



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# **Evaluación de la inclusión del asai (*Euterpe precatoria* Mart) en el desarrollo de una bebida funcional**

**Yuri Milena Castillo Quiroga**

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA)

Bogotá, Colombia

2014



# **Evaluación de la inclusión del asai (*Euterpe precatoria* Mart) en el desarrollo de una bebida funcional**

**Yuri Milena Castillo Quiroga**  
Nutricionista-Dietista

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título  
de:

***Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos***

Director (a):

Ph.D MARIA SOLEDAD HERNANDEZ GÓMEZ

Docente Asociada Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA)  
Universidad Nacional de Colombia

Codirector (a):

Ph.D MARY LARES

Docente Asociada Escuela de Nutrición y Dietética.  
Universidad Central de Venezuela

Línea de Investigación:

Innovación y Desarrollo de Productos

Grupo de Investigación:

Frutales Promisorios de la Amazonía

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA)

Bogotá, Colombia

2014



## *Dedicatoria*

*A Dios, a mi madre del cielo, y todos los seres de luz que me guían y acompañan.*

*A mis Padres por su amor y fe infinita en mí.*

*A mi Familia y amigos por su apoyo incondicional.*

*A mis Maestros por aportarme conocimiento y más que eso, humanidad.*

*Al poder que tenemos los seres humanos de transformarnos y trascender.*



## Agradecimientos

- Al Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas - Sinchi y al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos – ICTA por los recursos humanos y técnicos que colaboraron en la realización de esta tesis.
- A la Dra. María Soledad por su valiosa dirección, confianza y amistad que permitieron la ejecución exitosa de este trabajo.
- A mi Codirectora, Dra. Mary Lares, por su colaboración, consejos, aportes y fé durante toda la ejecución de la tesis.
- Al profesor Orlando Martínez por su asesoría en el análisis estadístico.
- A Colciencias por los recursos suministrados a través del proyecto “Inclusión de compuestos funcionales de origen amazónico en productos transformados y evaluación de su biodisponibilidad en consumidores” RC 368-2012 – Colombia.
- A los pacientes y voluntarios que se vincularon con la realización del estudio clínico piloto.
- A la Dra. Sara Britto y todo el recurso humano del Servicio de Metabolismo y Endocrinología del Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo, Caracas, República Bolivariana de Venezuela.
- A la Dra. Carolina Pestana y la Dra. Antonella Porto del Laboratorio de Genética Molecular Humana, Departamento de Biología Celular, Universidad Simón Bolívar, Caracas, República Bolivariana de Venezuela.
- Al Dr. Marcos Álvarez del Instituto Anatómico José Izquierdo, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, República Bolivariana de Venezuela.
- A mi familia, a mi novio, a mis amigos PL Vive y Dar, a mis docentes, compañeros y todos quienes estuvieron junto a mí durante este importante período de mi vida y me ayudaron a alcanzar mis metas y objetivos.



## Resumen

El asai es el fruto de un árbol de hoja perenne tipo palma que se encuentra en las llanuras de inundación de la región amazónica. Este producto puede ser considerado como un alimento funcional por ser fuente de compuestos fitoquímicos con alto poder biológico en la modulación de algunas patologías relacionadas con el estrés oxidativo. Se realizó la caracterización bromatológica, microbiológica, fisicoquímica y antioxidante de la pulpa de la especie *Euterpe precatoria* Mart, nativa de la amazonía colombiana y se determinó su aptitud tecnológica para su inclusión en una bebida en polvo obtenida a través de secado por convección forzada, la cual fue evaluada toxicológicamente en larvas de pez cebra y en su efecto antioxidante en un grupo de voluntarios humanos, estableciendo relaciones con la expresión de dos genes involucrados en su respuesta metabólica. En razón a sus propiedades nutricionales y fisicoquímicas fue posible obtener una bebida funcional segura y con alta aceptabilidad a partir del asai, cuyo contenido de compuestos bioactivos se tradujo en la reducción de marcadores de estrés oxidativo en el modelo humano estudiado, luego de una semana de consumo.

**Palabras clave:** Salud, Antioxidantes, Frutos Amazónicos, Alimentos Funcionales, asai, *Euterpe precatoria*, Convección Forzada.

## Abstract

Asai is the fruit of an evergreen palm type found in the floodplains of the Amazon region. This product can be considered a functional food as a source of high biological phytochemicals with power in modulation of some diseases related with oxidative stress. Bromatological, microbiological, physicochemical and antioxidant characterization of pulp of *Euterpe precatoria* Mart, native to the Colombian Amazon, was performed and technological aptitude was determined for inclusion in a beverage powder obtained from drying by forced convection, which was evaluated toxicologically in zebrafish larvae and its antioxidant effect in a group of human volunteers, establishing relationships with the expression of two genes involved in the metabolic response. Due to its nutritional and physicochemical properties was possible to obtain a secure, high acceptability functional beverage from asai , the content of bioactive compounds resulted in the reduction of oxidative stress markers in the human model studied after one week consumption .

**Keywords:** Health, Antioxidants, Amazonian Fruits, Functional Foods, *Euterpe precatoria*, asai, Forced Convection.

# Contenido

	Pág.
Resumen .....	IX
Lista de figuras.....	XIV
Lista de tablas .....	XVI
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XIX
Introducción .....	21
<b>1. Componentes bioactivos del asai (<i>Euterpe oleracea</i> Mart y <i>Euterpe precatoria</i> Mart) y su efecto sobre la salud .....</b>	<b>26</b>
1.1    Introducción .....	27
1.2    Prevención de enfermedades asociada al consumo de frutas .....	29
1.3    Compuestos Fenólicos como Antioxidantes.....	29
1.3.1    Flavonoides.....	30
1.4    Asai .....	33
1.4.1    Descripción Botánica.....	33
1.4.2    Contenido Nutricional.....	34
1.5    Sustancias Bioactivas presentes en el asai .....	41
1.5.1    Antocianinas y Antocianidinas.....	41
1.5.2    Antocianinas, Proantocianidinas y Capacidad Antioxidante del asai ...	43
1.6    Asai y Salud.....	47
1.6.1    Asai y Cáncer.....	48
1.6.2    Asai y su acción antiinflamatoria .....	51
1.6.3    Asai y su acción antioxidante .....	52
1.6.4    Asai y Cardioprotección .....	54
1.7    Conclusión.....	54
Bibliografía .....	55
<b>2. Caracterización del fruto amazónico asai (<i>Euterpe precatoria</i> Mart) .....</b>	<b>61</b>
2.1    Introducción .....	63
2.2    Materiales y Métodos.....	65
2.2.1    Material Vegetal .....	65
2.2.2    Preparación de las muestras.....	66
2.2.3    Análisis bromatológico y de composición nutricional .....	66
2.2.4    Análisis Antioxidante .....	67
2.2.5    Análisis Físicoquímico .....	69
2.2.6    Análisis Microbiológico .....	70

2.2.7	Análisis Estadístico .....	70
2.3	Resultados y Discusión .....	70
2.3.1	Análisis Bromatológico y de composición nutricional .....	70
2.3.2	Análisis Antioxidante.....	75
2.3.3	Análisis Físicoquímico.....	79
2.3.4	Análisis Microbiológico.....	81
2.4	Conclusiones.....	82
	Bibliografía.....	82
<b>3.</b>	<b>Efecto de las temperaturas de secado sobre capacidad antioxidante del asai (<i>Euterpe precatoria</i> Mart).....</b>	<b>91</b>
3.1	Introducción.....	92
3.2	Materiales y Métodos .....	95
3.2.1	Material Vegetal.....	95
3.2.2	Preparación de la Muestra .....	95
3.2.3	Secado .....	95
3.2.4	Granulometría.....	96
3.2.5	Fenoles totales y Capacidad Antioxidante .....	96
3.2.6	Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	96
3.3	Resultados y Discusión .....	97
3.3.1	Secado .....	97
3.3.1.1	Obtención del deshidratado tipo pulpa .....	98
3.3.1.2	Obtención del ingrediente natural con maltodextrina .....	100
3.3.2	Granulometría.....	104
3.3.3	Contenido y capacidad antioxidante .....	104
3.4	Conclusiones.....	110
	Bibliografía.....	110
<b>4.</b>	<b>Formulación y evaluación de una bebida en polvo con propiedades antioxidantes a partir del fruto de asai (<i>Euterpe precatoria</i> Mart).....</b>	<b>117</b>
4.1	Introducción.....	118
4.2	Materiales y Métodos .....	119
4.2.1	Obtención del ingrediente natural .....	119
4.2.2	Análisis bromatológico y nutricional del deshidratado de asai.....	120
4.2.3	Formulación de la bebida.....	120
4.2.4	Análisis Antioxidante.....	121
4.2.5	Análisis Físicoquímico.....	121
4.2.6	Análisis Sensorial .....	122
4.2.7	Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	122
4.3	Resultados y Discusión .....	123
4.3.1	Composición nutricional del ingrediente natural .....	123
4.3.2	Análisis Antioxidante de las bebidas formuladas.....	125
4.3.3	Análisis Físicoquímico.....	130
4.3.4	Análisis Sensorial .....	132
4.4	Conclusiones.....	135
	Bibliografía.....	135

<b>5. Evaluación de la dosis segura de una bebida de asai (<i>Euterpe precatoria</i> Mart.) en el pez cebra y su efecto sobre biomarcadores y alelos de riesgo asociados a polimorfismos para las enzimas Paraxonasa-1 y Óxido nítrico sintasa endotelial en sujetos sanos .....</b>	<b>139</b>
5.1 Introducción .....	141
5.2 Materiales y Métodos.....	143
5.2.1 Producto en estudio .....	143
5.2.2 Estudio toxicológico en modelo <i>in vivo</i> .....	145
5.2.2.1 Obtención de larvas de pez cebra ( <i>Danio rerio</i> ) .....	145
5.2.2.2 Ensayo de toxicidad. ....	146
5.2.3 Estudio clínico piloto .....	146
5.2.3.1 Sujetos.....	146
5.2.3.2 Desarrollo del estudio.....	147
5.2.4 Estudios de polimorfismos .....	149
5.2.5 Análisis Estadístico .....	150
5.3 Resultados y Discusión.....	151
5.3.1 Pruebas toxicológicas .....	151
5.3.1.1 Ensayo de Toxicidad.....	151
5.3.1.2 Cambios Morfológicos.....	152
5.3.2 Intervención en sujetos sanos .....	154
5.3.3 Influencia genética en la respuesta antioxidante .....	161
5.3.3.1 Polimorfismo C.455A>G PON-1 (Paraxonasa-1).....	162
5.3.3.2 Polimorfismo C. 984G>T NOS-3 (Óxido-Nítrico sintasa endotelial), ..	163
5.4 Conclusiones .....	168
Bibliografía .....	168
<b>6. Consideraciones Finales y Recomendaciones .....</b>	<b>173</b>
6.1 Conclusiones .....	173
6.2 Recomendaciones .....	174
<b>A. Divulgación de los Resultados.....</b>	<b>175</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>179</b>

## Lista de figuras

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1-1:</b> Árbol familiar de los compuestos fenólicos presentes en los alimentos.....	30
<b>Figura 1-2:</b> Estructura base de los flavonoides.....	31
<b>Figura 1-3:</b> Fruto de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart) .....	34
<b>Figura 1-4:</b> Estructura base de las antocianidinas.....	41
<b>Figura 1-5:</b> Estructura base de las proantocianidinas.....	43
<b>Figura 2-1:</b> Proceso de obtención de la pulpa de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart) .....	65
<b>Figura 2-2:</b> Comportamiento reológico de la pulpa de asai en fresco ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart).....	80
<b>Figura 3-1:</b> Curvas de secado para la pulpa de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart) a tres temperaturas distintas (a) y el ajuste al modelo propuesto para cada tratamiento (b) ...	100
<b>Figura 3-2:</b> Curvas de secado para la pulpa de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart) y maltodextrina a tres temperaturas (a) y el ajuste al modelo propuesto para cada tratamiento (b).....	102
<b>Figura 3-3:</b> Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Deshidratado x Temperatura para Fenoles totales .....	106
<b>Figura 3-4:</b> Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Deshidratado x Temperatura para la capacidad antioxidante medida por el método DPPH.....	108
<b>Figura 3-5:</b> Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Deshidratado x Temperatura para la capacidad antioxidante medida por el método ABTS .....	109
<b>Figura 4-1:</b> Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Ingrediente natural .	126
<b>Figura 4-2:</b> Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Ingrediente natural .	127
<b>Figura 4-3:</b> Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Ingrediente natural .	128
<b>Figura 4-4:</b> Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Ingrediente natural .	132
<b>Figura 4-5:</b> Perfil AQD para tres muestras de bebidas elaboradas con el ingrediente natural de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.) .....	135
<b>Figura 5-1:</b> Relación entre la concentración de asai y el porcentaje de mortalidad de las larvas de pez cebra, transcurridas 8 horas de tratamiento. ....	151
<b>Figura 5-2:</b> Representación gráfica de la línea de regresión de la relación concentración–respuesta en el porcentaje de mortalidad de las larvas de pez cebra, transcurridas 8 horas de tratamiento. ....	152
<b>Figura 5-3:</b> Cambios morfológicos de las larvas de pez cebra tratadas con diferentes concentraciones del ingrediente natural de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.) por 24 horas de incubación.....	153

---

<b>Figura 5-4:</b> Electroforesis en gel de agarosa al 0.8 % y un volumen de carga de 6 $\mu$ L de las muestras de ADN aisladas del suero sanguíneo de los voluntarios que participaron en el estudio de intervención.....	161
<b>Figura 5-5:</b> Electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % y un volumen de carga de 3 $\mu$ L del fragmento amplificado para PON-1 .....	162
<b>Figura 5-6:</b> Electroforesis en gel de poliacrilamida al 12 % para el ensayo –RFLP enzima de digestión Hinf-I para PON-1.....	163
<b>Figura 5-7:</b> Electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % y un volumen de carga de 3 $\mu$ L del fragmento amplificado para NOS-3 .....	164
<b>Figura 5-8:</b> Electroforesis en gel de poliacrilamida al 12 % para el ensayo – RFLP enzima Mbo-I para NOS-3.....	165
<b>Figura 5-9:</b> Asociación entre el genotipo para PON-1 y los valores de 8- Isoprostano.	167

## Lista de tablas

	Pág.
<b>Tabla 1-1:</b> Clasificación de los flavonoides y fuentes alimentarias.....	32
<b>Tabla 1-2:</b> Análisis bromatológico del fruto asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada.....	34
<b>Tabla 1-3:</b> Composición nutricional del asai ( <i>Euterpe oleracea</i> Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada.....	35
<b>Tabla 1-4:</b> Perfil de ácidos grasos del asai ( <i>Euterpe oleracea</i> Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada.....	36
<b>Tabla 1-5:</b> Contenido de fibra dietaria identificada en el asai ( <i>Euterpe oleracea</i> Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada .....	39
<b>Tabla 1-6:</b> Contenido de micronutrientes presentes en el asai ( <i>Euterpe oleracea</i> Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada .....	40
<b>Tabla 2-1:</b> Composición nutricional proximal de la pulpa de asai liofilizada ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.).....	71
<b>Tabla 2-2:</b> Perfil de ácidos grasos del aceite extraído de la pulpa de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.).....	72
<b>Tabla 2-3:</b> Contenido de fibra dietaria presente en la pulpa de asai liofilizada ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.).....	73
<b>Tabla 2-4:</b> Contenido de micronutrientes presentes en la pulpa de asai liofilizada ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.).....	75
<b>Tabla 2-5:</b> Polifenoles y antocianinas totales de la pulpa de asai liofilizada ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.).....	76
<b>Tabla 2-6:</b> Capacidad antioxidante de la pulpa de asai liofilizada ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart). .....	78
<b>Tabla 2-7:</b> Parámetros fisicoquímicos de la pulpa de asai en fresco ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart). .....	79
<b>Tabla 2-8:</b> Color instrumental para la pulpa de asai en fresco ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart).80	
<b>Tabla 2-9:</b> Análisis microbiológico de la pulpa de asai en fresco ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart). .....	82
<b>Tabla 3-1:</b> Identificación de los tratamientos a evaluar en el secado por convección formulación .....	95
<b>Tabla 3-2:</b> Análisis de varianza para la característica humedad y las diferentes condiciones de proceso para la obtención de un deshidratado con asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.).....	97

<b>Tabla 3-3:</b> Ecuaciones del modelo cuadrático para la evaluación de la humedad durante el secado por convección de la pulpa de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.) a tres temperaturas distintas, a través del tiempo. ....	98
<b>Tabla 3-4:</b> Ecuaciones del modelo cuadrático para la evaluación de la humedad durante el secado por convección de la mezcla de pulpa de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.) y maltodextrina a tres temperaturas distintas, a través del tiempo. ....	101
<b>Tabla 3-5:</b> Porcentaje de retención en tamiz de los deshidratados de pulpa de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart) y maltodextrina.....	104
<b>Tabla 3-6:</b> Análisis de varianza para las características antioxidantes y las diferentes condiciones de proceso para la obtención de un deshidratado con asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.).....	105
<b>Tabla 4-1:</b> Identificación de las formulaciones a evaluar para el desarrollo de la bebida a base de asai <i>Euterpe precatoria</i> . ....	121
<b>Tabla 4-2:</b> Composición proximal del deshidratado elaborado con pulpa de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.) y maltodextrina a 65°C .....	124
<b>Tabla 4-3:</b> Contenido de fibra dietaria del deshidratado elaborado con pulpa de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.)y maltodextrina a 65°C.....	124
<b>Tabla 4-4:</b> Análisis de varianza para las características antioxidantes de las bebidas formuladas con base en el ingrediente natural con asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.).....	125
<b>Tabla 4-5:</b> Análisis de varianza para las características fisicoquímicas de las bebidas formuladas con base en el ingrediente natural con asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.).....	131
<b>Tabla 4-6:</b> Prueba de normalidad Shapiro Will para los atributos sensoriales evaluados en tres formulaciones diferentes de bebidas elaboradas con el ingrediente natural de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.) .....	133
<b>Tabla 4-7:</b> Prueba de Kruskal Wallis para los atributos sensoriales evaluados en tres formulaciones diferentes de bebidas elaboradas con el ingrediente natural de asai ( <i>Euterpe precatoria</i> Mart.) .....	133
<b>Tabla 4-8:</b> Prueba de diferencia mínima significativa para cada uno de los atributos sensoriales evaluados en las muestras de bebidas .....	133
<b>Tabla 5-1:</b> Aporte de macronutrientes y fibra dietaria de la bebida de asai formulada, por porción de 250 mL.....	144
<b>Tabla 5-2:</b> Contenido de antioxidantes tipo polifenol y capacidad antioxidante de la bebida de asai formulada, por porción de 250 mL .....	145
<b>Tabla 5-3:</b> Edad y sexo de los participantes del estudio clínico piloto .....	154
<b>Tabla 5-4:</b> Variables antropométricas antes y después de la ingesta de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai .....	155
<b>Tabla 5-5:</b> Ingesta de macro y micronutrientes de los pacientes antes (a) y después (b) del consumo por una semana de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai .....	156
<b>Tabla 5-6:</b> Indicadores bioquímicos evaluados en los voluntarios de forma basal y luego de dos horas de la ingesta de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai...	157
<b>Tabla 5-7:</b> Indicadores bioquímicos evaluados en los voluntarios de forma basal y después del consumo por una semana de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai .....	158

<b>Tabla 5-8:</b> Biomarcadores específicos para la estimación de estrés oxidativo y disfunción endotelial en estado basal y después del consumo por una semana de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai .....	159
<b>Tabla 5-9:</b> Evaluación de la Tensión Arterial (TA) en los participantes del estudio de intervención antes y tras una semana de la ingesta de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai .....	161
<b>Tabla 5-10:</b> Concentración y Pureza de las muestras de ADN g extraídas .....	162
<b>Tabla 5-11:</b> Distribución de genotipos en la evaluación de los polimorfismos para PON-1 y NOS-3 en los participantes del estudio clínico piloto .....	166
Tabla 5-12: Análisis de varianza para los biomarcadores que miden funcionalidad de los antioxidantes presentes en el producto evaluado, en función del impacto de los polimorfismos identificados. ....	166

## Lista de Símbolos y abreviaturas

### Fórmulas

Símbolo	Término	Unidad SI	Ecuación
<i>% In DPPH</i>	Porcentaje de inhibición DPPH	%	$\frac{A_{DPPH}-A_{mtra}}{A_{DPPH}} \times 100$
<i>% In ABTS</i>	Porcentaje de inhibición ABTS	%	$\frac{A_{ABTS}-A_{mtra}}{A_{ABTS}} \times 100$

### Subíndices

Subíndice	Término
$A_{DPPH}$	Actividad Antioxidante medida por el método DPPH
$A_{ABTS}$	Actividad Antioxidante medida por el método ABTS
A	Coordenada de color de verde a rojo (CIELAB)
B	Coordenada de color de azul a amarillo (CIELAB)
G	Gramo
L	Luminosidad
Mg	Miligramo
Min	Minuto
mL	Mililitro
T	Temperatura
$\mu\text{L}$	Microlitro
$\mu\text{mol}$	Micromol
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius

## Abreviaturas

Abreviatura	Término
-------------	---------

---

AG	Ácido gálico
EAG	Equivalentes de ácido gálico
ABTS	2,2-azinobis (3 etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
TE	Equivalentes Trolox
% In	Porcentaje de Inhibición
DE	Equivalentes de dextrina

# Introducción

El aprovechamiento de la biodiversidad de la flora amazónica y concretamente de ciertas especies denominadas “promisorias”, además de ser un modelo integral de gestión de los recursos de la región, se constituye en una herramienta para el diseño de nuevos productos comerciales con valor agregado (DPN, 2011). Dentro de esta línea se tienen por ejemplo el desarrollo de nuevos productos alimenticios a partir de frutos amazónicos, que pueden llegar a ser denominados “alimentos funcionales” por ser ricos en compuestos fitoactivos que tienen la propiedad de modular diferentes funciones fisiológicas en el ser humano (Gironés-Vilaplana, A. et al., 2014).

