow deducing some of possible interactions in the beverage. The objective of this study was to observe the effect of sweeteners in the physicochemical interactions between the polyphenol-pectin. The variables studied were: polyphenol, pectin and sweetener. Response variables antiradical capacity (% I), total phenols (mg/LEAG) and HPLC (ppm). The results indicated that there is an interaction polyphenol sweetener, the addition of a sweeteners pectin-polyphenol solution, contributing to the increase or decrease of polyphenols available, this phenomenon is also observed in the formulated beverage.

**Palabras clave:** Edulcorantes, Polifenol, Pectina.

**Área:** Alimentos funcionales

## INTRODUCCIÓN

La semilla de aguacate tiene una amplia riqueza polifenólica; estos compuestos tienen efectos antioxidante, hipocolesterolémicos, hipoglucémiantes así como diversos beneficios cardiovasculares (Pahua-Ramos et al., 2012). El nopal contiene mucílago que también han reportado efectos hipocolesterolémicos, hipoglucémiantes, entre otros. El mucílago es una mezcla compleja de polisacáridos de los cuales el 50% corresponden a una pectina (Ginestra et al., 2009). En CIATEJ se han realizado estudios de ambos extractos y esto generó el desarrollo de una bebida formulada con los extractos polifenólicos de semilla de aguacate (patente 270436 JL/a/2005/000056) y mucílago de nopal (patente en trámite). Dado que, los polifenoles aportan astringencia y amargor, la bebida fue adicionada con diferentes aditivos con la finalidad de hacerla más agradable al paladar y microbiológicamente estable. En una matriz alimentaria la diversidad de componentes, conlleva obligatoriamente a la existencia de complejas interacciones entre ingredientes y esto puede afectar la vida útil del producto, las características sensoriales así como la disponibilidad de los compuestos bioactivos. Por lo que, es necesario conocer y comprender las interacciones que se llevan a cabo en la matriz, esperando conocer el producto y con ello tener el dominio de factores que impactan sus propiedades biológicas, sensoriales y su estabilidad. El uso de soluciones modelo, por ser un sistema controlado, permitirá elucidar las posibles interacciones en la bebida. Algunos autores hacen mención sobre las interacciones entre polifenol y pectina, donde ésta actúa protegiendo al polifenol de la oxidación y de esta manera mantiene su efecto biológico al momento de la ingesta, estas interacciones se llevan a cabo de manera no covalente como puentes de hidrógeno y fuerzas hidrófobas, las cuales dependen de la estructura química del polifenol, peso molecular de la pectina, entre otras; dichas interacciones se manifiestan en cambios físicos como viscosidad, capacidad antioxidante, concentración de polifenoles libres y propiedades sensoriales (Le Bourvellec & Renard, 2012). Sin embargo el aporte calórico juega un papel importante, ya que si la bebida está orientada a contribuir al control de colesterol y prevención de la diabetes, es deseable que su aporte calórico sea mínimo; por lo que, el objetivo de este estudio fue observar el efecto de los edulcorantes en las interacciones fisicoquímicas entre polifenol-pectina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración de la bebida formulada se obtuvieron extractos hidrofílicos de semilla de aguacate y nopal (patente 270436 JL/a/2005/000056) (patente en trámite)

respectivamente, adicionada con aditivos de acuerdo con lo reportado por (Ortega M., et al 2008).

### **Selección del edulcorante**

Para determinar la concentración de sacarosa se realizaron pruebas preliminares, y se definió a 10.13% p/v a 11°brix posteriormente se determinaron las concentraciones de los edulcorantes de acuerdo a la intensidad de dulzor que cada uno desarrolla, los edulcorantes utilizados fueron sucralosa, estevia, aspartame, ecelsufame de K y fructosa. Con un grupo de 12 evaluadores entrenados, se realizó una prueba discriminativa (A no A) tomando como referencia la sacarosa, las pruebas se realizaron en como marca la norma (Norma ISO 8588). En pruebas preliminares se descartaron la estevia y acelsulfame debido a que dejaban un resabio amargo y astringente.