Dentro de los frutales amazónicos que han sido reconocidos con un alto potencial terapéutico, tanto en el saber popular como a través de la literatura científica, se encuentra el asai (*Euterpe oleracea* Mart), del cual se ha reportado un alto contenido de antioxidantes tipo polifenoles, que actúan como compuestos bioactivos (Lichtenthäler et al., 2005; Schauss et al., (a) (b) 2006; Sanabria & Sangronis et al., 2007; Palencia-Pacheco et al., 2007; Palencia Pacheco et al., 2009; Rufino et al., 2011; Kang et al., 2010; Del Pozo-Insfran et al., 2006; Hogan et al., 2010; Matheus et al., 2006). Así mismo, recientemente en algunos sectores de la selva amazónica se ha identificado la presencia de otra especie de este fruto denominada “Asai-do-terra-firma” (*Euterpe precatoria* Mart), que difiere de la primera en características como altura, tamaño de los frutos y también por mostrar un mayor contenido y capacidad antioxidante según lo refieren las primeras publicaciones al respecto (Palencia Pacheco et al., 2009; Kang et al., 2012).

*Euterpe precatoria* Mart se encuentra de manera silvestre en el Guaviare colombiano, es apreciada principalmente por las comunidades nativas de la zona y no se cuenta con plena información acerca de su oferta y potencial fitoquímico. Como especie subutilizada, *Euterpe precatoria* Mart, no ha sido estudiada y se desconocen sus aplicaciones en las industrias de alimentos, cosmética y nutraceútica. En este sentido, la caracterización de

nuevas fuentes de compuestos bioactivos como el asai debe contribuir a diseñar, desarrollar y lograr un mayor posicionamiento de los llamados “alimentos funcionales” en el contexto nacional, en pro de contrarrestar las principales problemáticas de salud del país, respondiendo simultáneamente al estudio y utilización responsable de los recursos naturales amazónicos.

Así pues, en lo que concierne al desarrollo de alimentos innovadores, es de resaltar como la industria productora de bebidas ha experimentado un gran crecimiento en los últimos años. En este sentido, el mercado de productos con un valor agregado a través de sus estrategias de logística y transporte, energía, empaques y procesos de producción, ha tenido gran impacto, sin embargo, el ofrecer productos naturales, con un alto valor nutricional y con declaraciones de salud, es lo que más ha permitido a las empresas del sector aumentar sus volúmenes de ventas y ser reconocidas por los consumidores, esto de acuerdo a la tendencia evidenciada en el estudio Food Trends International realizado por Ipsos- Napoleón Franco a finales de 2007, el cual muestra que “un 59% de los colombianos afirma haber realizado recientemente cambios en su alimentación para hacerla más saludable” (SENA, 2013). No obstante, contrastando esta información con las cifras de enfermedades no transmisibles (ENT) (OMS, 2011) y los datos suministrados por la ENSIN 2010 (ICBF, 2010) sobre obesidad, sobrepeso y hábitos alimentarios en Colombia, puede abrirse un gran debate en torno al impacto de la oferta de productos procesados y si la industria de bebidas está ofreciendo realmente opciones completamente saludables a los consumidores, a la luz de la evidencia científica.

Ahora bien, también vale la pena mencionar que actualmente en el mercado de bebidas, se consideran dos grandes categorías: Bebidas listas para consumir y bebidas en polvo. En Colombia la primera categoría ha sido líder por muchos años y la industria ha venido innovando con bebidas enriquecidas y adicionadas con vitaminas y/o minerales, fibra, pulpa de fruta y proteína, bebidas para el control de peso, aguas saborizadas y gasificadas, bebidas con extractos botánicos y bebidas energizantes. Entre tanto, las bebidas en polvo, ya han tenido trayectoria en el mercado, el consumidor las ha relacionado más con el concepto de recuperación, salud y bienestar y, han venido desplazando en una proporción significativa a las gaseosas por ejemplo (GNPD - Global New Products Database, 2013).

Ahora bien, pensando en el procesamiento de las denominadas “especies vegetales promisorias” en el territorio de la región amazónica colombiana, en el presente trabajo se recurrió a uno de los métodos convencionales de calentamiento y deshidratación: el secado por convección forzada. Este tipo de deshidratación se realiza a través de secadores directos o indirectos, continuos o discontinuos que tienen un diseño sencillo y cuyo consumo de energía es inferior, aspectos que se traducen en un proceso menos costoso (El-Sebaili SAA et al., 2002; Fenema, 2000; Della P, 2010; Espinoza J, 2011).

Al formular un alimento funcional es muy importante no sólo poner de manifiesto los componentes bioactivos que contiene, sino lograr proteger y cuantificar los mismos durante el procesamiento y asegurar mediante pruebas con modelos celulares, animales y grupos humanos, la acción biológica esperada tras la exposición. A pesar que existe evidencia científica concluyente acerca de los efectos positivos del asai en modelos *in vitro* (Schauss et al., (b) 2006; Palencia Pacheco et al., 2010; Kang et al., 2010; Del Pozo-Insfran et al., 2006; Hogan et al., 2010; Matheus et al., 2006), es importante resaltar que los estudios de intervención clínica que involucran seres humanos y que describen beneficios concretos del consumo regular del asai, son muy limitados. Sin embargo, recientes investigaciones como la realizada por Jensen et al., 2008 con la participación de doce voluntarios sanos y por Udani et al., 2011 con diez adultos en sobrepeso, ponen de manifiesto la reducción de los niveles de biomarcadores de peroxidación lipídica y de riesgo de síndrome metabólico, tras el consumo de una mezcla de jugo de asai (Mona Vie®) y de la pulpa de este fruto, respectivamente, hecho que puede ser el punto de partida para el desarrollo de más investigaciones en el tema.

En el presente trabajo se planteó un aprovechamiento innovador de la pulpa de asai, caracterizándola, incluyéndola en una bebida en polvo con características saludables para el consumidor y evaluando su efecto biológico en dos modelos *in vivo*: larvas de pez cebra y en un grupo de 8 voluntarios sanos. En el modelo animal se determinaron pruebas toxicológicas y en el grupo de pacientes se realizó una valoración médica, nutricional y bioquímica completa a fin de conocer el efecto fisiológico a corto y mediano plazo tras el consumo de la bebida formulada con el fruto amazónico y así poder establecer su potencial funcional.

De esta forma, para lograr los objetivos anteriormente descritos, el presente trabajo de maestría se ha estructurado en 5 capítulos:

En el primer capítulo se presenta el estado del arte en relación a los componentes bioactivos que se han descrito en el asai especie *oleracea*, haciendo énfasis en los antioxidantes tipo polifenol, grasa monoinsaturada y fibra presentes en el fruto y que le otorgan a este propiedades en la modulación de diversos procesos fisiológicos y por ende en la prevención y tratamiento de ciertas patologías.

En el segundo apartado, se muestra por primera vez en la literatura científica, la caracterización nutricional, fisicoquímica, microbiológica y antioxidante de la pulpa asai nativo de la amazonía colombiana (especie *precatoria*), profundizando en todo su potencial funcional.

En el tercer segmento, se ilustra la primera parte del aprovechamiento innovador que se planteó para el fruto en mención, haciendo referencia a la evaluación de las variables de humedad y temperatura en el proceso de secado por convección de la pulpa de asai (especie *precatoria*), y de una mezcla de este material con maltodextrina, como estrategia de preservación de los bioactivos ante el calor, para la obtención de deshidratados que fueron posteriormente definidos bajo el criterio de su contenido y capacidad antioxidante.

En el cuarto capítulo, se desarrolla a plenitud la aplicación innovadora de un ingrediente natural deshidratado elaborado con pulpa de asai (especie *precatoria*), que fue plenamente caracterizado desde la perspectiva bromatológica y antioxidante. Se hizo la formulación de nueve bebidas que fueron evaluadas desde la mirada antioxidante y fisicoquímica. Las tres bebidas con mejor comportamiento en las variables ya mencionadas, fueron finalmente evaluadas por 60 panelistas no entrenados tipo consumidores, con lo cual se logró definir todos los parámetros de aceptabilidad en pro de obtener un producto de alto impacto.

En la última parte del documento se ilustra la respectiva evaluación toxicológica y preclínica de la bebida en polvo desarrollada, en dos modelos *in vivo*, larvas de pez cebra y un grupo de 8 humanos voluntarios que accedieron a participar en el estudio de intervención. Se llevaron a cabo estudios nutricionales, bioquímicos y genéticos, a fin de dilucidar el impacto metabólico de la bebida en el corto (2 horas) y mediano plazo (1 semana de consumo diario), pudiéndose verificar una reducción del estrés oxidativo en

las lipoproteínas plasmáticas de los participantes, a través de biomarcadores específicos, como el 8-isoprostano.

Para finalizar, se exponen las principales conclusiones e implicaciones de la inclusión del asai como fuente de compuesto bioactivos en el desarrollo de alimentos funcionales en la industria alimentaria colombiana y las principales recomendaciones, luego de esta experiencia investigativa.

# 1. Componentes bioactivos del asai (*Euterpe oleracea* Mart y *Euterpe precatoria* Mart) y su efecto sobre la salud

## Resumen

La calidad de vida depende de múltiples factores siendo la salud, un elemento determinante. Así, la dieta y la nutrición son pilares fundamentales en la prevención y tratamiento de enfermedades no transmisibles. La ingesta suficiente de frutas y verduras disminuye el riesgo de aparición de estas patologías, debido a un alto aporte de sustancias biológicamente activas (vitaminas, minerales y antioxidantes). El asai (*Euterpe oleracea* Mart y *Euterpe precatoria* Mart) es el fruto de una palma que se encuentra en las llanuras de marea de los ríos de la región amazónica. La literatura informa que por su alto contenido de algunos macro y micronutrientes y de antioxidantes tipo antocianinas, este fruto disminuye los niveles de radicales libres, la peroxidación lipídica y el estado proinflamatorio. El objetivo de esta revisión fue explorar la fitoquímica, potencial terapéutico y la acción farmacológica del asai. La evidencia reporta una posible acción anticancerígena y cardioprotectora en modelos *in vivo* e *in vitro*, pero se carece de resultados concluyentes en humanos.

**Palabras Clave:** *Euterpe oleracea*, *Euterpe precatoria*, asai, Antioxidantes, Antocianinas, Salud, Fitoquímica, Enfermedades no transmisibles, Frutos amazónicos.

## Summary

The quality of life depends on many factors health being a key element. Thus, diet and nutrition are cornerstones in the prevention and treatment of NCDs. Sufficient intake of fruits and vegetables lowers the risk of these diseases, due to a high intake of biologically active substances (vitamins, minerals and antioxidants). The Maasai (*Euterpe oleracea* Mart and *precatoria* Mart) is the fruit of a palm found in the tidal flats of the rivers of the Amazon region. The literature reports that for its high content of some macro and micronutrients and antioxidants anthocyanins type, this fruit reduces the levels of free radicals, lipid peroxidation, and proinflammatory state. The objective of this review was to explore the phytochemical, pharmacological and therapeutic potential asai action. The study reports a possible anticancer and cardioprotective action in vivo and in vitro models, but no conclusive results in humans.

**Key Words:** *Euterpe oleracea*. *Euterpe precatoria*. asai. Antioxidants. Anthocyanins. Health. Phytochemistry. Chronic Diseases. Amazon fruits.

## 1.1 Introducción

Las enfermedades no transmisibles (ENT), tales como las afecciones cardiovasculares y respiratorias, el cáncer y la diabetes, son patologías que se caracterizan por su larga duración y lenta progresión; en la actualidad se les reconoce por su alto impacto sobre las cifras de morbilidad en países desarrollados pero sobretodo en las naciones en vías de desarrollo, situación que se prevé, empeorará en los próximos años (FAO/OMS, 2003; OMS, 2008; OMS, 2010). El escenario parece ser más preocupante considerando que desde edades más tempranas se presentan múltiples factores de riesgo para la aparición y desarrollo de EC, dentro de los que se destacan el sedentarismo, el tabaquismo, el sobrepeso, la obesidad y los malos hábitos alimentarios de la población (OMS, 2013).

En relación a este último aspecto, vale la pena destacar que la ingesta insuficiente de frutas y verduras, junto con el alto consumo de comidas rápidas, gaseosas y golosinas, se traduce nutricionalmente en dos situaciones: primero, en un bajo consumo de sustancias biológicamente activas tales como vitaminas, minerales y metabolitos

secundarios (compuestos fenólicos, carotenoides, esteroides, glucosinolatos, saponinas, etc) que cumplen funciones antioxidantes y segundo, en un alto aporte dietético de grasas (principalmente saturadas y trans) y azúcares. Las consecuencias fisiopatológicas de la reunión de éstos factores de riesgo, resultan en la disminución de la capacidad antioxidante del plasma, la aparición del estrés oxidativo y el desarrollo de un estado proinflamatorio, que se postula como el fundamento o etiología de las enfermedades no transmisibles (Allothman et al., 2009; Cassileth, 2008; Yang et al., 2007).

En este sentido, considerando que en la actualidad los consumidores buscan volver a lo “natural” y prefieren productos que les ofrezcan beneficios para su salud, es importante reconocer que las llamadas “frutas exóticas”, constituyen una fuente muy valiosa de una amplia gama de antioxidantes, entre ellos, los compuestos fenólicos provenientes del asai (*Euterpe oleracea* Mart y *Euterpe precatoria* Mart), una fruta a la cual se atribuyen hoy por hoy muchas propiedades curativas y hasta milagrosas, sobre todo a través de blogs, wikis, podcasts, grupos independientes de asesoramiento en salud, revistas especializadas disponibles en línea y como no, en las redes sociales (Dennehy et al., 2005).

El asai es una palma ampliamente distribuida en las llanuras de inundación natural del estuario de la amazonía brasilera, peruana, ecuatoriana, boliviana y colombiana (Sabbe et al., 2009; Lee & Balick, 2008). Su fruto, con el mismo nombre, es una baya redondeada a la que comercialmente se le atribuyen un sin número de propiedades. A raíz de esta situación, en la última década, pero especialmente desde el año 2005 hasta la actualidad, un número importante de investigadores han destinado sus esfuerzos en estudiar la composición y la acción biológica de la pulpa, del jugo y de los extractos de asai, sobretodo de la especie *oleracea*. Los resultados investigativos más relevantes hablan de un contenido considerable de polifenoles (antocianinas y flavonoides, principalmente) (Lichtenthaler et al., 2005; Schauss (a) et al., 2006; Schauss (b) et al., 2006; Sanabria & Sangronis et al., 2007; Pacheco-Palencia et al., 2007; Pacheco-Palencia et al., 2009) y de un perfil de ácidos grasos similar al del aceite de oliva y de aguacate (Nascimento et al., 2008).

## 1.2 Prevención de enfermedades asociada al consumo de frutas

En respuesta a las problemáticas de salud asociadas a la dieta y al estilo de vida “occidental”, los profesionales de la salud recomiendan ampliamente un alto consumo de frutas y verduras, en razón a que existe evidencia del importante papel de estos alimentos en la prevención y tratamiento de diferentes enfermedades (Kris-Etherton et al., 2002; Lim et al., 2007; Proteggente et al., 2002). Se ha demostrado que las personas que comen cinco raciones al día o más de frutas y verduras tienen aproximadamente la mitad del riesgo del desarrollo de una amplia variedad de tipos de cáncer, en particular los del tracto gastrointestinal (Gescher et al., 1998).

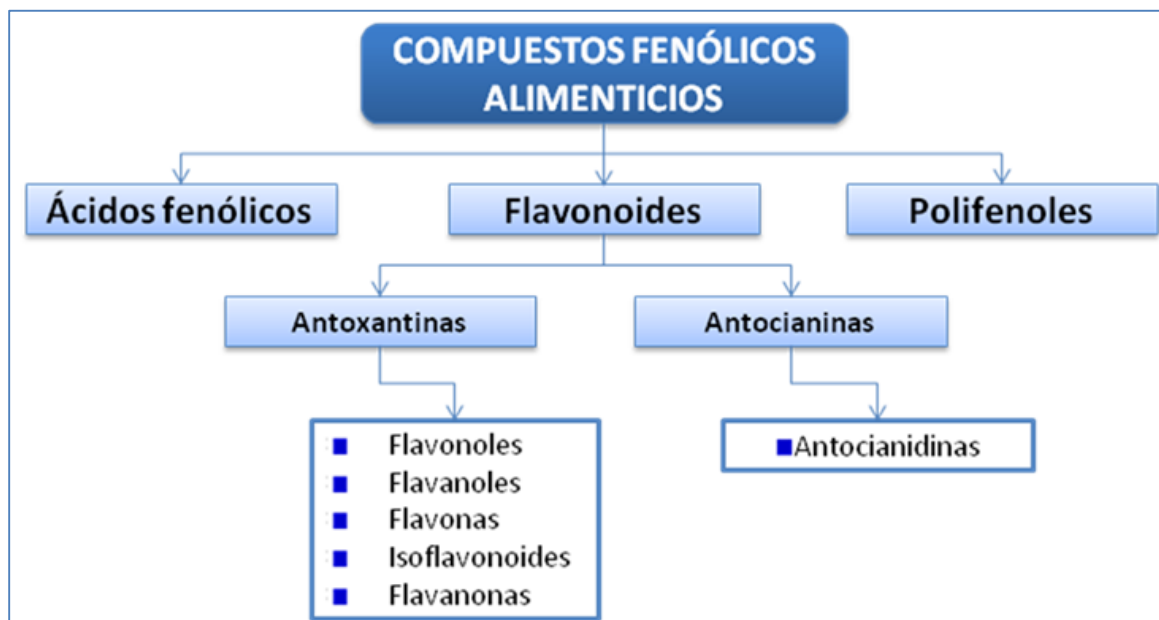
Debido al creciente interés en los compuestos antioxidantes presentes en los alimentos, a los que se les atribuyen la capacidad de inhibir los procesos de oxidación generados por los radicales libres en el organismo, se han dirigido varias investigaciones en pro de dilucidar un rol preventivo de las frutas sobre ciertas enfermedades como las cardiovasculares y el cáncer (Wang et al., 2011; Reiss et al., 2012). Actualmente, se reconoce que uno de los mecanismos asociados al desarrollo de la aterosclerosis es la oxidación de las partículas de colesterol LDL (lipoproteínas de baja densidad), lo cual facilita la penetración de los lípidos en las paredes arteriales, causando oclusión sobre todo en las arterias coronarias (Falk, 2006); se ha demostrado que un bajo nivel de antioxidantes en plasma, conduce a una alta mortalidad por aterosclerosis coronaria, por lo que algunos autores destacan la importancia de una dieta rica en verduras y frutas, que son fuente natural de antioxidantes (Esmailzadeh et al., 2006; Mirmiran et al., 2009).