### **Preparación de soluciones modelo**

Se prepararon soluciones acuosas utilizando pectina cítrica de alto y bajo metoxilo (0.002816 g/ml), +(-)catequina (22.93 mg/L), ácido clorogénico (15.07 mg/L), sacarosa (10.13% p/v), fructosa (8.4452 % p/v) y sucralosa (0.01962 % p/v). Se realizó un diseño factorial de 3x2x4 con 24 soluciones modelo diferentes. Cada muestra se realizó por triplicado se homogenizó y dejó reposar durante 20 min y antes del análisis las muestras se filtraron en un *filtro* millipore de 0,45 micras. Los resultados fueron analizados estadísticamente con un anova multifactorial.

### **Fenoles totales Folin–Ciocalteu**

Se utilizó ácido gálico como referencia en concentraciones de (10-100 mg/L). Las determinaciones se realizaron en una placa de poliestireno de 96 pozos donde se depositaron 50 µL de muestra y 60 µL de Folin–Ciocalteu (diluido de 1:6) después de 3 min se añadió 80 µL de carbonato de sodio al 15% (p/v) se dejó reposar durante 30 min y se leyó la absorbancia a 765 nm. Los resultados fueron expresados en mg/L de (EAG) (Buchweitz et al., 2013).

### **Capacidad antirradical (DPPH)**

Se colocaron 33 µL de muestra en una placa de 96 pozos y 200 µL de DPPH se dejó reposar por 20 min se leyó la absorbancia a 517 nm los resultados están reportados en porcentaje de inhibición (Buchweitz et al., 2013).

### **Análisis de compuestos fenólicos**

El extracto acuoso de semilla de aguacate y las soluciones modelo fueron analizadas usando un sistema HPLC marca Varian pro Star modelo 230 y una columna C18 (250x4.6 mm de d.i.). La fase móvil contiene una mezcla de (A) agua acidificada al 1% y

(B) metanol acidificado al 1%, con un flujo de 1ml/min con el siguiente gradiente: tiempo (0, 10, 20, 30, 35), % A (97, 92, 69, 45, 45) y % B (3, 8, 31, 55, 55) a una temperatura de 30°C, los picos fueron monitoreados a 280 nm (Ortega et al., 2008).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figura 1 efecto del tipo de pectina y edulcorante sobre la capacidad antirradical, fenoles totales y concentración de polifenoles en soluciones del ácido clorogénico y +(-) catequina,