## 1.3 Compuestos Fenólicos como Antioxidantes

Los compuestos fenólicos, una de las categorías más importantes de fitoquímicos, se agrupan según su estructura química en tres grupos: los ácidos fenólicos, los polifenoles y los flavonoides, siendo este el subgrupo más numeroso y diverso (Ochoa & Ayala., 2004) (**Figura 1-1**). El poder antioxidante de los compuestos fenólicos depende del número de anillos fenólicos, del número y posición de los grupos hidroxílicos y de los dobles enlaces presentes (Konga et al., 2003). Las distintas formas estructurales condicionan diferencias en la biodisponibilidad de estos compuestos, tanto en la

absorción en el tracto gastrointestinal, como en el metabolismo y en la distribución en tejidos y órganos (Castañeda-Ovando et al., 2009).

**Figura 1-1:** Árbol familiar de los compuestos fenólicos presentes en los alimentos

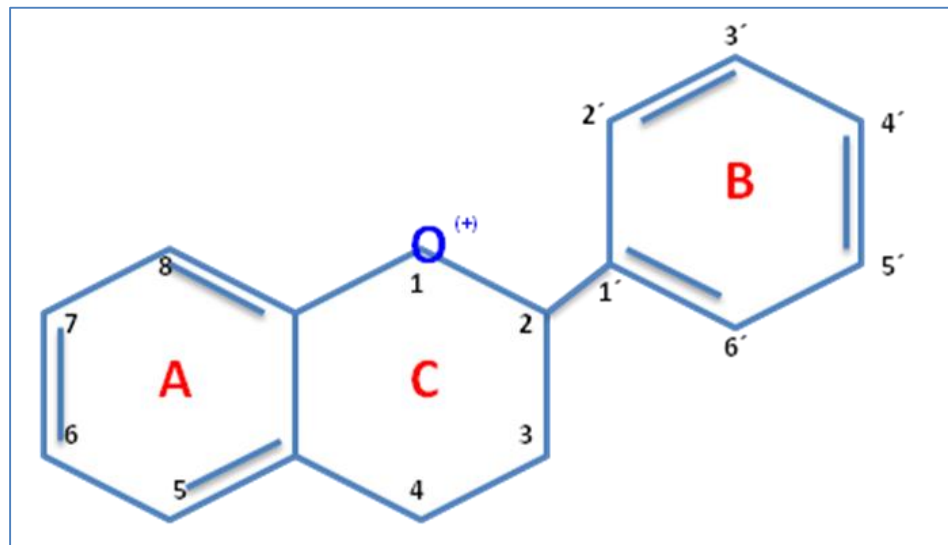


Fuente: Ochoa & Ayala., 2004

### 1.3.1 Flavonoides

Ochoa & Ayala., 2004 reportan que los flavonoides son estructuras conformadas dos anillos aromáticos que contienen grupos hidroxilos, unidos por una cadena lineal de 3 carbonos y un anillo heterocíclico, que en ocasiones ocurre en forma abierta. Expresado en otros términos, se trata de esqueleto común de difenilpiranos, compuesto por dos anillos fenilo (A y B) ligados a un anillo de pirano (C); esta estructura puede sufrir hidroxilación, metoxilación y glucosilación con mono y oligosacáridos, originando gran variedad de compuestos (**Figura 1-2**).

**Figura 1-2:** Estructura base de los flavonoides



Fuente: Martaix, 2010

Los flavonoides, son los compuestos fenólicos que proporcionan la mayor parte del sabor y del color a las frutas y vegetales; se han descrito más de 5000 flavonoides diferentes. Éstos se subdividen en antoxantinas (pigmentos blancos, amarillentos e incoloros) y antocianinas (pigmentos rojos, azules o púrpúreos), siendo estas últimas las más relevantes debido a su absorción diaria en la alimentación humana, estimada entre 180 y 215 mg/día en los Estados Unidos (**Tabla 1-1**). Ahora bien, es importante resaltar que diferentes autores presentan diversas clasificaciones para los flavonoides. Así, para la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, 2006) pueden clasificarse, según su esqueleto y vía metabólica, en flavonoides simples (derivados de la 2-fenil-1,4-benzopirona), isoflavonoides, (derivados de la 3-fenil-1,4-benzopirona) y neoflavonoides (derivados de la 4-fenil-1,2-benzopirona). Otros ordenamientos, reconocen seis y hasta siete clases principales de flavonoides, según la presencia de diferentes grupos funcionales: las chalconas, las flavonas, los flavonoles, los flavandioles, las antocianinas, los taninos condensados, y las auronas (Ghedira, 2005).

**Tabla 1-1:** Clasificación de los flavonoides y fuentes alimentarias

Flavonoide	Grupo	Compuesto	Alimento
Antoxantinas	Flavonoles	Quercetina Kempferol Miricetina	Lechuga, aceitunas y cebollas Brócoli Piel de fruta
	Flavonas	Luteolina Apigenina Crisina Rutina Sibetina	Apio Piel de manzana
	Flavanoles	Catequina Epicatequina Galocatequina	Vino tinto Té
	Flavanonas	Fisetina Mesperidina Naringina Naringenina Taxifolin	Cítricos Cítricos (limón, lima y mandarina) Cítricos Uvas Cítricos (piel)
	Isoflavonas	Genisteína Daidzeína Gliceteína	Soja Soja Soja
Antocianinas	Antocianidinas	Pelargonidina	Frambuesa
		Delfinidina	Cereza
		Cianidina	Bayas
		Petunidina	Vino tinto, fresa, frambuesa, té, piel de frutos con pigmentación oscura.
		Peonidina	Uva roja
		Malvidina	Uva

Fuente: Ochoa & Ayala., 2004

Los flavonoides y en general, los compuestos fenólicos, pueden actuar como antioxidantes primarios o secundarios. Pueden interrumpir las reacciones en cadena de radicales gracias a su capacidad de ceder un electrón al radical peroxilo de los ácidos grasos, razón por la cual inhiben la oxidación de las LDL. Además, estos compuestos fenólicos pueden retardar la reacción de iniciación, inhibiendo así la formación de radicales libres (Mataix, 2010). El creciente interés en los flavonoides se debe a su amplia actividad farmacológica, ya que pueden quelar iones, catalizar el transporte de electrones y secuestrar radicales libres. Gracias a esto, se han descrito efectos protectores en el desarrollo de patologías como diabetes mellitus, cáncer, procesos inflamatorios y enfermedad cardiovascular (Martínez-Flórez et al., 2002; Basu & Lyons, 2012).

Respecto a la biodisponibilidad de los flavonoides, se afirma que cuando éstos se ingieren pueden hidrolizarse gracias a dos  $\beta$ -endoglucosidasas, dejando libre para su absorción la fracción aglicona (antocianidina). Así mismo, se ha demostrado que la aglicona puede sufrir reacciones de sulfatación o metilación previamente a su aparición en el plasma. Otros flavonoides pueden absorberse una vez son hidrolizados por bacterias intestinales. Además de lo indicado, la biodisponibilidad también está condicionada por un mejor o peor transporte en el enterocito y su facilidad de metabolización por conjugación (Mataix, 2010; Martínez-Flórez et al., 2002).

## 1.4 Asai

### 1.4.1 Descripción Botánica

El asai, también conocido como assaí, palmito, palma de manaca o manaca, es una Arecácea de la clase Palmae, cuyos frutos forman racimos de color verde durante los estados inmaduros y morado oscuro cuando se da la maduración completa. La especie local predominante en cuanto a las exportaciones en Brasil, es *Euterpe oleracea* Mart, una palma de tallos múltiples que alcanza alturas de más de 25 metros, la cual es conocida como “Asai-do-pará” por encontrarse en el estuario del río Amazonas, estado de Pará (Brasil); su periodo de cosecha es entre julio y diciembre.

En tanto, *Euterpe precatoria* Mart, una palma de un solo tallo que alcanza una altura máxima de 22 metros, es la especie menos disponible y es conocida como “Asai-do-terra-firma”; se encuentra en las regiones central y occidental de la amazonía y su periodo de cosecha es entre enero y abril. Los frutos de *Euterpe oleracea* Mart, tienen entre 1,0 y 1,4 cm de diámetro, en tanto que los de *Euterpe precatoria* Mart, son más grandes, alcanzado diámetros de hasta 1,8 cm (Pacheco-Palencia et al., 2009). Para ambas especies, cada baya tiene una gran semilla de 7-10 mm, la cual representa la mayor parte del volumen de la fruta (80-95%). Alrededor de esta semilla se encuentran finas capas fibrosas y un ligero recubrimiento de grasa de más o menos 0,5-1,5 mm de espesor, que corresponde al mesocarpio comestible. El epicarpio cáscara es de color púrpura y es una capa muy fina y suave (Sabe et al., 2009; Rogez, 2000; Pompeu et al., 2009) (**Figura 1-3**).

**Figura 1-3:** Fruto de asai (*Euterpe precatoria* Mart)



a. Asai entero con la superficie lisa. b. Corte longitudinal con mesocarpio (pulpa) delgado y endosperma blanco. c. Fibras longitudinales de la pulpa. d. Semilla rodeada por endocarpio marrón oscuro. Fuente: Velarde et al., 2008

## 1.4.2 Contenido Nutricional

### ▪ Macronutrientes

En relación a la especie *Euterpe precatoria* Mart, existen dos trabajos de investigación donde se realizó un primer acercamiento a la caracterización bromatológica y fisicoquímica de la pulpa estandarizada de este fruto (Peña et al., 2012) antes y después de un proceso de filtrado (Castillo et al., 2012) y durante el proceso de maduración (Sinchi, 2011), como se puede ver en la **Tabla 1-2**.

**Tabla 1-2:** Análisis bromatológico del fruto asai (*Euterpe precatoria* Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada

Autor	Castillo et al. 2012				Sinchi, 2011			
	Pulpa estandarizada				Fruto Pintón		Fruto Maduro	
	Pulpa filtrada (Humedad=97,13% ±0,01)		Pulpa sin filtrar (Humedad=97,27% ±0,02)		Pulpa	Semilla	Pulpa	Semilla
	%	DE	%	DE				
Cenizas <sup>1</sup>	4,02	±0,22	2,48	±0,13	1,53	2,51	2,29	2,60
Extracto Etéreo <sup>1</sup>	11,49	±0,90	33,13	±4,29	19,61	7,57	36,96	15,04
Fibra Cruda <sup>1</sup>	4,46	±0,56	12,62	±0,40	59,28	70,12	42,44	36,29
Proteína <sup>1</sup>	0,03	± 0,41	0,03	±0,21	0,03	0,06	0,03	0,06
Carbohidratos <sup>1</sup>	80,00	±0,25	51,74	±0,32	19,55	19,74	18,28	46,01

<sup>1</sup>Datos expresados en Base Seca.

Sin embargo, la mayoría de los estudios publicados hasta el momento, han enfocado sus esfuerzos en el análisis del asai especie *oleracea*, proveniente de Brasil. Así, Schauss

(a) et al., 2006 estudiaron la composición de un liofilizado de la mezcla de la pulpa y el pericarpio de asai, reportando un completo análisis de ácidos grasos, esteroides, aminoácidos y otros nutrientes. Por su parte, Sanabria & Sangronis et al., 2007 analizaron la composición nutricional de la pulpa de dos cosechas de asai, sembradas en Puerto Ayacucho, región del Amazonas Venezolano. Un año después, Menezes et al., 2008 tuvieron como objetivo obtener el aporte nutricional de la pulpa liofilizada del asai como producto alternativo para reducir la pérdidas de nutrientes evidenciadas en la forma usual de comercialización del asai, la pulpa congelada. La más reciente investigación que ofrece resultados acerca de la composición de esta baya, es la de Rufino et al., 2011 quienes interesados en conocer el análisis proximal y de fibra dietaria de un cultivar específico (el llamado asai “BRS-Pará”), liofilizaron la pulpa del fruto. Los resultados de los estudios antes nombrados, se dan a conocer en la **Tabla 1-3**.

**Tabla 1-3:** Composición nutricional del asai (*Euterpe oleracea* Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada

Autor	Schauss (a) et al., 2006	Sanabria & Sangronis, 2007		Menezes et al., 2008	Rufino et al., 2011
Materia estudiada	Pulpa y Pericarpio Liofilizados (Este autor NO reporta sus resultados en base seca del material liofilizado. La humedad corresponde al 3,4%)	Pulpa Fresca		Pulpa Liofilizada (Este autor NO reporta sus resultados en base seca del material liofilizado. La humedad corresponde al 4,92 ± 0,12 %)	Pulpa Liofilizada (La humedad corresponde al 87,5 %)
		Primera Cosecha (Humedad de 48,6 g/100g)	Segunda Cosecha (Humedad 41,8g/100)		
Calorías	534 Cal Cal Grasa: 296	-	-	489 Cal	-
Cenizas (g)	3,8	5,2± 0,4 <sup>1</sup>	2,2 ± 0,1 <sup>1</sup>	3,68 ± 0,08	1,99 ± 0,17 <sup>1</sup>
Grasa (g) <sup>1</sup>	32,5	49,4± 1,1 <sup>1</sup>	33,1± 1,4 <sup>1</sup>	40,75 ± 2,75	20,82 ± 1,60 <sup>1</sup>
Proteína (g) <sup>1</sup>	8,1	13,8± 0,4 <sup>1</sup>	15,9± 0,3 <sup>1</sup>	8,13 ± 0,63	6,27 ± 0,31 <sup>1</sup>
Carbohidratos (g) <sup>1</sup>	52,2	31,6 <sup>1</sup>	48,8 <sup>1</sup>	42,53 ± 3,56	71,22 ± 1,22 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Datos expresados en Base Seca.

En este sentido, un primer aspecto para destacar es el alto contenido calórico que aporta esta fruta, lo cual se relaciona directamente con su contenido de materia grasa que según como se observa en los datos reportados, varía entre un máximo de 49,4 g±1,1/100 g en base seca (Sanabria & Sangronis, 2007) y un mínimo de 20,82 g±1,60/100 g en base seca (Rufino et al., 2011), sin embargo vale la pena mencionar que

otros estudios (Rogez et al., 2000) hablan de un contenido graso total superior y cercano a 52,64 g/100 g de materia seca. En cuanto al perfil de ácidos grasos (**Tabla 1-4**), dentro del grupo de los saturados se destaca el ácido palmítico, con un máximo de 25,56% (Menezes et al., 2008) y un mínimo de 23,0g±0,1/100g de grasa (Sanabria & Sangronis, 2007). También es relevante el ácido esteárico, con un máximo de 1,84% (Menezes et al., 2008) y un mínimo de 1,3 g±0,0/100 g de grasa (Sanabria & Sangronis, 2007). En total de Saturados, Schauss (a) et al., 2006 y Rufino et al., 2011, reportan cifras similares de 26,1 % y 26,7%, respectivamente.

**Tabla 1-4:** Perfil de ácidos grasos del asai (*Euterpe oleracea* Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada

A.G <sup>1</sup>		Schauss (a) et al., 2006	Sanabria & Sangronis, 2007	Menezes et al., 2008	Rufino et al., 2011
Saturados	Butírico	<0,1	-	-	-
	Capróico	<0,1	-	-	-
	Caprílico	<0,1	-	-	-
	Cáprico	<0,1	-	-	-
	Undecaenóico	<0,1	-	-	-
	Láurico	0,1	-	-	-
	Tridecaenóico	<0,1	-	-	-
	Mirístico	0,2	-	-	-
	Pentadecaenóico	<0,1	-	-	-
	Palmítico	24,1	23,0 ±0,1	25,56	25,3
	Margárico	0,1	-	-	-
	Esteárico	1,6	1,3 ± 0,0	1,84	1,4
	Nonadecaenóico	<0,1	-	-	-
	Eicosaenóico	<0,1	-	-	-
	Behénico	<0,1	-	-	-
	Tricosaenóico	<0,1	-	-	-
	Lignocérico	<0,1	-	-	-
<b>TOTAL:</b>		<b>26,1</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>26,7</b>

**Tabla 1-4:** Perfil de ácidos grasos del asai (*Euterpe oleracea* Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada - Continuación-

A.G <sup>1</sup>		Schauss (a) et al., 2006	Sanabria & Sangronis, 2007	Menezes et al., 2008	Rufino et al., 2011
Monoinsaturados	Tridecenóico	<0,1	-	-	-
	Miristoléico	<0,1	-	-	-
	Pentadecenóico	<0,1	-	-	-
	Palmitoléico	4,3	5,0 ±0,1	3,54	5,4
	Margaroléico	0,1	-	-	-
	Oléico	56,2	54,4 ±0,2	52,7	52,1
	Elaídico	<0,1	-	-	-
	Gadoléico	<0,1	-	-	-
	Erúcico	<0,1	-	-	-
	Nervónico	<0,1	-	-	-
	<i>TOTAL:</i>	60,6	-	-	62,3
Polinsaturados	Linoléico	12,5	16,00 ±0,0	0,95	10,6
	Linolénico	0,8	α-linolénico 0,8± 0,1		0,5
	Gama-linolénico	<0,1	-	-	-
	Eicosadienóico	<0,1	-	-	-
	Eicosatrienóico	<0,1	-	-	-
	Homogama-linolénico	<0,1	-	-	-
	Araquidónico	<0,1	-	-	-
	Eicosapentaenóico	<0,1	-	-	-
	Docosadienóico	<0,1	-	-	-
	Docosahexaenoico	<0,1	-	-	-
	<i>TOTAL:</i>	13,3	-	-	11,1

<sup>1</sup>AG= Ácidos Grasos

Respecto a los ácidos grasos monoinsaturados, hay que resaltar que este componente del perfil graso del asai es el que más llama la atención por el alto contenido de ácido oléico (omega 9), lo que permite que algunos investigadores (Nascimento et al., 2008; Benitez-Sánchez et al., 2003; Rogez et al., 2000) comparen la calidad de la grasa del asai con la del aguacate, el aceite de oliva y el de canola, ya que este ácido graso constituye más del 50% de la grasa del fruto, con un máximo de 56,2 % m/m (Schauss (a) et al., 2006) y un mínimo de 52,1% m/m (Rufino et al., 2011). Finalmente, en el grupo

de los poliinsaturados, se destaca el contenido de ácido linoléico, con un máximo de 16,00 g  $\pm$  0,0/100 g de grasa (Sanabria & Sangronis, 2007) y un mínimo de 0,95 % (Menezes et al., 2008). Se presentan cifras de poliinsaturados totales entre 13,3 % y 11,1 % reportadas por Schauss et al., 2006 y por Rufino et al., 2011, respectivamente.