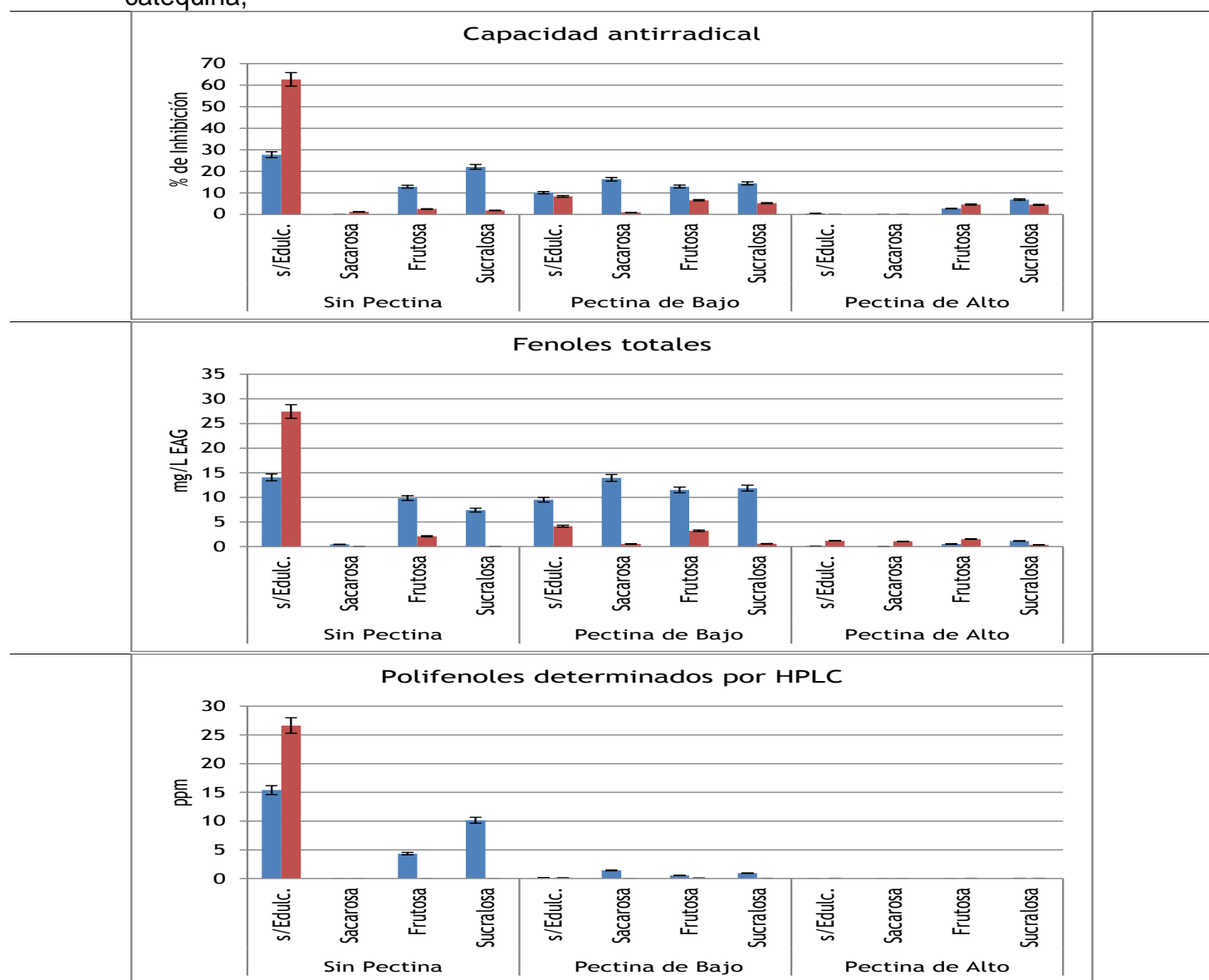


Figura 1. Soluciones de ■ Ácido Clorogénico y ■ +(-) Catequina

De la figura anterior se puede observar un comportamiento similar en las 3 variables de respuesta, donde las solución acuosas de ácido clorogénico y +(-) catequina tiene mayor

concentración y % I. En ambos casos la adición de cualquier edulcorante propicia una disminución en las variables respuesta, el mayor efecto se muestra en presencia de sacarosa, esto indica que existe una interacción entre polifenol-edulcorante que, de acuerdo con (Jun L. et al., 2013) se lleva a cabo por puentes de hidrogeno. En las mezclas de ácido clorogénico con pectina de bajo metoxilo y edulcorante se observa un aumento de las variables respuesta con respecto a la solución que contiene ácido clorogénico y pectina de bajo metoxilo, especialmente con la sacarosa, este fenómeno podría estar relacionado con la afinidad de la pectina de bajo metoxilo para formar puentes de hidrogeno y debido a la estructura química e impedimento estérico del ácido clorogénico, los puentes de hidrogeno se forman preferentemente con la sacarosa debido a su alto contenido de grupos hidroxilo, por lo que el ácido clorogénico queda más expuesto perdiendo su capacidad antioxidante y actividad biológica (Pahua-Ramos et al., 2012). El caso de las mezclas que contienen  $+(-)$  catequina se deduce mayor interacción entre los componentes ya que se observa una mayor disminución en las variables respuesta, esto puede estar relacionado con la estructura química de la  $+(-)$  catequina y la disposición de interactuar por puentes de hidrogeno o fuerzas hidrofobas. También se observa que la  $+(-)$  catequina presenta mayor % I que el ácido clorogénico esto podría ser atribuido a las diferentes estructuras químicas y características tales como la sustitución múltiple de hidroxilos en el anillo aromático y la presencia de dobles enlaces de los polifenoles. En ambos casos, existe mayor complejamiento con la pectina de alto metoxilo, esto se lleva a cabo por fuerzas hidrofobas (Le Bourvellec & Renard, 2012), en especial cuando contiene sacarosa ya que propician una menor concentración de polifenoles y % I, incluso llegando casi a desaparecer; este fenómeno puede ser atribuido a que la pectina de alto metoxilo y la sacarosa forman redes más finas y homogéneas por medio de puentes de hidrogeno y fuerzas hidrofobas, y pueden contribuir a que el polifenol quede retenido en este complejo. Este comportamiento es similar para la fructosa y sucralosa, sin embargo estos forman agregados con la pectina, con espacios más grandes, dejando con mayor libertad al polifenol y por lo tanto expuesto a la oxidación (Basu et al., 2013a). Del análisis estadístico de las 3 variables se observan valores-P menores a 0.05 para los factores: polifenoles, pectina y edulcorante, por lo que, el cambio de cualquiera de estas variables tiene un impacto sobre las interacciones fisicoquímicas de las soluciones modelo. Con la finalidad de observar si existe una relación del comportamiento en las soluciones modelo con la matriz compleja en ingredientes se realizó la bebida formulada y adicionada con los edulcorantes. En la tabla 1 se muestran los resultados de la bebida formulada sobre la capacidad antirradical y polifenoles totales.

**Tabla 1. Efecto de los edulcorantes sobre la bebida formulada**

Ingredientes	Capacidad antirradical (% Inhibición)	Fenoles totales (mg/L EAG)
Extracto de semilla de aguacate	40.9±6	212.7±1.3
Mucílago	23.1±2.7	82.7±7.2
Bebida formulada con los extractos (1:1)	53.5±7.1	210.6±2.7
Bebida formulada con sucralosa	37.1±5.5	64±1.6
Bebida formulada con sacarosa	44.6±5.3	69.3±.93
Bebida formulada con fructosa	53.2±.46	157±1.4

En la tabla anterior se observa que la adición de mucílago aumenta el % I esto debido, muy probablemente, a que el mucílago también contiene polifenoles. La adición de cualquier edulcorante a la bebida formulada disminuye la concentración de polifenoles totales y % I. De los resultados anteriores se concluye que la adición de un edulcorante tanto en las soluciones modelo como en la bebida formulada, impactará en las interacciones entre polifenol pectina y por lo tanto sobre la disponibilidad de los polifenoles.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- ✓ Basu, S., Shivhare, U., Singh T. (2013a). Effect of substitution of stevioside and sucralose on rheological, spectral, color and microstructural characteristics of mango jam. *Journal of Food Engineering*, 114(4), 465–476.
- ✓ Buchweitz, M., Speth, M., Kammerer, D., Carle, R. (2013). Impact of pectin type on the storage stability of black currant anthocyanins in pectic model solutions. *Food chem*, 139(1-4), 1168–78.
- ✓ Ginestra G., Parker M., Bennett R., Robertson J.(2009) Anatomical, Chemical, and Biochemical Characterization of Cladodes from Prickly Pear Agric. *Food Chem.* 57, 10323–10330.
- ✓ Jun L., Corradini M., Ludescher R. (2013) Influence of antioxidant structure on local molecular mobility in amorphous sucrose 383 14-20.
- ✓ Le Bourvellec, C., Renard, C.(2012). Interactions between polyphenols and macromolecules: quantification methods and mechanisms. *Food Science and nutrition*, 52(3), 213–48.
- ✓ Ortega, M. T., Villanueva, S., Padilla, E., & Saldarriaga, H. A. (2008). Antioxidant Activity and Bioactive Compounds in a Soft Drink Formulated with Aqueous Extracts of Avocado Seeds and Cactus cladodes.
- ✓ Pahua-Ramos, M., Ortiz A., Chamorro G., Hernández M., Garduño L., Necochea- H., Hernández M. (2012). Hypolipidemic effect of avocado seed in a hypercholesterolemic mouse model. *Plant foods for human nutrition*. 67(1), 10–6.