En razón al aporte de proteína del asai, es de mencionar que existen diferencias notables entre la investigación de Sanabria & Sangronis, 2007 y los demás autores mencionados. El valor máximo reportado para proteína total es 15,9 g  $\pm$  0,3/100 g en base seca (Sanabria & Sangronis, 2007), mientras que el valor mínimo corresponde a 6,27 g  $\pm$  0,31/100 g en base seca (Rufino et al., 2011). Hay datos consistentes entre Schauss (a) et al., 2006 y Menezes et al., 2008 quienes obtuvieron valores de 8,1 g/100 g en base seca y 8,13 g  $\pm$  0,63/100 g de pulpa liofilizada, respectivamente. Sin embargo, como se puede observar, el aporte de este macronutriente en el asai, es muy bajo, y no se le puede considerar fuente.

En cuanto al análisis de carbohidratos, se presenta un valor máximo de 52,2 g /100 g en base seca (Schauss (a) et al., 2006) en contraste con un valor mínimo de 31,6 g/100 g en base seca (Sanabria & Sangronis, 2007). Respecto al contenido de azúcares totales los datos distan significativamente (Schauss (a) et al., 2006: 1,3% en pulpa y pericarpio liofilizados y Rufino et al., 2011: 7,93 g  $\pm$  2,11% en pulpa liofilizada), sin embargo se destaca el contenido de glucosa, principalmente (Schauss (a) et al., 2006, reporta un 0,8% en pulpa y pericarpio liofilizados). Las cantidades de fibra dietaria total (**Tabla 1-5**) reportadas, varían de forma importante, siendo máximo el valor mencionado por Rufino et al., 2011 con 70,92 g  $\pm$  1,22% en base seca de pulpa liofilizada y mínimo el dato de 20,0 % en base seca de pulpa fresca, reportado para la segunda cosecha estudiada en la investigación de Sanabria & Sangronis, 2007. Dentro de las fracciones de la fibra dietaria, ambos autores resaltan un mayor contenido de fibra insoluble en el asai (Sanabria & Sangronis, 2007; Rufino et al., 2011). Así, se puede concluir que el mayor aporte de carbohidratos por parte del asai, corresponde a compuestos no digeribles, tipo fibra insoluble.

**Tabla 1-5:** Contenido de fibra dietaria identificada en el asai (*Euterpe oleracea* Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada

Schauss (a) et al., 2006	Sanabria & Sangronis, 2007		Rufino et al., 2011
Pulpa y pericarpio liofilizados	Pulpa fresca		Pulpa liofilizada
	Primera cosecha	Segunda cosecha	
44,2 <sup>1</sup>	30,9 Insoluble: 27,3 ± 2,3 Soluble: 3.6 ± 0,2	20,0 Insoluble: 18,0 ± 0,2 Soluble: 2,0 ± 1,0	70,92 ±1,22 Insoluble: 68,49 ± 1,21 Soluble: 2,5 ± 0,16

<sup>1</sup>Dato expresado en Base Húmeda (Humedad de la muestra= 3,4%). El resto de los datos se reportan en base seca del material analizado.

▪ **Micronutrientes**

Se destaca el contenido de minerales como el sodio, calcio, hierro, manganeso, potasio y magnesio y en cuanto vitaminas, Schauss (a) et al., 2006 destacan dentro del grupo de las liposolubles, el contenido de vitamina A, sin embargo, vale la pena aclarar que el asai no se considera un alimento fuente de ninguno de los nutrientes mencionados en este apartado. En la **Tabla 1-6** se presenta el contenido de micronutrientes reportados por los investigadores mencionados anteriormente (Schauss (a) et al., 2006; Sanabria & Sangronis, 2007; Menezes et al., 2008).

**Tabla 1-6:** Contenido de micronutrientes presentes en el asai (*Euterpe oleracea* Mart) por cada 100 gramos de materia estudiada

Autor	Schauss et al., 2006	Sanabria & Sangronis, 2007		Menezes et al., 2008
Materia estudiada	Pulpa y Pericarpio Liofilizados (mg)	Pulpa Fresca <sup>1</sup>		Pulpa Liofilizada (mg)
		Primera Cosecha (mg)	Segunda Cosecha (mg)	
<b>Minerales</b>				
Na	30,4	66 ±0,030	9 ±0,001	28,5
Ca	260,0	373 ±0,007	182 ±0,012	330
Fe	4,4	23 ±0,002	15 ±0,007	4,5
Cr	-	3 ±0,001	4 ±0,001	-
Zn	-	6 ±0,001	2 ±0,001	2,82
Cu	-	1 ±0,001	1 ±0,001	2,15
Mn	-	9 ±0,001	13 ±0,001	10,71
K	-	697 ±0,132	466 ±0,040	900
Mg	-	79 ±0,001	112 ±0,006	124,4
P	-	200 ±0,011	92 ±0,005	54,5
Al	-	-	-	0,36
Co	-	-	-	0,009
Ni	-	-	-	0,28
As	-	-	-	<0,004
Rb	-	-	-	5
Mo	-	-	-	0,013
Se	-	-	-	<0,02
Ag	-	-	-	<0,0002
Cd	-	-	-	<0,0002
Ba	-	-	-	0,34
Hg	-	-	-	<0,01
Pb	-	-	-	0,014
Th	-	-	-	0,002
U	-	-	-	<0,0001
Sr	-	-	-	0,79
Sb	-	-	-	<0,0002
<b>Vitaminas</b>				
Vitamina C	<0,1	-	-	-
Vitamina A	β-caroteno: <5,0 IU Retinol: 1002 IU	-	-	-

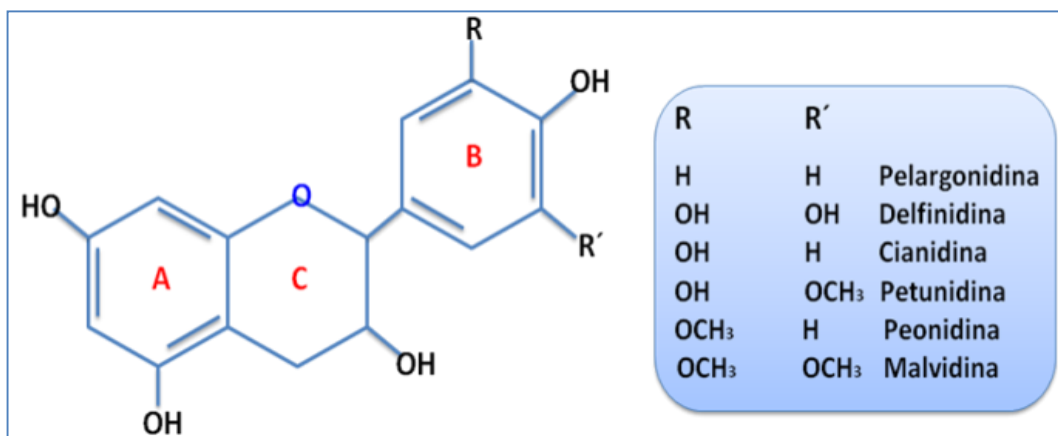
<sup>1</sup>Datos expresados en Base Seca.

## 1.5 Sustancias Bioactivas presentes en el asai

### 1.5.1 Antocianinas y Antocianidinas

Los compuestos fitoquímicos más importantes y que se han encontrado en cantidades considerables dentro de la composición del asai, son las antocianinas (Pacheco-Palencia et al., 2009; Kang et al., 2010). Éstas pueden definirse como flavonoides glicosilados que tienen un azúcar en la posición 3 y en ocasiones en alguna otra posición. Cuando las antocianinas carecen del azúcar, se les conocen como antocianidinas o agliconas (**Figura 1-2**). Hay seis antocianidinas comunes, siendo la cianidina la más común y responsable del color magenta, mientras que los colores rojo-naranja se deben a la pelargonidina (con un grupo hidroxilo menos que la cianidina) y los colores violeta y azul a la delfunidina (con un grupo hidroxilo más). Como parte de este grupo, también se encuentran metil-ésteres: peonidina (derivada de la cianidina), petunidina y malvidina (derivadas de la delfinidina). Cada antocianidina da lugar a un tipo determinado de antocianina, según las unidades de azúcar que se unan, el tipo de carbohidrato y el número y la posición en los que están unidos. Entre los monosacáridos que comúnmente se unen están la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa, y como disacáridos a la rutinosa, sambubiosa, soforosa, gentiobiosa y latirosa. Basadas en su glicosilación, estos compuestos pueden clasificarse como 3-monoglicósidos, 3-biósidos, 3,5-diglicósidos y 3,7-diglicósidos (Taiz & Zeiger, 2006).

**Figura 1-4:** Estructura base de las antocianidinas

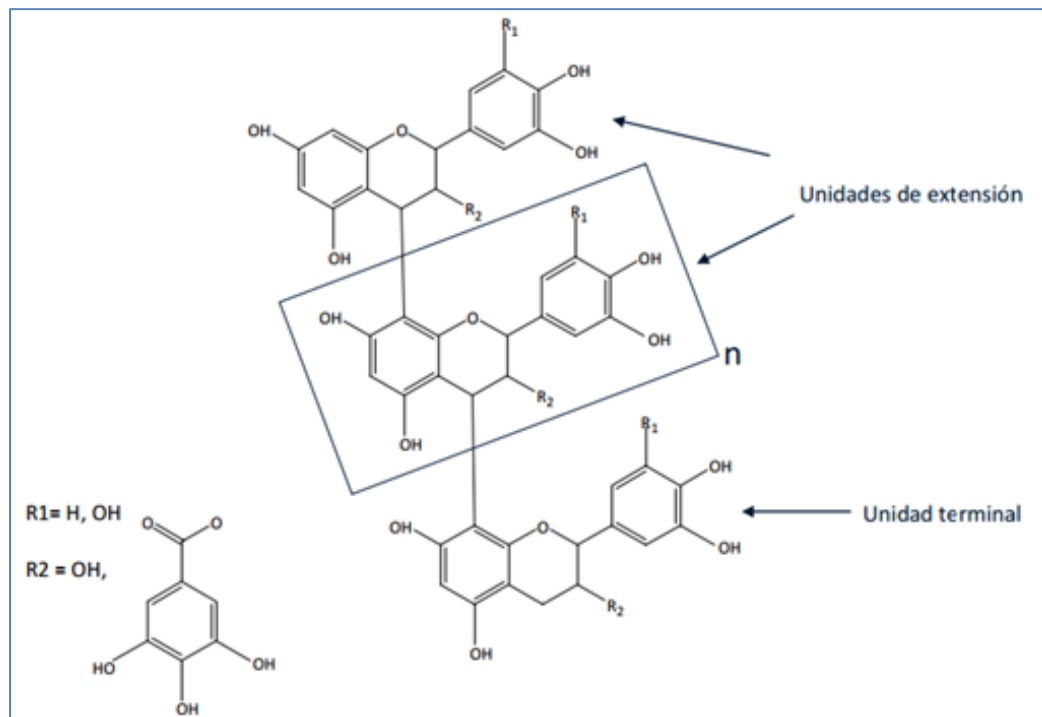


Fuente: autor

El color de las antocianinas depende de factores como: el número de grupos hidroxilo y metoxilo en el anillo B, la presencia de ácidos aromáticos esterificados en el anillo principal y el pH de las vacuolas celulares en las que se almacenan estos pigmentos. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas. Las antocianinas también pueden presentarse como complejos supramoleculares junto a iones metálicos quelados y flavonas. Otra variación que se puede presentar en la estructura de las antocianinas es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos (tales como malónico, acético, málico, succínico u oxálico) ó aromáticos (*p*-cumárico, caféico, ferúlico, sinápico, gálico, o *p*-hidroxibenzóico) (Garzón, 2008).

Autores como Schauss (a) et al., 2006 referencian también que en la composición del asai, prevalece la presencia de otro grupo de flavonoides, denominado proantocianidinas (**Figura 1-5**). Estos compuestos, definidos como sustancias derivadas de flavanoles, gozan de la mayor evidencia científica respecto a su papel en la regulación de múltiples efectos en la fisiología humana (Ghedira, 2005; Kruger et al., 2014). Específicamente, se trata de monómeros, oligómeros y polímeros de compuestos flavan-3-ol, que pueden presentarse libres o ligados a otras moléculas como antocianidinas, azúcares o ácidos orgánicos. Dentro de las proantocianidinas, los derivados de flavanoles polímeros reciben el nombre de taninos condensados y se trata entonces de cadenas formadas por diferente número de unidades de los diversos flavanoles unidas mediante enlaces C4-C8 o C4-C6. Otro subgrupo de las proantocianidinas, hace referencia a las procianidinas, que concretamente son oligómeros de flavanoles tipo(+)-catequina, (-)-epicatequina y sus formas esterificadas con glucosa y ácido gálico. Si se tratase de oligómeros de flavanoles tipo galocatequina y/o epigalocatequina, se hablaría de otro subgrupo llamado prodelphinidinas (Kruger et al., 2014).

**Figura 1-5:** Estructura base de las proantocianidinas



Las propiedades biológicas de las sustancias presentes en el Asai, dependen de su estructura química (grado de polimerización y acilación), el grado de absorción intestinal, la naturaleza de los metabolitos circulantes en el plasma y la excreción urinaria. La biodisponibilidad de las antocianinas y de las proantocianidinas en la alimentación humana es favorable, ya que están presentes en el trigo, frutas, vegetales y en el vino rojo y existen estudios epidemiológicos que destacan la asociación entre el consumo de estos alimentos ricos en compuestos fenólicos y la disminución del riesgo de enfermedad cardiovascular, tumores, alteraciones neurodegenerativas y de infecciones de vías urinarias (en mujeres), en razón a su capacidad para combatir el estrés oxidativo y su acción antimicrobiana (Balasundram et al., 2006).

### 1.5.2 Antocianinas, Proantocianidinas y Capacidad Antioxidante del asai

Estudios indican que el asai (*Euterpe oleracea*) contiene flavonoides, principalmente tipo antocianinas y proantocianidinas. Del Pozo-Insfran et al., 2004 realizaron la caracterización de los compuestos fenólicos de esta fruta mediante cromatografía líquida

y señalan un predominio de cianidina 3-glucósido (1040 mg/L de pulpa fresca) y de la pelargonidina 3-glucósido (74,4 mg/L de pulpa fresca), en el grupo de las antocianinas. Entre otros compuestos que los autores reportan, se encuentran el ácido ferúlico (212 mg/L de pulpa fresca), (-)-epicatequina (129 mg/L de pulpa fresca) y el ácido *p*-hidroxi benzoico (80,5mg/L de pulpa fresca), los cuales son constituyentes de las fracciones de proantocianidinas. En esta misma investigación, la capacidad antioxidante del fruto se estimó en 48,6  $\mu\text{mol ET}$  (Equivalentes de Trolox)/L de extracto acuoso (usando el método ORAC), la cual, según afirman los investigadores, es superior a la presentada por fresas (18,3-22, 9  $\mu\text{mol ET/g}$  de extracto acuoso), arándanos (8,20  $\mu\text{mol ET/g}$  de extracto acuoso) y frambuesas (19,2-22,6  $\mu\text{mol ET/g}$  de extracto acuoso).

Lichtenthäler et al., 2005 reportó el nivel de antocianinas y la actividad antioxidante de once muestras comerciales y no comerciales de pulpa de asai de la especie *oleracea* de las cosechas de 1998, 2000, marzo de 2001 y 2002. La capacidad antioxidante de todas las muestras de asai fue excelente contra radicales peroxilo (concentraciones de cianidina 3-glucósido de 4,4 -11,2 y 21,8 mg/L, con factores de dilución de la pulpa seca de 20, 50 y 80%, respectivamente y concentraciones de cianidina 3-rutinósido de 5,7 - 15,1 y 30,3 mg/L, con los mismos factores de dilución, respectivamente en el ensayo TOSC), buena contra radicales peroxinitrito y pobre para radicales hidroxilo en comparación con jugos de frutas y verduras europeos. Los autores plantean que las dos principales antocianinas identificadas (cianidina 3-glucósido y cianidina 3-rutinosido), sólo contribuyen al 10 % de la capacidad antioxidante total de la fruta, lo cual sugiere que la mayor parte de la capacidad antioxidante del asai puede estar relacionada con su contenido de proantocianidinas.

En este sentido, Schauss (a) et al., 2006 tomó la mezcla entre la pulpa y el pericarpio liofilizados del asai especie *oleracea* para analizar su contenido de compuestos fenólicos. Al respecto, los autores informan que a pesar de haber un contenido de antocianinas, específicamente en la forma de cianidin 3-rutinosido (1,93 mg/g materia seca) y cianidin 3- glucósido (1,17 mg/g materia seca) (antocianinas totales = 3,19 mg/g en base seca), la fracción de proantocianidinas fue más alta y se cuantificó en 12,89 mg/g en base seca, siendo predominantes los polímeros de epicatequina y catequina (total polímeros= 9.28 mg/g en base seca). Los investigadores identificaron fracciones de homoorientina,

orientina, isovitexina y desoxihexosa toxifolina y el resveratrol fue encontrado en pequeñas cantidades.

Partiendo de la misma materia prima, en una segunda investigación Schauss (b) et al., 2006 evaluaron la capacidad antioxidante del asai por diferentes pruebas, encontrando una actividad excepcional (1614 unit/g de pulpa liofilizada) contra el radical superóxido (determinado a través de la prueba SOD -superóxido scavenging-), contra el radical peroxilo (Hidrófilo: 997  $\mu\text{mol TE/g}$  de pulpa liofilizada; Lipofílico: 30  $\mu\text{mol TE/g}$  de pulpa liofilizada), medido usando la prueba ORAC -Capacidad de absorbancia del radical oxígeno- y una actividad media contra los radicales peroxinitrito e hidroxilo (34  $\mu\text{mol TE/g}$  de pulpa liofilizada y 52  $\mu\text{mol GAE/g}$  de pulpa liofilizada, respectivamente), a través de las pruebas NORAC -Capacidad de absorción de radicales libres deperoxinitrato- y HORAC - Capacidad de absorción de radicales libres de hidroxilo.

Sanabria & Sangronis, 2007 determinaron el contenido de taninos, polifenoles, antocianinas y la capacidad antioxidante de la pulpa seca y desengrasada del asai especie *oleracea*, proveniente de dos cosechas en el año 2005. Los datos de la primera y segunda cosecha son respectivamente: fenoles (usando el método de Folin-Ciocalteu): 5,02 y 2,20 g/100g, Taninos (usando el método colorimétrico): 0,70 y 1,37 g/100g, Antocianinas (usando el método espectrofotométrico, que cuantifica las antocianinas monoméricas totales como cianidina 3-glucósido, por el método de pH diferencial): 0,73 y 1.0 g/100g y la capacidad antioxidante fue 88,03 y 87,87% (% de inhibición), empleando el método DPPH. Los autores concluyen que las antocianinas son los compuestos fenólicos predominantes en el asai, provenientes de taninos condensados cuando sufren hidrólisis ácida y se liberan las fracciones de antocianidinas, que al volver a unirse con diferentes azúcares, originan antocianinas libres.

Pacheco-Palencia et al., 2007 estudiaron el jugo semiclarificado y clarificado del asai especie *oleracea* en comparación con la pulpa de la misma especie, con el fin de evaluar el efecto de la fortificación con vitamina C y los cambios en la composición fitoquímica durante el almacenamiento a 4 °C y 20 °C. En relación a los compuestos fenólicos, se confirmó el predominio de las antocianinas, en la forma cianidin 3-rutinosido y cianidin 3-glucósido, siendo mayoritaria la primera tanto en la pulpa como en el jugo semiclarificado

(cianidin 3-rutinosido con  $202,3 \pm 5,77$  mg/L y cianidin 3- glucósido con  $75,1 \pm 4,76$  mg/L). Se identificaron también flavanoles tales como (-)-epicatequina, (+)-catequina, cuatro flavan 3-ol derivados de la catequina (concentraciones entre  $3,14 \pm 0,76$  a  $55,7 \pm 2,2$  mg/L de jugo semiclarificado) y ácidos fenólicos tales como ácido protocatecóiico, *p*-hidroxibenzóico, *p*-cumárico, vainílico y ferúlico, en concentraciones entre  $1,06 \pm 0,11$  y  $2,97 \pm 0,84$  mg/L en la pulpa de asai. En relación a la capacidad antioxidante que fue evaluada por el método ORAC, los datos indican valores antioxidantes más altos que los de algunos extractos comerciales de arándano ( $4,6-30,5$   $\mu$ mol TE/g), mora ( $13,7-25,1$   $\mu$ mol TE/g), arándano agrio ( $8,6-14,1$   $\mu$ mol TE/g) y fresa ( $18,3-22,9$   $\mu$ mol TE/g), ya que la capacidad antioxidante del jugo clarificado fue de  $44,5 \pm 1,4$   $\mu$ mol ET/mL observándose una reducción importante en comparación con la pulpa y el jugo semiclarificado ( $54,4 \pm 1,7$   $\mu$ mol ET/mL).

Pacheco-Palencia et al., 2009 realizaron una caracterización del contenido y estabilidad térmica de los compuestos fenólicos presentes en el asai de las especies *oleracea* y *precatoria*, usando pulpa congelada de frutos completamente maduros. Los autores concluyeron que en ambas especies, las antocianinas fueron los metabolitos secundarios predominantes (*E. oleracea* Mart:  $2247 \pm 23$ mg /Kg y *E. precatoria* Mart:  $3458 \pm 16$ mg /Kg) y los responsables del 90% de la capacidad antioxidante del fruto, medida en ET (*E. oleracea* Mart:  $87,4 \pm 4,4$   $\mu$ mol ET/g y *E. precatoria* Mart:  $114 \pm 6,9$   $\mu$ mol ET/g). Estos autores también identificaron varias flavonas (homorientina, orientina, taxifolina, desiohexosa e isovitexina), algunos flavanoles derivados ((+)-catequina y (-)-epicatequina), dímeros y trímeros de procianidinas y ácidos fenólicos (protocatecóiico, *p*-hidroxibenzóico, vainílico, siríngico y ferúlico) en ambas especies. Así mismo, los investigadores determinaron que un ciclo térmico de  $80$  °C/60 min, causa pérdidas en el contenido de antocianinas del orden de  $34 \pm 2,3\%$  en la especie *oleracea* y del  $10,3 \pm 1,1\%$  en la especie *precatoria*.

Kang et al., 2010 estudiaron la pulpa liofilizada del asai especie *oleracea*, con el fin de realizar una caracterización de los principales flavonoides presentes y su capacidad antioxidante, utilizando varios métodos (ORAC, Protección antioxidante basada en células de ensayo -CAP-e- y Formación de especies reactivas de oxígeno -ROS- en células polimorfonucleares -PMN- neutrófilos -Prueba ROS/PMN-). Como resultado de

esta investigación se aislaron siete flavonoides, dentro de los cuales vitexina y quercetina fueron reportados por primera vez en la pulpa de asai. En cuanto a la capacidad antioxidante, los valores ORAC de las agliconas fueron más altos que los de los glucósidos. De otro lado, la prueba CAP-e indicó que luteolina, quercetina y dihidrokaemferol son capaces de entrar al citosol y contribuir a disminuir el daño oxidativo. El método ROS/PMN mostró que homoorientina, vitexina, quercetina y dihidrocaemferol, tienen efectos excepcionales para disminuir la formación de ROS en los PMN neutrófilos.

Rufino et al., 2011 estudiaron la capacidad antioxidante de la pulpa y del aceite del cultivar de asai “BRS-Pará”. Los investigadores afirman que al poseer un 71% en base seca de fibra dietaria total y un contenido de grasa del 20,82%, el asai puede ser considerado como una fuente potencial y promisoría para el desarrollo de alimentos funcionales. Los autores afirman que la capacidad antioxidante del aceite del asai puede llegar a ser similar a la del aceite de oliva extra virgen. En la pulpa también se reportó el predominio de la cianidina 3- glucósido, cianidina 3-rutinosido, homoorientina, orientina e isovitexina, compuestos con actividad antioxidante importante que mostraron asociación con la fibra dietaria, en el estudio.

La investigación más reciente es la de Kang et al., 2012, cuyo objetivo fue evaluar la actividad antioxidante de la pulpa de asai especie *precatória* en comparación con la especie *oleracea*, a través de la prueba CAP-e (Protección Celular Antioxidante en Eritrocitos). Como resultado principal se obtuvo que el extracto acuoso de la pulpa de asai especie *precatória* mostró una inhibición dosis-dependiente contra el daño oxidativo generado por la formación del radical peroxilo (IC50= 0,167g/L de extracto de la pulpa de asai) y que en comparación con esta especie, la inhibición del extracto de *Euterpe oleracea* no fue más que un 20% del valor ya mencionado.

## 1.6 Asai y Salud

Los extractos y el fruto de asai, en especial de la especie *oleracea*, ha despertado en los últimos años un gran interés debido a que ha mostrado actividad “funcional” asociada principalmente a su amplio contenido y capacidad antioxidante, exhibiendo propiedades

antiproliferativas y cardioprotectoras, principalmente (Del Pozo-Insfran et al., 2004). Hassimotto et al., 2009 seleccionaron 28 plantas y alimentos del Brasil incluyendo frutas, vegetales y pulpas congeladas comercializadas, con el objetivo de analizar su capacidad antioxidante. En sus resultados, los autores vieron que los valores de actividad antioxidante más altos fueron para las moras silvestres (19,8 mmol equivalentes BHT (butil hidroxitolueno)/ $\mu\text{g}$ ) y para la pulpa de asai (18,2 mmol equivalentes BHT/ $\mu\text{g}$ ). Así mismo, al enunciar que los alimentos con mayor cantidad de proantocianinas tienen efectos antioxidantes protectores para la salud, los investigadores comparan el contenido de estas sustancias entre el asai y el Arándano (1289mg/100 g de peso seco vs. 255,8mg/100 g de peso seco) y concluyen que esta primera fruta puede llegar a tener un mayor impacto en la prevención y tratamiento de varias enfermedades.

Ahora bien, también es importante mencionar que a pesar de que esta fruta ha sido reconocida para su uso en productos alimenticios y nutracéuticos, asociaciones como la American Dietetic Association (ADA) aún son muy escépticas en recomendar abiertamente el consumo del asai y sus productos, ya que consideran que la literatura científica que respalda las declaraciones en salud que se hacen en relación a este fruto, aún son muy escasas (Marcason, 2009).

### **1.6.1 Asai y Cáncer**

Los estudios relacionados con el impacto de los antioxidantes provenientes del asai y la disminución de la actividad carcinogénica, aún no muestran resultados concluyentes en humanos. Sin embargo, en modelos *in vitro* e *in vivo*, hay varios estudios con resultados promisorios, los cuales se mencionan a continuación.

Del Pozo-Insfran et al, 2006 evaluaron la actividad antiproliferativa y pro-apoptótica de la pulpa del asai en un modelo de células humanas HL-60 de leucemia promielocítica. Se indagó sobre las interacciones entre las antocianinas y los polifenoles no antocianicos en sus formas glucosídicas y agliconas, evaluando sus propiedades antioxidantes y bioactivas dentro de un intervalo de concentraciones fisiológicas, que corresponden a los valores que podrían esperarse en la sangre tras el consumo de alimentos ricos en cianidina 3-glucósido. Los autores encontraron que fracciones polifenólicas a

concentraciones entre 0,17-10,7  $\mu\text{mol}$  reducen la proliferación de los cultivos celulares estudiados entre un 56 y 86% debido a la activación de la 3-caspasa, enzima que media el proceso de apoptosis o muerte celular programada, hablando así de un efecto dependiente de la dosis y el tiempo. Así mismo, concluyeron que los ácidos fenólicos y flavonoides en sus formas glicosídicas tuvieron un mayor efecto antiproliferativo y apoptótico, al igual que las agliconas de antocianinas, postulando también que pueden existir ciertas interacciones antagónicas entre los fitoquímicos del asai, que pueden impactar desfavorablemente las propiedades individuales proapoptóticas y antiproliferativa de los bioactivos analizados.

Posteriormente en el año 2010, se produce un “boom” de trabajos de investigación respecto a las propiedades anticancerígenas del asai y es entonces cuando Hogan et al., 2010 utilizaron un extracto de asai rico en antocianinas a diferentes concentraciones para evaluar su efecto antiproliferativo *in vitro* en cultivos de células murinas C-6 de tumor cerebral y células humanas de cáncer de seno MDA-468, tratadas por 24, 48 y 72 horas. Los investigadores determinaron que los tres tratamientos usados con el extracto (50, 100, 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) suprimieron significativamente la proliferación de las células C-6 (en un 62%, 45%, y 38% de viabilidad celular, respectivamente), mientras que el crecimiento de las células MDA-468 no se vio afectado. Concluyen entonces que para las células C-6 cerebrales el efecto antiproliferativo es dosis dependiente con un IC50 de 121  $\mu\text{g} / \text{ml}$  después de 48 h de tratamiento con el extracto y que lleva conjuntamente a cambios en la morfología celular hacia la apariencia característica de células apoptóticas.

Pacheco-Palencia et al., 2010 estudiaron la composición química, las propiedades antioxidantes, la actividad antiproliferativa y la absorción *in vitro* de los segmentos monoméricos y poliméricos de las antocianinas del asai. Cianidina-3-rutinósido ( $58,5 \pm 4,6\%$ ) y cianidina-3-glucósido ( $41,5 \pm 1,1\%$ ) fueron los compuestos predominantes que se encuentran en las fracciones monoméricas, las cuales inhibieron la proliferación de células humanas HT-29 de cáncer de colon (0,5-100  $\text{lg}$  cianidina-3-glucósido equivalentes / ml) hasta en un 95,2%, en tanto que las fracciones poliméricas de las antocianinas (0,5-100  $\text{lg}$  cianidina-3-glucósido equivalentes / ml) indujeron hasta 92,3% de inhibición del crecimiento celular. En los ensayos de absorción *in vitro* utilizando células intestinales humanas caco-2, los autores demostraron que la cianidina-3-

glucósido y cianidina-3-rutinósido fueron transportadas desde la cara apical a la cara basolateral de las monocapas de células (0,5 a 4,9% de eficiencia), fenómeno que se dio para las antocianinas poliméricas luego de su incubación durante un máximo de 2 h.

Ribeiro et al., 2010 usaron modelos animales (ratones albinos suizos) para investigar dos aspectos: primero, la genotoxicidad de la pulpa de asai en la médula ósea, las células de sangre periférica, el hígado y el riñón, evaluada mediante el test de micronúcleos y la prueba comet y segundo, la antigenotoxicidad de la pulpa de asai en el daño al ADN inducido por la doxorubicina (DXR), un antibiótico antraciclino que ejerce sus efectos sobre las células cancerosas intercalándose entre las bases del ADN (bloqueando su síntesis y transcripción) e inhibiendo la enzima topoisomerase II. La DXR fue elegida para el estudio, teniendo en cuenta que la eficacia su acción farmacológica disminuye a medida que la toxicidad en ciertos órganos como el corazón, limitan su dosis de administración. Se analizó entonces el tratamiento agudo (24h) y subagudo (durante 14 días consecutivos) con diferentes dosis de pulpa de asai (3,33; 10,0 y 16,67 g / kg de peso corporal, en cada caso), administradas a los ratones por sonda sola o antes de la DXR (16 mg / kg de peso corporal), que se suministró el último día antes de eutanasia. Los autores determinaron que no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre el control negativo y los ratones tratados con las tres dosis de pulpa de asai sin DXR en todos los órganos analizados, lo que demuestra la ausencia de efectos genotóxicos por parte del asai. Ahora bien, respecto a la antigenotoxicidad de la pulpa, los investigadores concluyeron que puede generarse un efecto protector por parte del asai en los dos tratamientos proporcionados, cuando se administran antes de DXR; sin embargo, advierten que el tratamiento subagudo proporciona una mayor eficiencia en la protección contra el daño del ADN inducido por DXR en el hígado y las células del riñón. En este sentido, considerando que la toxicidad tisular mediada por DXR es causada por la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), este estudio pone de manifiesto que el uso de antioxidantes provenientes del asai puede tener una acción positiva disminuyendo estos radicales sin afectar la acción del fármaco sobre las células tumorales y también inhibiendo el daño inducido por DXR en los cromosomas de las células sanas.

### 1.6.2 Asai y su acción antiinflamatoria

Matheus et al., 2006 evaluaron el efecto de los extractos etanólicos, etil acetato y n-butanol de las flores, frutos y espinas de *Euterpe oleracea*, en la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), la producción de óxido nítrico (NO), la capacidad de eliminación (scavenger capacity) del NO y la viabilidad celular usando cultivos murinos monocitos-macrófagos RAW 264.7. En condiciones patológicas, la sobreproducción de NO mediada por iNOS se produce como respuesta a citoquinas proinflamatorias como Interleucina 1 $\beta$ , Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  (FNT- $\alpha$ ), Interferon  $\gamma$ , (IFN- $\gamma$ ) y Lipopolisacárido (LPS). En un ambiente oxidativo, las altas cantidades de NO reaccionan con especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, lo cual conduce a la toxicidad de macrófagos, células endoteliales y hepatocitos, entre otros. Los investigadores concluyeron que las fracciones de antioxidantes predominantes en el asai (Cianidin-3-glucósido y Cianidin-3-O-ramnósido) fueron mayoritarias en el extracto etanólico total de los frutos (con un 42 y 15 %, respectivamente), siendo este el que mostró un mayor impacto sobre la producción de NO (IC50 de 0,9  $\mu$ g /ml) y en la inhibición de la expresión de la iNOS.

Schauss (b) et al., 2006 determinaron que los antioxidantes del asai son capaces de entrar a células neutrofílicas humanas de forma completamente funcional y estudiaron su efecto sobre la inhibición de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la expresión de las enzimas ciclooxigenasa 1 y 2 (COX-1 y COX-2). También investigaron el efecto del asai en la proliferación de linfocitos y en la producción de NO mediada por LPS y la capacidad fagocítica en macrófagos. Dentro de los resultados más relevantes en neutrófilos, los autores concluyen que la formación de ROS fue inhibida con muy bajas dosis de asai (incluso con 10 ppm) y que la inhibición de COX-1 y COX-2 arrojó valores IC50 de 6,96 y 12,50 mg/mL de asai liofilizado, respectivamente para cada enzima. En los macrófagos, el asai mostró una inhibición dosis dependiente de la producción de NO mediada por LPS e incrementó levemente su actividad fagocítica, mientras que en los linfocitos no mostró ningún efecto significativo.

Kang et al., 2012 tuvieron como objetivo evaluar las propiedades antiinflamatorias de la pulpa de asai comparando las especies *precatória* y *oleracea*, mediante la prueba SEAP

(ensayo de secreción de fosfatasa alcalina embrionaria inducida por lipopolisacárido (LPS)). Los resultados más concluyentes del estudio indican que el extracto etilacético de la especie *precatoria* inhibió en un efecto dosis-dependiente, la activación del factor nuclear NK-Kappa B inducida por LPS en un 23% (20 µg/ml) en comparación a la especie *oleracea*, cuyo extracto no tuvo un efecto inhibitorio significativo a ninguna dosis, poniendo de manifiesto la superioridad en los efectos biológicos por parte de la primera especie.

### 1.6.3 Asai y su acción antioxidante

En razón a su altísima capacidad antioxidante demostrada a partir de varios ensayos químicos, son varios los investigadores que se han interesado en comprobar las propiedades protectoras del asai. Así, Jensen et al., 2008 usaron modelos *in vivo* e *in vitro* para indagar sobre las propiedades antiinflamatorias de un jugo comercial compuesto por la mezcla de vegetales y frutas, siendo el asai el ingrediente predominante. Los autores determinaron que las antocianinas más sobresalientes en el producto fueron cianidin 3-rutósido, cianidin 3-diglicósido, y cianidin 3-glucósido. El jugo evidenció un efecto positivo dosis dependiente en el ensayo de protección antioxidante en eritrocitos humanos (CAP-e), indicando que las antocianinas pueden atravesar la membrana plasmática de las células vivas y, luego proporcionar una protección significativa del daño oxidativo. En células polimorfonucleares humanas, el jugo mostró una reducción importante en la formación de especies reactivas de oxígeno y contribuyó a una menor migración celular hacia tres quimio-atrayentes proinflamatorios (péptido bacteriano fmlp, leucotrieno B4 (LTB4) e interleucina-8 (IL-8)).

Respecto al estudio *in vivo*, los investigadores examinaron la actividad antioxidante del jugo en dos momentos. Primero realizaron una prueba piloto del ensayo clínico con 5 participantes y posteriormente diseñaron un estudio cruzado, aleatorizado, doble ciego, placebo-controlado con 12 sujetos sanos entre 19 y 55 años, a quienes se les aplicó un cuestionario de ingesta diaria de alimentos, un recordatorio sobre la cantidad de ejercicio dentro de las últimas 24 horas y una encuesta sobre las situaciones de estrés y enfermedad, al mismo tiempo que se tomaba una muestra de sangre basal. Posteriormente se suministraron 120 mL de la bebida y se tomaron muestras de sangre 1

y 2 horas luego de la ingesta del jugo. El estado antioxidante en suero se evaluó usando la prueba CAP-e y la peroxidación de lipídica se determinó usando la prueba TBARS. Entre los hallazgos más importantes del estudio se destaca que el consumo del jugo aumentó la capacidad antioxidante del suero dentro de las 2 h post ingesta en 11 de 12 participantes y resultó en una disminución de la peroxidación lipídica en suero durante el mismo periodo de tiempo en 10 de los 12 voluntarios; hubo una correlación del 45% entre ambos fenómenos. Sin embargo, vale la pena mencionar que estos resultados no son 100% atribuibles al asai, sino al poder antioxidante que resulta de la mezcla de ciertos vegetales y frutas.

En el mismo año, Mertens-Talcott et al., 2008 con un interés similar al del grupo de Jensen et al., 2008, diseñaron un estudio clínico cruzado agudo usando pulpa y jugo clarificado de asai y puré de manzana y una bebida sin antioxidantes como controles. Se contó con la colaboración de 12 voluntarios sanos, a quienes se les suministró 7 mL de la muestra correspondiente/Kg de peso corporal de cada tratamiento en estudio, se les tomó muestras de sangre basal y a las 5, 1, 2, 4, 6 y 12 h después del consumo y también muestras de orina en los periodos de 0-3, 3-6, 6-9, 9-12 y 12-24 h después del consumo. En relación a las concentraciones plasmáticas de antocianinas, el análisis no compartimental de farmacocinética cuantificado como cianidin-3-O-glucósido, mostró valores de tiempo máximo de concentración (t<sub>max</sub>) de 2,2 y 2,0 h, concentración máxima de (C<sub>max</sub>) 2321 y 1138 ng/L y vida media (t<sub>1/2</sub>) de 6,56 y 3,00 h para pulpa y jugo de asai, respectivamente. En cuanto a capacidad antioxidante en plasma, los autores encontraron que el aumento en esta propiedad en cada individuo era de hasta 3 y 2,3 veces para la pulpa de asai y el jugo clarificado, comparativamente. Sin embargo afirman que tanto el puré de manzana, como la pulpa de asai indujeron significativamente una mayor actividad antioxidante del plasma que el jugo de asai (p <0,05). La capacidad antioxidante en la orina, la generación de ROS en PMN de los pacientes, y las concentraciones de ácido úrico en plasma no mostraron alteraciones significativas por los tratamientos. Los investigadores concluyeron que las antocianinas del asai pueden llegar a ser biodisponibles en voluntarios humanos sanos consumiendo cantidades moderadas de jugo y pulpa, la cual, como lo demuestra este estudio, se destaca por sus potenciales características antioxidantes *in vivo*.

#### 1.6.4 Asai y Cardioprotección

Este tópico constituye sin lugar a dudas, uno de los posibles beneficios que más interesa esclarecer respecto a las propiedades biológicas del asai. Así pues, es de resaltar la investigación dirigida por Udani et al., 2011, la cual tuvo como objetivo central evaluar el efecto de la pulpa de asai sobre algunos factores de riesgo para Síndrome Metabólico, esto teniendo en cuenta que la literatura científica indica que una reducción de ROS en el plasma puede normalizar las rutas metabólicas implicadas en este síndrome. Se planteó entonces un estudio piloto abierto que involucró a 10 adultos con sobrepeso que tomaron 100 g de la pulpa en la mañana y en la tarde durante 1 mes. Los biomarcadores medidos fueron glucosa en plasma en ayunas, insulina, colesterol, triglicéridos, metabolitos del óxido nítrico exhalado (eNO) y los niveles plasmáticos de alta sensibilidad de proteína C reactiva (hs-CRP). Los resultados más importantes se refieren a que luego de los 30 días de tratamiento se observaron reducciones significativas en la glucosa en ayunas, los niveles de insulina, el colesterol total, colesterol-LDL y en la relación Colesterol total - Colesterol-HDL (Lipoproteínas de Alta Densidad). Así mismo, el tratamiento con asai redujo significativamente los aumentos postprandiales en los niveles de glucosa después de una comida previamente estandarizada por los autores, mientras que no tuvo efectos significativos sobre la presión arterial, la hs-PCR y el eNO.

### 1.7 Conclusión

Existen resultados promisorios respecto al impacto del asai y sus beneficios sobre la salud. La mayoría de publicaciones utilizan modelos *in vitro* e *in vivo* (animales) y se cuenta sólo con tres investigaciones que involucran grupos humanos, cuyos hallazgos son positivos. Es necesario plantear estudios clínicos altamente rigurosos que involucren a poblaciones humanas sanas y en situaciones patológicas, que permitan comprobar las propiedades del asai como alimento funcional e involucrar en estos la especie *Euterpe precatoria*, que no ha sido objeto de esta clase de estudios.

## Bibliografía

- Alothman M, Bhat R, Karim A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chem.* 2009; 115: 785–788.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.* 2006; 99(1):191-203.
- Basu A, Lyons TJ. Strawberries, Blueberries, and Cranberries in the Metabolic Syndrome: Clinical Perspectives. *J. Agric. Food Chem.* 2012; 60:5687–5692.
- Benitez-Sánchez PL, León-Camacho M, Aparicio RA. Comprehensive study of hazelnut oil composition with comparisons to other vegetable oils, particularly olive oil. *Eur. Food Res. Technol.* 2003; 218:13–19.
- Cassileth B. Complementary therapies, herbs, and other OTC agents. *Oncology-New York.* 2008; 22:1202-1202.
- Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández MDL, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem.* 2009; 113(4):859-871.
- Castillo YM, Lares MDC, Hernández, MS. Caracterización bromatológica y fisicoquímica del fruto amazónico asai (*Euterpe precatoria* Mart). *Vitae.* 2012; 19(1):309-311.
- Del Pozo-Insfran D, Brenes CH, Talcott ST. Phytochemical composition and pigment stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *J Agric Food Chem.* 2004; 52(6):1539-45.
- Del Pozo-Insfran DD, Percival SS, Talcott ST. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(4):1222–1229.
- Dennehy CE, Tsourounis C, Miller AE. Evaluation of herbal dietary supplements marketed on the Internet for recreational use. *Ann. Pharmacother.* 2005; 39:1634–1639.
- Esmailzadeh, A., Kimiagar, M., Mehrabi, Y., Azadbakht, L., Hu, F. B., & Willett, W. C. (2006). Fruit and vegetable intakes, C-reactive protein, and the metabolic syndrome. *American Journal of Clinical Nutrition*, 84, 1489–1497.
- Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 47:7-12.
- FAO/OMS. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Serie de Informes Técnicos. Ginebra. 2003.
- Garzón, G. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta biol.Colomb.* 2008; 13(3):27-36.

- Gescher A, Pastorino U, Plummer SM, Manson MM. Suppression of tumour development by substances derived from the diet — Mechanisms and clinical implications. *Br J Clin Pharmacol.* 1998; 45:1–12.
- Ghedira K. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie.* 2005; 4: 162-169
- Hassimotto NMA, Pinto MS, Lajolo FM. Antioxidant status in humans after consumption of blackberry (*Rubus fruticosus* L.) juices with and without defatted milk. *J. Agric. Food Chem.* 2009; 56:117127–211733.
- Hogan S, Chung H, Zhang L, Li J, Lee Y, Dai Y, et al. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. *Food Chem.* 2010; 118(2):208-14.
- Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas (Sinchi). Caracterización química de especies maderables y no maderables del bosque. Proyecto forestal Guaviare. Ficha de caracterización *Euterpe precatoria*. 2011.
- IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry. Nomenclature of Flavonoids [en línea]. 2006. [Citado Agosto de 2014]. Disponible en: [[http://iupac.org/fileadmin/user\\_upload/publications/recommendations/2013/rauter\\_prs.pdf](http://iupac.org/fileadmin/user_upload/publications/recommendations/2013/rauter_prs.pdf)]
- Jensen GS, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, et al. *In vitro* and *in vivo* Antioxidant and Anti-inflammatory Capacities of an Antioxidant-Rich Fruit and Berry Juice Blend. Results of a Pilot and Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Crossover Study. *J Agric Food Chem.* 2008; 56(18):8326-33.
- Kang J, Li Z, Wu T, Jensen GS, Schauss AG, Wu X. Antioxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chem.* 2010; 122(3):610-7.
- Kang J, Thakali KM, Xie C, Kondo M, Tong Y, Ou B, Jensen G, Medina MB, Schauss AG, Wu X. Bioactivities of Açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. *Food Chem.* 2012; 133:671–677.
- Konga JM, Chiaa LS, Goha NK, Chiaa TF, Brouillard, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry.* 2003; 64:923–933.
- Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert K F, et al. Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine.* 2002; 113:71–88.
- Kruger MJ, Davies N, Myburgh KH, Lecour S. Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. *Food Res Int.* 2014; 59: 41–52
- Lee R, Balick MJ. Palms, people, and health. *Explore.* 2008; 4(1):59–62.
- Lichtenthaler R, Belandrino R, Maia J, Papaianopoulos M, Fabricius H, Marx, F. Total antioxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart (Asai). *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2005; 56(1):68–75.

- Lim YY, Lim TT, Tee JJ. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chem.* 2007; 103:1003–1008.
- Marcason, W. What Is the Açaí Berry and Are There Health Benefits? American Dietetic Association's Knowledge Center. 2009.
- Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* 2002; 17(6):271-278.
- Mataix J. Tratado de nutrición y alimentación humana. Vol I y II. 2da Edición. Barcelona, España. Editorial Océano/Ergon. 2010.
- Matheus ME, De Oliveira-Fernandes SB, Silva-Silveira C, Pinto-Rodrigues V, De Sousa-Menezes F, Dias-Fernandes, P. Inhibitory effects of *Euterpe oleracea* Mart. on nitric oxide production and iNOS expression. *J Ethnopharmacol.* 2006;107: 291–296.
- Menezes E, Torres A, Srur A. Valor nutricional da polpa de asai (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. *Acta Amazónica.* 2008; 38(2):311–316.
- Mertens-Talcott S, Rios J, Jilma-Stohlawetz P, Pacheco-Palencia LA, Meibohm B, Talcott ST, Derendorf H. Pharmacokinetics of Anthocyanins and Antioxidant Effects after the Consumption of Anthocyanin-Rich Acai Juice and Pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in Human Healthy Volunteers. 2008; 56:7796–7802.
- Mirmiran P, Noori N, Beheshti-Zavareh M, Azizi, F. Fruit and vegetable consumption and risk factors for cardiovascular disease. *Metab. Clin. Exp.* 2009; 58:460–468.
- Nascimento RJ, Couri S, Antoniassi R, Pereira SF. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de Açaí extraído com enzimas e com hexano. *Rev Bras Frutic.* 2008; 30: 498–502.
- Ochoa C, Ayala, A. Los flavonoides y su aplicación en la industria de alimentos. *Ingeniería y Competitividad.* 2004; 6 (2): 93 - 104
- OMS. 61ª Asamblea Mundial de la Salud. Prevención y control de las enfermedades no transmisibles: aplicación de la estrategia mundial [en línea]. 2008. [Citado Agosto de 2011]. Disponible en: [[http://www.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/A61/A61\\_8-sp.pdf](http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/A61/A61_8-sp.pdf)].
- OMS. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. [en línea]. 2013. [Citado Enero de 2014]. Disponible en: [[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/94384/1/9789241506236\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/94384/1/9789241506236_eng.pdf)]
- OMS. Global status report on noncommunicable diseases [en línea]. 2010. [Citado Enero de 2014]. Disponible en: [[http://www.who.int/nmh/publications/ncd\\_report\\_full\\_en.pdf](http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_full_en.pdf)]
- Pacheco-Palencia LA, Duncan CE, Talcott ST. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial asai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chem.* 2009; 115(4):1199-205.
- Pacheco-Palencia LA, Hawken P, Talcott ST. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of asai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food Res Int.* 2007; 40(5):620-8.

- Pacheco-Palencia LA, Mertens-Talcott S, Talcott ST. *In vitro* absorption and antiproliferative activities of monomeric and polymeric anthocyanin fractions from açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chem.* 2010; 119:1071-1078.
- Peña LF, Bernardo GB, Barrera JA, Hernández, MS. Obtención de la pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart) en la amazonía norte colombiana. *Vitae.* 2012;19(1):147-149.
- Pompeu DR, Silva EM, Rogez H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. *Bioresource Technology.* 2009; 100(23):6076-82.
- Proteggente AR, Pannala AS, Paganga G, Van Buren L, Wagner E, Wiseman S. et al. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radic Res.* 2002; 36:217–233.
- Reiss R, Johnston J, Tucker K, DeSesso JM, Keen CL. Estimation of cancer risks and benefits associated with a potential increased consumption of fruits and vegetables. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50:4421–4427.
- Ribeiro JC, Greggi-Antunes LM, Ferro-Aissa A, Castania-Darin JD, Vera De Rosso V, Zerlotti- Mercadante A, Pires-Bianchi MDL. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects after acute and subacute treatments with açai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) on mice using the erythrocytes micronucleus test and the comet assay. *Mutat Res.* 2010; 695:22–28.
- Rogez H. açai: prepare, composicao, emelhoramento da conservacao, 1st ed. Edufpa, Belem Brazil. 2000.
- Rufino MDSM, Pérez-Jiménez J, Arranz S, Alves RE, De Brito ES, Oliveira MSP, et al. Açai (*Euterpe oleracea*) 'BRS Pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. *Food Res Int.* 2011; 44(7):2100-6.
- Sabbe S, Verbeke W, Deliza R, Matta V, Van Damme P. Effect of a health claim and personal characteristics on consumer acceptance of fruit juices with different concentrations of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Appetite.* 2009; 53:84–92.
- Sanabria N, Sangronis E. Caracterización del açai o manaca (*Euterpe oleracea* Mart.): un fruto del Amazonas. *Arch Latinoam Nutr.* 2007;57:94–99.
- Schauss (a) AG, Wu RL, Ou B, Patel D, Huang D, Kababick JP. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry *Euterpe oleracea* Mart (Asai). *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(22):8598–8603.
- Schauss (b) AG, Wu X, Prior RL., Ou B, Huang D, Owens J, Agarwal A, Jensen GS, Hart AN, Shanbrom E. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(22): 8604–8610.
- Taiz, L. Zeiger, E. *Fisiología Vegetal.* Volumen 1. 3ra Edición. España. Publicación de la Universidad de Jaime Castellón de la Plana. 2006..

Udani JK, Singh BB, Singh VJ, Barrett ML. Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. *Nutrition Journal* 2011;10(45):1-7.

Wang S, Melnyk JP, Tsao R, Marccone MF. How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. *Food Res Int.* 2011; 44:14-22.

Yang J, Paulino R, Janke-Stedronsky S, Abawi F. Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. *Food Chem.* 2007; 102:302–308.



## 2. Caracterización del fruto amazónico asai (*Euterpe precatoria* Mart)

### Resumen

La dieta y la nutrición son dos factores determinantes en la prevención y tratamiento de las enfermedades no transmisibles. Un consumo adecuado de frutas y verduras a diario reduce el riesgo de estos padecimientos en asociación a un alto suministro de sustancias biológicamente activas, particularmente vitaminas, minerales, fibras y antioxidantes, entre otros. El asai es una palma amazónica con dos especies, *Euterpe oleracea* y *Euterpe precatoria*, que se encuentra en las llanuras de inundación de los ríos de la región amazónica principalmente en Brasil, Colombia y Venezuela. Debido a su alto contenido de compuestos fenólicos, esta fruta reduce los niveles de radicales libres y la consecuente peroxidación lipídica y estado proinflamatorio a nivel fisiológico. El objetivo de este estudio fue explorar el potencial terapéutico, fitoquímico y tecnológico de la pulpa de asai especie *precatoria* nativo de la amazonía colombiana, en cuanto a su composición nutricional, comportamiento fisicoquímico, microbiológico, contenido y poder antioxidante. La pulpa del fruto presentó un alto contenido de grasa (53% m/m), constituida principalmente por un 70% m/v de ácido oléico, y una importante cantidad de fibra dietaria (22,9% m/m). Así mismo, evidenció un comportamiento moderadamente ácido, una baja concentración de sólidos solubles y los hallazgos microbiológicos demostraron que el material vegetal cumplió con los parámetros de inocuidad. Así mismo, la pulpa contiene como polifenoles totales 104,32 mg EAG/g de muestra seca, de los cuales 1026,6 mg/100g de muestra seca corresponden a antocianinas tipo cianidin 3-glucósido, mostrando un claro predominio de otras fracciones como proantocianidinas. La capacidad antioxidante del fruto se contabilizó en 16236  $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$  por el ensayo ABTS y en 7782  $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$  por el método DPPH. Dada esta evidencia en relación

con la composición del asai especie *precatoria*, es posible postular a este alimento como la materia prima para formular productos funcionales.

**Palabras clave:** asai, *Euterpe precatoria*, antioxidantes, frutas amazónicas, salud.

## Summary

Diet and nutrition are two factors in the prevention and treatment of NCDs factors. An adequate intake of fruits and vegetables daily reduces the risk of these conditions in association with a high delivery of biologically active substances, especially vitamins, minerals, fiber and antioxidants, among others. The asai is an Amazonian palm with two species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*, located in the floodplains of the rivers of the Amazon region, mainly in Brazil, Colombia and Venezuela. Due to its high content of phenolic compounds, this fruit reduces the levels of free radicals and subsequent lipid peroxidation and proinflammatory state at the physiological level. The aim of this study was to explore the therapeutic phytochemical and technological potential of native pulp asai *precatoria* species of Colombian Amazonia, in their nutritional composition, physico-chemical, microbiological, behavioral and antioxidant content. The fruit pulp had a high fat content (53% m/m), mainly consisting of 70% m/v of oleic acid, and a significant amount of dietary fiber (22.9% m/m). He also showed a moderately acid behavior, a low concentration of soluble solids and microbiological findings showed that the plant material met the safety parameters. Also, the pulp contains polyphenols as 104.32 mg GAE / g of dry sample, of which 1026.6 mg / 100 g of dry sample correspond to anthocyanin type cyanidin 3-glucoside, showing a clear predominance of other fractions as proanthocyanidins. The antioxidant capacity of the fruit was posted to 16236  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$  by ABTS assay and 7782  $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$  by DPPH method. Given this evidence in relation to the composition of asai *precatoria* species, may apply for this food as raw material to develop functional products.

**Key Words:** asai, *Euterpe precatoria*, antioxidants, amazonian fruits, health.

## 2.1 Introducción

En la actualidad la salud de los individuos se está viendo seriamente amenazada por un estilo de vida sedentario, el tabaquismo, el alcoholismo y por supuesto, los malos hábitos alimentarios como el consumo desmedido de comidas rápidas, gaseosas, golosinas, dulces y alimentos fritos, sumados a una baja ingesta de frutas, verduras y hortalizas. Esta situación se traduce en altas cifras de morbilidad asociadas al desarrollo de enfermedades no transmisibles (ENT) como el cáncer, la diabetes, las enfermedades respiratorias, la aterosclerosis, la insuficiencia cardíaca, los accidentes cerebrovasculares y los infartos cardíacos (OMS, 2011; FAO/OMS, 2003; OMS, 2008). En este contexto, considerando además las nefastas características y consecuencias de la denominada “Dieta Occidental”, recientes investigaciones ponen de manifiesto la importancia de consumir vegetales (Goodman et al., 2011; Henry et al., 2010; Reiss et al., 2012; Mirmiran et al., 2009) y específicamente alimentos ricos en polifenoles (Burton-Freeman et al., 2010; Shanmuganayagam et al., 2012; González et al., 2011; Michalska et al., 2010) como una de las estrategias para mantener el balance oxidativo y la salud, hallazgo que lleva a reconocer a las “frutas exóticas” (Lim et al., 2007; Almeida et al., 2011) y dentro de ellas a las llamadas “berries”, como alimentos fuente de una amplia gama de nutrientes y metabolitos secundarios (Stoner et al., 2007; Wang et al., 2008; Kausar et al., 2012; Basu et al., 2012; Aiyer et al., 2012; Miller & Shukitt-Hale, 2012), destacándose mundialmente los polifenoles provenientes del asai, un fruto al cual se le atribuyen hoy por hoy muchas propiedades curativas (Heinrich et al., 2011; Dennehy et al., 2005; Dembitsky et al., 2011; Hassimotto et al., 2009).

El asai es una planta perteneciente a la familia de las Arecáceas, clase Palmae, género *Euterpe*, ampliamente distribuida en las llanuras de la amazonía de países como Brasil, Perú, Bolivia, Ecuador, Venezuela y Colombia. Sus frutos son bayas de forma redonda-ovalada con diámetros de hasta 1,8 cm, que forman racimos de color verde durante los estados inmaduros y morado oscuro cuando se da la maduración completa (Sabbe et al., 2009; Lee et al., 2008; Velarde et al., 2008; Rogez, 2000; Pessoa et al., 2010). Existen dos especies: la primera *Euterpe oleracea*, muy conocida y comercializada, ya ha sido plenamente caracterizada y se reconoce su potencial como alimento funcional. En contraste, la segunda especie, *Euterpe precatoria*, recientemente ha captado la atención de la comunidad científica y se postula como una fuente excepcional de compuestos

bioactivos, que han demostrado tener un impacto positivo sobre la salud (Kang et al., 2012; Pacheco-Palencia et al., 2009).

Los resultados investigativos respecto al potencial fitoquímico y terapéutico del asai reportan la presencia de una gran variedad de bioactivos en la pulpa de este fruto (Costa et al., 2013; Kinghorn et al., 2011; Devalaraja et al., 2011; Rufino et al., 2010). En primer lugar se resalta un contenido considerable de antioxidantes tipo antocianinas y proantocianidinas (Pacheco-Palencia et al., 2009; Kang et al., 2010; Kang et al., 2011; Lichtenthaler et al., 2005; Rogez et al., 2011; Rojano et al., 2011; Vera de Rosso et al., 2008; Gordon et al., 2012; Sanabria & Sangronis, 2007; Schauss (a) et al., 2006; Schauss (b) et al., 2006; Pacheco-Palencia et al., 2007; Del Pozo-Insfran et al., 2004; Pacheco-Palencia et al., 2010), un perfil de ácidos grasos similar al del aceite de oliva y de aguacate (Rufino et al., 2011) y una gran capacidad antioxidante que ha mostrado resultados alentadores en el tratamiento y prevención de distintos cuadros patológicos relacionados con un estado proinflamatorio (Kang et al., 2012; Kang et al., 2011; Schauss (b) et al., 2006; Matheus et al., 2006; Noratto et al., 2011) y de estrés oxidativo (Chin et al., 2008; Spada et al., 2009; Jensen et al., 2008; Mertens-Talcott et al., 2008), el cáncer (Del Pozo-Insfran et al., 2006; Hogan et al., 2010; Pacheco-Palencia et al., 2010; Pacheco-Palencia et al., 2008; Ribeiro et al., 2010; Stoner et al., 2010), las enfermedades cardiovasculares (Sun et al., 2010; Oliveira de Souza et al., 2010; Rocha et al., 2007; Xie et al., 2011; De Oliveira et al., 2010; Udani et al., 2011), el enfisema respiratorio (De Moura et al., 2011) y hasta las alergias (Horiguchi et al., 2011).

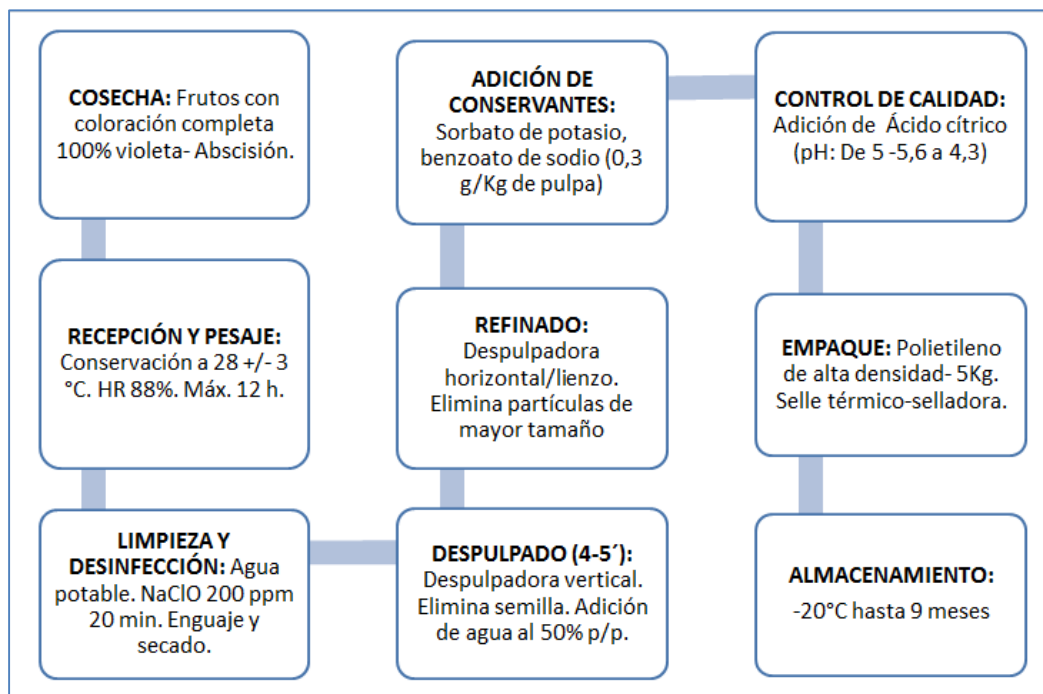
Ahora bien, considerando que en el territorio de Colombia, está presente el asai especie *precatoria* y que la información científica que existe sobre esta fruta es muy escasa, el objetivo del presente estudio fue determinar la composición nutricional y realizar la caracterización, microbiológica, fisicoquímica y antioxidante de la pulpa de este fruto, nativo de la amazonía colombiana.

## 2.2 Materiales y Métodos

### 2.2.1 Material Vegetal

La pulpa de asai de la especie *Euterpe precatoria* Mart provino del municipio de San José del Guaviare, departamento del Guaviare, Colombia; fue obtenida en Abril de 2012 de acuerdo con la metodología de Peña et al., 2012. El procesamiento realizado por dichos autores, arranca desde las prácticas de cosecha (Figura 2-1) e involucra la adición de agua (por tratarse de un fruto seco) para obtener la parte comestible del fruto, en una despulpadora vertical. Ahora bien, considerando que la aplicación de procesos térmicos altera notablemente las características organolépticas de la pulpa de asai especie *precatoria*, vale la pena mencionar que el materia vegetal explorado en el presente estudio fue estandarizado por Peña et al., 2012 mediante la adición de 0,3 mg/Kg de sorbato de potasio y de benzoato de sodio y un 1% de ácido cítrico, niveles de aditivos alimentarios permitidos, muy inferiores a los límites señalados por la normatividad colombiana (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013; Codex, 1995).

**Figura 2-1:** Proceso de obtención de la pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart)



Fuente: Peña et al., 2012

## 2.2.2 Preparación de las muestras

Para los análisis bromatológicos (análisis proximal, vitaminas, minerales y fibra dietaria), de fenoles totales, antocianinas totales y capacidad antioxidante, se empleó la pulpa de asai liofilizada, en pro de conservar los analitos de interés. Ésta se obtuvo usando un liofilizador Labconco® a una temperatura de -80 °C y 400 Pa de presión y se obtuvieron aproximadamente 60 g de liofilizado a partir de 1,7 Kg de pulpa. En las pruebas de caracterización microbiológica y fisicoquímica se partió de pulpa en fresco. Para la caracterización de los ácidos grasos, se partió del aceite previamente extraído por la técnica de Soxhlet.

## 2.2.3 Análisis bromatológico y de composición nutricional

Respecto al análisis bromatológico, la determinación de humedad se realizó según la AOAC 920.151, cenizas según la AOAC 940.26, extracto etéreo por el método Soxhlet, proteína según la AOAC 920.152 y fibra cruda según la AOAC 985.29. El contenido de carbohidratos se calculó por diferencia. El número de réplicas fue n=5 (AOAC, 2000). En el estudio de ácidos grasos se partió del extracto etéreo obtenido durante el análisis bromatológico. Se llevó a cabo la obtención de los metilésteres de los ácidos grasos y se hizo su cuantificación por cromatografía de gases con detector de ionización en llama (GC-FID), según la norma ISO 5509 (“Animal and vegetable fats and oil – Preparation of Methyl ester of fatty acids”) y 5508 (“Animal and vegetable fats and oil cromatography of methyl ester of fatty acids”). El número de réplicas fue n=2

Para medir la cantidad de fibra dietaria presente en la pulpa del fruto se utilizó el método oficial enzimático-gravimétrico, según la AOAC 985.29. Posteriormente para la determinación de la fracción insoluble se usó un buffer de fosfato durante la técnica enzimática-gravimétrica de acuerdo a lo estipulado en la AOAC 991.42. El contenido de fibra dietaria soluble se halló mediante diferencia entre la fibra dietaria total y fibra dietaria insoluble. El número de réplicas fue n=5.

En la detección de micronutrientes, respecto a vitaminas, se estableció la cantidad de vitamina A y C presentes en la pulpa liofilizada usando la determinación por cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC (ISO-Norma 14892). En cuanto a

minerales, la cuantificación de calcio, hierro, magnesio, cobre, zinc, sodio y potasio, se realizó por espectrofotometría de absorción atómica de llama, según la AOAC 985.35. El número de réplicas fue n=5

### 2.2.4 Análisis Antioxidante

Se prepararon los extractos a partir de 0,2000 g de asai liofilizado según la metodología desarrollada por Rojano et al., 2011. La muestra se combinó con 20 mL de agua acidificada al 1% con ácido acético, se homogenizó en un Vortex Heidolph®, se agitó por 16 h, se centrifugó a 3.000 rpm y 25 °C por 20 min, se mezcló con n-hexano para separar la fracción grasa de la acuosa, con la que se hicieron los ensayos.

Se efectuó la prueba de fenoles totales aplicando el método espectrofotométrico desarrollado por Folin-Ciocalteu (Kuskoski et al., 2005). Se tomaron 50 µL de la muestra a ensayar y se mezclaron con 1,5 mL del reactivo de Folin Ciocalteu diluido 10 veces, se agitó y se dejó en reposo por 5 minutos; posteriormente se adicionaron 1,5 mL de carbonato de sodio al 7,5% y se agitó nuevamente. La mezcla de reacción se guardó en oscuridad durante 60 minutos (este fue el tiempo estandarizado en el que se desarrollaba el color y no se presentaban variaciones en las mediciones de absorbancia). A continuación se midió la absorbancia de la solución a 765 nm en el espectrofotómetro. Como blanco se empleó 50 µL de agua destilada y el resto de reactivos mencionados anteriormente. Los resultados se expresan como equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mg EAG/g de muestra) utilizando una curva estándar de ácido gálico (AG) (0.05-1.5 mg/mL).

Se determinó la capacidad antioxidante de la pulpa del fruto en mención a través de dos métodos químicos, DPPH y ABTS, que se basan en la medida de la habilidad reductora de los antioxidantes sobre ambos radicales. Se partió de una curva patrón usando como antioxidante de referencia Trolox®. Para el primer ensayo se siguió el método descrito por Lai et. al., 2001. Se preparó una solución DPPH 100 µmol en etanol. Se tomaron 150 µL de muestra y se mezclaron con 2850 µL de la solución DPPH, se agitó y se almacenó en la oscuridad por 20 minutos (este fue el tiempo estandarizado en el que se desarrollaba el color y no se presentaban variaciones en las mediciones de absorbancia). Transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a 515 nm, longitud de onda a la cual se obtuvo la mayor absorbancia de la solución DPPH en el espectrofotómetro (Beckman®)

Coulter DU-640). No se hizo corrección por el color morado del extracto de la pulpa de asai liofilizada. Los resultados se expresan en  $\mu\text{mol}$  de equivalentes Trolox (TE)/100 g de muestra y como porcentaje de inhibición aplicando la siguiente fórmula:

$$\%In = \frac{A_{DPPH} - A_{mtra}}{A_{DPPH}} \times 100$$

Donde,

$A_{DPPH}$ : Absorbancia de la solución DPPH 100  $\mu\text{mol}$

$A_{mtra}$ : Absorbancia de la muestra más la solución de DPPH transcurrido los 20 minutos

Para el ensayo ABTS se siguió el procedimiento descrito por Won et al., 2003. Una solución 7 mmol de ABTS y otra de 2.45 mmol de persulfato de potasio fueron mezcladas en igual proporciones y almacenadas en la oscuridad por 14 horas para obtener el radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ . Cada vez que se iba a realizar una cuantificación se tomaba una cantidad de esta muestra stock y se diluía con etanol hasta obtener una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$  a 750 nm, longitud de onda a la cual se obtuvo la mayor absorbancia de la solución en el espectrofotómetro (Beckman® Coulter DU-640). Para el análisis se tomaron 20  $\mu\text{L}$  de la muestra, se mezclaron con 980  $\mu\text{L}$  de la solución de  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , se dejó en reposo y oscuridad por 5 minutos (este fue el tiempo estandarizado en el que se desarrollaba el color y no se presentaban variaciones en las mediciones de absorbancia); transcurrido este tiempo se midió la absorbancia a 750 nm. Los resultados son expresados como  $\mu\text{mol}$  de equivalentes Trolox (TE)/100 g de muestra y como porcentaje de inhibición aplicando la siguiente fórmula:

$$\%In = \frac{A_{ABTS} - A_{mtra}}{A_{ABTS}} \times 100$$

Donde,

$A_{ABTS}$ : Absorbancia de la solución ABTS diluido

$A_{mtra}$ : Absorbancia de la muestra más la solución de ABTS transcurrido los 5 minutos

Para determinar las antocianinas se usó el método espectrofotométrico que cuantifica las antocianinas monoméricas totales como cianidina 3-glucósido por el método pH diferencial (Wrolstad et al., 2005; Sanabria & Sangronis, 2007). A 100 mg de muestra se

le agregaron 10 mL de agua destilada y se homogenizó durante 1 min a 15000 rpm a temperatura ambiente. Se centrifugó a 3500 rpm por 15 min, y el sobrenadante se recolectó en tubos de ensayo. A partir del sobrenadante se prepararon 2 diluciones de la muestra, en la primera se tomó una alícuota de 2 mL y se llevó a 25 mL con buffer de cloruro potásico 0,025 M. Para la otra dilución se tomó una alícuota de 2 mL se llevó a 25 mL con buffer acetato de sodio 0,4 M a pH 4,5. Ambas soluciones se dejaron en reposo en la oscuridad por 15 min y se midió la absorbancia a una longitud de onda de  $\lambda = 700$  nm y luego a un  $\lambda = 520$  nm.

Las pruebas de contenido de polifenoles, antocianinas y de capacidad antioxidantes se hicieron por triplicado.

### 2.2.5 Análisis Físicoquímico

La determinación del pH se realizó según el método oficial AOAC 981.12 mediante la técnica de inmersión del electrodo, usando un potenciómetro calibrado (pH-metro) con buffer 7 y 4 (Seyhan, 2004). En cuanto a la acidez titulable de la pulpa de asai, esta se midió mediante de una modificación del método oficial AOAC 942.15. Para la determinación de la acidez en soluciones muy coloreadas, se parte de una muestra diluida de peso conocido. Ésta se valora hasta justo antes del punto final con álcali 0,1 M y con 0,3 mL de fenolftaleína por cada 100 mL de solución. El método se basa en titular la muestra con una solución de hidróxido de sodio 0,1 N valorada, controlando el pH mediante el potenciómetro hasta 8,3, momento en el que vira la fenolftaleína. Ahora bien, para el análisis de sólidos solubles o grados Brix, se usó el método oficial AOAC 932.12, basándose en el índice de refracción (Andrade-Pizarro et al., 2007). El análisis del color instrumental de la pulpa, se llevó a cabo a través de un colorímetro calibrado con un iluminante D65/10° en modo de reflectancia, en la escala CieLab en los parámetros L (luminosidad – blanco y negro), a (verde-rojo) y b (azul-amarillo) de Hunter (Sanabria & Sangronis et al., 2007). Para todos los ensayos mencionados, el número de réplicas fue  $n=5$ .

Para finalizar, el estudio de viscosimetría se hizo empleando un reómetro CVOR 200 Bohlin instruments. Se tomó 1 mL de pulpa homogenizada en un beaker, se dispusieron en la placa del equipo y se cerró el sistema para el giro constante de un cono con 2° de

inclinación. Se midió la viscosidad aparente ( $\mu$ ) a temperatura constante (25°C), variando la velocidad rotacional de deformación ( $\dot{\gamma}$  o Shear Rate) en forma ascendente hasta 10000 (Muñoz-Puentes et al., 2011) (Andrade-Pizarro et al., 2007). Esta prueba se realizó por duplicado.

### 2.2.6 Análisis Microbiológico

Según lo estipulado por la NTC 5468 (Zumos -jugos-, néctares, purés -pulpas- y concentrados de fruta) se realizaron las siguientes pruebas microbiológicas a la pulpa de asai: recuento de aerobios mesófilos (efectuado según lo indicado en la NTC 4519), recuento de coliformes (efectuado según lo indicado en la NTC 4458), recuento de esporas *Clostridium* sulfito reductoras (efectuado según lo indicado en la NTC 4834), recuento de mohos y levaduras (efectuado según lo indicado en la NTC 4132), recuento de *E.Coli* (efectuado según lo indicado en la NTC 4458 y en el método AOAC 991.14) y por último, detección de *Salmonella* ssp (efectuado según lo indicado en la NTC 4574).

### 2.2.7 Análisis Estadístico

Para el manejo estadístico de los datos, se hizo un análisis con estadística descriptiva básica: promedio, desviación estándar, límite superior e inferior con un intervalo de confianza del 95% y error estándar del promedio. Para el estudio de la viscosidad se postuló un modelo de regresión lineal simple. Se usó el paquete estadístico Statistix 9.

## 2.3 Resultados y Discusión

### 2.3.1 Análisis Bromatológico y de composición nutricional

El análisis bromatológico de la pulpa de asai liofilizada se muestra en la **Tabla 2-1**. El contenido de humedad de este material vegetal fue de  $2,6 \pm 0,1\%$ , dato que contrasta evidentemente con el contenido de humedad de la pulpa de asai en fresco, que se ha estimado en  $97,36 \pm 0,02\%$ , lo cual pone de manifiesto la existencia de un porcentaje de rendimiento muy bajo al momento de liofilizar (3,5%).

**Tabla 2-1:** Composición nutricional proximal de la pulpa de asai liofilizada (*Euterpe precatoria* Mart.)

Componente	g/100g		IC 95%*	
	Promedio	DE**	LI***	LS****
Cenizas <sup>1</sup>	0,46	±0,02	0,4	0,5
Grasa <sup>1</sup>	53,0	±0,3	52,6	53,4
Proteína <sup>1</sup>	1,64	±0,3	1,3	2,0
Fibra Cruda <sup>1</sup>	13,0	±0,4	12,5	13,4
Carbohidratos <sup>1</sup>	31,9	±0,4	31,4	32,5

\*Intervalo de confianza del 95%

\*\* Desviación Estándar

\*\*\* Límite Inferior

\*\*\*\* Límite Superior

<sup>1</sup>Cálculo en base seca de la pulpa liofilizada

Respecto a la pulpa liofilizada, el contenido de cenizas encontrado es más bajo que lo reportado para la especie *oleracea*, que aproximadamente presenta entre un 6,94-1,99% según lo reportado por Rojano et al., 2011 y Rufino et al., 2011 (quienes también estudiaron la pulpa liofilizada) como valor máximo y mínimo respectivamente.

En relación al contenido de grasa en la pulpa se encontró una cifra más alta en comparación a reportes anteriores para la especie *oleracea*, cuyo valores oscilan entre un 20,82% y un 40,75% en pulpa liofilizada, según los hallazgos de Rufino et al., 2011 y de Menezes et al., 2008, respectivamente. Como el contenido de este macronutriente es el que marca el mayor aporte nutricional del asai en la dieta humana, es de resaltar que los triglicéridos propios del aceite de este fruto están conformados en su mayoría por ácido oléico y ácido palmítico (Nascimento et al., 2008). Así, dentro del perfil de ácidos grasos (**Tabla 2-2**), es de destacar que según los hallazgos de la presente investigación, la mayor contribución del asai especie *precatoria* corresponde al ácido oléico (omega 9) con un 70% m/m y que igualmente hay un aporte nutricional de ácido linoléico (compuesto de la familia de los ácidos grasos esenciales omega-6) y de ácido linolénico (ácidos grasos esenciales omega 3) en una relación 4:1 aproximadamente. Lo anterior confirma lo propuesto por Nascimento et al., 2008, Pacheco Palencia et al., 2008, Sanabria & Sangronis, 2007 y Rufino et al., 2011, reafirmando que es posible comparar la grasa del asai con la del aguacate y la del aceite de oliva, lo cual le proporciona una gran importancia nutricional y metabólica al consumo de este fruto. Así mismo, como era de esperarse, por ser el asai el fruto de una palma, hay que mencionar que en un

segundo lugar se destaca la proporción de ácidos grasos tipo palmítico y esteárico, principalmente.

**Tabla 2-2.** Perfil de ácidos grasos del aceite extraído de la pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart.)

Nombre del ácido graso	Número de Carbonos	g/100 g Aceite
		Promedio
Mirístico	(C14:0)	0,1
Pentadecanóico	(C15:0)	<0,1
Palmítico	(C16:0)	16,7
Palmitoléico	(C16:1)	0,1
Heptadecanóico	(C17:0)	0,1
Esteárico	(C18:0)	6,8
Oléico	(C18:1n9c)	70,0
Linoléico	(C18:2n6c)	3,3
Araquídico	(C20:0)	0,4
Linolénico	(C18:3n3)	0,8
Eicosenóico	(C20:1)	0,1
Behénico	(C22:0)	0,1
Lignocérico	(C24:0)	<0,1

De otra parte, se comprobó que el contenido de proteína de la pulpa del asai variedad *precatoria* es superior a lo mencionado por Castillo et al., 2012 y Sinchi, 2011, pero inferior al valor reportado por la literatura científica para la variedad *oleracea*, que habla de un valor máximo de 15,9% en la investigación de Sanabria & Sangronis, 2007. La pulpa de este fruto no puede considerarse un alimento fuente de proteína.

Finalmente, respecto al contenido de carbohidratos se encontró similitud con el dato reportado por Sanabria & Sangronis, 2007 para la variedad *oleracea*, mientras que se aleja de lo mencionado por Castillo et al., 2012 y Sinchi, 2011. Entre tanto la cantidad de fibra cruda obtenida en la caracterización es similar a lo obtenido por Castillo et al., 2012 para la pulpa de asai variedad *precatoria* sin proceso de filtrado. Sin embargo, vale la pena destacar que este contenido es notoriamente inferior al reportado por Sinchi, 2011. Una vez determinado el contenido de macronutrientes presente en la pulpa de asai liofilizada fue posible estimar su aporte calórico en 612 Calorías por cada 100g de material liofilizado, dato superior a lo reportado por Schauss (a) et al., 2006 y por Menezes et al., 2008.

Ahora bien, considerando que la determinación de fibra cruda se basa en el tratamiento secuencial con ácidos y álcalis que disuelven en gran parte la hemicelulosa, la lignina, la celulosa y casi toda la fibra soluble, subvalorando en forma importante el contenido de fibra dietaria (los valores de fibra dietaria generalmente son 3 a 5 veces mayores que los valores de fibra cruda), (FAO, 2007) es relevante mencionar que se hace indispensable establecer este último análisis en pro de reconocer el papel hidrólisis enzimática a nivel fisiológico en la cuantificación de las macromoléculas que podrán cumplir verdaderamente la función como fibra en el sistema gastrointestinal. Así, tal como se muestra en la en la **Tabla 2-3**, la pulpa liofilizada de asai contiene aproximadamente un 23% de fibra dietaria total, predominando dentro de ella la fracción insoluble con más del 21%; así, podría decirse que los carbohidratos totales de la pulpa liofilizada del Asai suman en total aproximadamente 45% y que de este porcentaje, un poco más de la mitad (23%) corresponden a fibra dietaria y el restante 22% a otros carbohidratos.

Al comparar los hallazgos de la cuantificación de fibra dietaria con lo reportado por Rufino et al., 2011 para la especie *oleracea*, quien informa un contenido del 71,22%, puede afirmarse que la especie nativa colombiana contiene menos de la mitad de lo evidenciado para la primera, pero los datos son comparables teniendo en cuenta que se habla de un predominio del componente insoluble.

**Tabla 2-3:** Contenido de fibra dietaria presente en la pulpa de asai liofilizada (*Euterpe precatoria* Mart.)

Componente	g/100g		IC 95%*	
	Promedio	DE**	LI***	LS****
Fibra dietaria total <sup>1</sup>	22,9	±0,1	22,8	23,0
Fibra dietaria Insoluble <sup>1</sup>	21,6	±0,1	21,5	21,7
Fibra dietaria soluble <sup>1</sup>	1,3	±0,1	1,1	1,5

\*Intervalo de confianza del 95%

\*\* Desviación Estándar

\*\*\* Límite Inferior

\*\*\*\* Límite Superior

<sup>1</sup>Dato calculado en base seca de materia liofilizada

Centrándose ahora en la composición de micronutrientes de la pulpa de asai liofilizada de la especie *precatoria* (**Tabla 2-4**), es de resaltar que esta presenta un contenido importante de los minerales analizados, pero no puede llegar a catalogarse como un

alimento fuente de los mismos. Los datos obtenidos tras el análisis de calcio demuestran que son inferiores a lo informado por Schauss et al., 2006, Menezes et al., 2008 y Sanabria & Sangronis, 2007 (primera cosecha) para la especie *oleracea*, ya que estos autores hablan de un contenido de calcio de 260,0 mg - 330,0 mg y 373 mg por cada 100 g de materia seca, respectivamente. Sin embargo el contenido de este macromineral en *E. precatoria* es mayor al encontrado por este último autor para la segunda cosecha de *E. oleracea* que estudió en el 2007 (182 mg/100 g de materia seca). En el caso del potasio se observa una tendencia algo similar, ya que el valor obtenido para la especie nativa colombiana es inferior a lo reportado por Menezes et al., 2008 (900 mg/100 g materia seca) y por Sanabria & Sangronis, 2007 para la primera cosecha de *E. oleracea* (697 mg/100 g materia seca), teniendo un valor muy similar a lo evidenciado para la segunda cosecha del mismo estudio (466 mg/100 g materia seca). En lo referente al hierro, el contenido de este macromineral fue mayor al establecido por Schauss et al., 2006, Sanabria & Sangronis, 2007 y Menezes et al., 2008, que mencionan valores entre 23 y 4,4 mg/ 100 g materia seca. Este mismo comportamiento se puede apreciar para el caso del magnesio, el zinc y el sodio, ya que los tres grupos de investigadores en mención, informan en sus publicaciones contenidos entre 79 y 124,4 mg/100 g materia seca para el magnesio, entre 2 y 6 mg/100 g materia seca para el zinc y, entre 66 y 9 mg/100 g materia seca en el caso del sodio.

**Tabla 2-4:** Contenido de micronutrientes presentes en la pulpa de asai liofilizada (*Euterpe precatoria* Mart.)

Mineral	mg/100g		IC 95%*	
	Promedio	DE*	LI***	LS****
Calcio <sup>1</sup>	234	±0,2	233,9	234,4
Hierro <sup>1</sup>	8,6	±0,3	8,2	9,0
Magnesio <sup>1</sup>	207,9	±0,9	206,9	209,1
Cobre <sup>1</sup>	No detectable	-	-	-
Zinc <sup>1</sup>	21,1	±0,1	20,9	21,2
Sodio <sup>1</sup>	230,99	±0,27	230,64	231,33
Potasio <sup>1</sup>	440,86	±0,15	440,67	441,04
Vitamina	mg/100g		IC 95%*	
	Promedio	DE*	LI***	LS****
Vitamina C <sup>1</sup>	0 (0,0480)	±0,005	0,0424	0,0536
Vitamina A (UI/100g) <sup>1</sup>	197	±0,1	196,8	197,0

\*Intervalo de confianza del 95%

\*\* Desviación Estándar

\*\*\* Límite Inferior

\*\*\*\* Límite Superior

<sup>1</sup>Dato calculado en base seca de materia liofilizada

### 2.3.2 Análisis Antioxidante

Tal como se observa en la **Tabla 2-5**, respecto al contenido de fenoles totales, los resultados obtenidos superan lo reportado por distintos autores como Kang et al., 2012 quienes informaron un valor de  $73.0 \pm 4.8$  y  $31.2 \pm 2.6$  mg AG/g de muestra seca para la variedad *precatoria* y *oleracea*, respectivamente. También sobrepasan los hallazgos de Gordon et al., 2012 quienes mencionan un contenido de fenoles cercano a  $3437 \pm 154$  mg AG/100 g de muestra seca y de igual forma lo declarado por Rojano et al., 2011 que reporta una cifra de  $3172,3 \pm 154$  mg AG/100 g de muestra liofilizada. Lo anterior pone de manifiesto la superioridad en el contenido de antioxidantes en el asai nativo de la amazonía colombiana especie *precatoria* frente a los estudios en realizados en frutos tipo *oleracea* de procedencia brasilera y del área del pacifico colombiano.

El contenido de antocianinas en el asai especie *precatoria* (**Tabla 2-5**) lo hace atractivo debido a que estos compuestos se consideran pigmentos con un gran potencial para remplazar los pigmentos sintéticos usados en la industria de los alimentos, en la formulación de productos funcionales y para la industria nutracéutica, ya que su natural

brillo, atractivos colores y solubilidad en agua, permite su incorporación en diferentes matrices y además, se reconocen por sus efectos biológicos, sin embargo son pigmentos poco estables considerando su sensibilidad ante condiciones variantes de temperatura, luz, pH, oxígeno entre otros factores. (Del Pozo Insfran et al., 2004). Tal resultado supera el contenido de antocianinas totales reportado para la misma especie por Pacheco-Palencia, et al. 2009 ( $4227 \pm 104$  mg/Kg-base húmeda) y para *E. oleracea* según lo descrito por Schauss et al., 2006 (a) (3,19 mg/g-base seca). Sin embargo al considerar lo dicho por Sanabria & Sangronis, 2007 para *E. oleracea* (0,73 – 1,0g/100g – base seca), el dato encontrado en la presente investigación puede ser comparable, hecho que no concuerda con lo descrito por Hassimotto et al., 2009, quien encontró para la especie brasilera un mayor contenido de antocianos, con un total de 1289mg / 100 g de pulpa en base seca. Esta diferencia en los datos entre los diferentes autores puede obedecer las especificidades de las condiciones de cultivo para ambas especies, a las características y particularidades genéticas de cada especie y a que los compuestos fenólicos son pigmentos generados por las plantas ante diferentes condiciones de estrés (composición del suelo, luz, agua). Adicionalmente los autores utilizan diferentes técnicas de medida (pH diferencial, espectrofotometría, entre otras) y reportan sus resultados con una antocianina de referencia diferente (cianidin 3-glucósido o cianidin3-rutinósido), pero los aportes están en el mismo rango de valores (magnitudes semejantes).

**Tabla 2-5:** Polifenoles y antocianinas totales de la pulpa de asai liofilizada (*Euterpe precatoria* Mart).

Fenoles Totales				Antocianinas Totales			
mg EAG/g materia seca●		IC 95%*		mg Cianidin 3-glucosido /100 g materia seca●		IC 95%*	
Promedio	DE**	LI***	LS****	Promedio	DE**	LI***	LS****
104,32	±6,44	88,32	120,33	1026,60	±0,21	1026,10	1027,20

●Calculado en base seca de la pulpa de asai liofilizada

\*Intervalo de confianza del 95%

\*\* Desviación Estándar; \*\*\* Límite Inferior; \*\*\*\* Límite Superior

Entre tanto, es importante mencionar que dentro del perfil de antocianinas, en el asai especie *precatoria* nativo de la amazonía colombiana se destaca un alto contenido de cianidin 3 – glucósido (Sinchi, 2011), mientras que según los análisis efectuados por el

grupo de Pacheco-Palencia, et al. 2009 demuestran que cianidin 3-rutinósido fue el polifenol tipo antocianina predominante en la especie *precatoria* nativa del Brasil. Este hecho pone de manifiesto la variabilidad en la cuantificación y tipo de bioactivos que pueden encontrarse en estos frutales promisorios de la amazonía, en razón a las condiciones climáticas, humedad, ciclo de lluvias e inundación de los terreros, entre otras razones. Sin embargo, es importante resaltar que la pulpa de ambas especies pueden llegar a ser potencialmente aprovechadas en nuestro contexto para la formulación de alimentos funcionales, considerando que no solo es importante la cuantificación *in vitro* de estos antioxidantes, sino el hecho que los compuestos bioactivos que hacen parte del producto, van a ser sometidos a diferentes reacciones en el tracto gastrointestinal después de ser ingeridos, lo cual hace absolutamente necesario la realización de ensayos *in vivo* con el control de biomarcadores asociados al estrés oxidativo y procesos inflamatorios, en pro de confirmar la funcionalidad de los productos que incorporen la pulpa como ingrediente (Wootton-Beard and Ryan., 2011).

Ahora, si bien el contenido de antocianinas explica en parte la capacidad antioxidante del fruto, es plenamente importante señalar la contribución preponderante que otros compuestos fenólicos hacen sobre esta característica. Así, las proantocianidinas (compuestos derivados tipo flavan 3-ol), cuya presencia en el asai ha sido descrita (Schauss et al (a)., 2006; Pacheco-Palencia et al., 2007; Pacheco-Palencia et al., 2009; Dembitsky et al., 2011), según la presente investigación, podrían postularse como los posibles responsables del 90% del contenido de fenoles totales, que no son cubiertos por el aporte de antocianinas que es apenas del 10 %.

En lo que respecta a capacidad antioxidante, según el método DPPH, tal como se observa en la **Tabla 2-6**, es de mencionar que los resultados encontrados se encuentran por debajo de lo descrito por Kang et al., 2012 para ambas variedades de asai, usando la técnica de medición por espectrofotometría ( $320.3 \pm 23.8$  y  $133.4 \pm 11.2$   $\mu\text{moles TE/g}$  muestra seca para *precatoria* y *oleracea*, respectivamente). Esta misma tendencia se observa al comparar los datos con lo reportado por Rojano et al., 2011, quienes dan un valor de 12420  $\mu\text{moles TE/100g}$  muestra liofilizada, usando también la técnica espectrofotométrica. En términos de % de inhibición de DPPH, el resultado promedio que se obtuvo fue de 74,45%, que contrastado con lo mencionado por Sanabria & Sangronis, 2007 ( $88,03 \pm 0,30$  % -  $87,82 \pm 0,20$  %) es inferior. El valor obtenido para la capacidad

antioxidante por el método ABTS (**Tabla2-6**) comparado con lo reportado por Rojano et al., 2011 nuevamente está por debajo, ya que este autor habla de una cifra de 40330  $\mu$ moles Trolox/100g muestra liofilizada.

**Tabla 2-6:** Capacidad antioxidante de la pulpa de asai liofilizada (*Euterpe precatoria* Mart).

Método DPPH				Método ABTS			
$\mu$ mol TE/100g muestra seca●		IC 95%*		$\mu$ mol TE/100g muestra seca●		IC 95%*	
Promedio	DE**	LI***	LS****	Promedio	DE**	LI***	LS****
7782.0	$\pm$ 430.43	6712,7	8851,2	16236	$\pm$ 110.37	15962	16511
%Inhibición				%Inhibición			
Promedio		DE*		Promedio		DE*	
74,4486		$\pm$ 3,9765		97,6092		$\pm$ 1,6534	

●Calculado en base seca de la pulpa de asai liofilizada

\*Intervalo de confianza del 95%

\*\* Desviación Estándar

\*\*\* Límite Inferior

\*\*\*\* Límite Superior

Precisamente, al comparar el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del asai con otras frutas, es interesante ver como varios autores han estudiado este fruto (sobre todo la especie *oleracea*) y lo postulan como un alimento con características funcionales. Así, Rufino et al., 2010 compara el poder antioxidante del asai con el de otras 17 frutas exóticas y concluye que el asai se clasifica dentro de la categoría de “alimentos con contenido intermedio de polifenoles”, ya que reporta cifras de 454 mg GAE/100 g de pulpa en base húmeda y de 3268 mg GAE/100 g de pulpa liofilizada, siendo frutas frescas y secas denominadas “ricas en polifenoles” el camu-camu (1176 mg GAE/100 g de pulpa en base húmeda y 11.615 mg GAE/100 g de pulpa liofilizada), la acerola (1063 mg GAE/100 g de pulpa en base húmeda y 10.280 mg GAE/100 g de pulpa liofilizada) y la puca preto (868 mg GAE/100 g de pulpa en base húmeda y 2.638 mg GAE/100 g de pulpa liofilizada). Por último, las frutas frescas clasificadas como “bajas en polifenoles” incluyen umbu, el jobo y bacuri y, en frutos secos, la mangaba, carnauba, marañón, umbu y el jobo. Vera de Rosso et al., 2008 reporta que el asai puede considerarse como una buena fuente de antocianinas, en comparación con otros frutos rojos conocidos tales como fresa (Cordenunsi et al., 2002) la frambuesa (De Ancos et al., 2000) y el camu-camu (Zanatta et al., 2005).

En cuanto a capacidad antioxidante el mismo grupo de Rufino et al., 2010 indica que en pulpa liofilizada, el asai se encuentra dentro de las frutas exóticas con capacidad antioxidante intermedia. De otro lado, en comparación con frutos “convencionales”, autores como Del Pozo-Insfran et al., 2004, afirman que la pulpa de asai tiene una mayor capacidad antioxidante, respecto a los arándanos (4,6-31,1  $\mu\text{molTE/g}$  en base seca), las fresas (18,3-22,9  $\mu\text{molTE/g}$  en base seca) (17), las frambuesas (19,2-22,6  $\mu\text{molTE/g}$  en base seca), las moras (13,7-25,1  $\mu\text{molTE/g}$  en base seca), los arándanos (8,20 a 145  $\mu\text{molTE/g}$  en base seca) y el jugo de uva (18,2-26,7  $\mu\text{molTE/g}$  en base seca).

### 2.3.3 Análisis Físicoquímico

El pH, de la pulpa clasifica al asai especie *precatoria* como un fruto moderadamente ácido (**Tabla 2-7**). La acidez titulable, expresada en términos de ácido málico, que es el predominante en este fruto, corrobora estos resultados, ya que 0,012% en este compuesto, que es considerado un ácido fuerte, no hace que la pulpa se catalogue como extremadamente ácida. Los grados Brix de la pulpa del fruto asai en fresco indican un bajo contenido de sólidos solubles, lo cual puede asociarse con la adición de agua que se hace al producto estandarizado objeto del presente estudio (Peña et al. 2012), durante el proceso de despulpado que se hace el campo como parte del procesamiento.

**Tabla 2-7:** Parámetros físicoquímicos de la pulpa de asai en fresco (*Euterpe precatoria* Mart).

pH				Acidez titulable (g ácido málico/100g)				Sólidos Solubles (° Brix)			
Promedio	DE*	IC 95%*		Promedio	DE*	IC 95%*		Promedio	DE*	IC 95%*	
		LI***	LS****			LI***	LS****			LI***	LS****
4,35	±0,04	4,29	4,40	0,012	±0,005	0,006	0,018	3,3	±0,3	3,0	3,6

\*Intervalo de confianza del 95%

\*\* Desviación Estándar

\*\*\* Límite Inferior

\*\*\*\* Límite Superior

Pasando a estudiar los parámetros de color de la pulpa *E. precatoria* (**Tabla 2-8**) puede observarse que las coordenadas L, a, b obtenidas, describen este material vegetal con un color oscuro, que tiende al rojo (valor a positivo) y al amarillo (valor b positivo). Estos resultados obtenidos son comparables con los hallazgos de Sanabria & Sangronis, 2007

para *E. oleracea*, quien reporta un valor de luminosidad de  $33,4 \pm 0,1$  y  $35,1 \pm 0,0$ , valor a de  $2,1 \pm 0,0$  y  $1,6 \pm 0,0$  y un valor b de  $2,6 \pm 0,0$  y  $1,0 \pm 0,0$  para la primera y segunda cosecha analizadas en su publicación.

**Tabla 2-8:** Color instrumental para la pulpa de asai en fresco (*Euterpe precatoria* Mart).

Color				
Coordenada	Promedio	DE**	IC 95%*	
			LI***	LS****
L	34,40	$\pm 0,79$	33,42	35,38
a	2,18	$\pm 0,26$	1,86	2,50
b	1,78	$\pm 0,59$	1,04	2,52

\*Intervalo de confianza del 95%

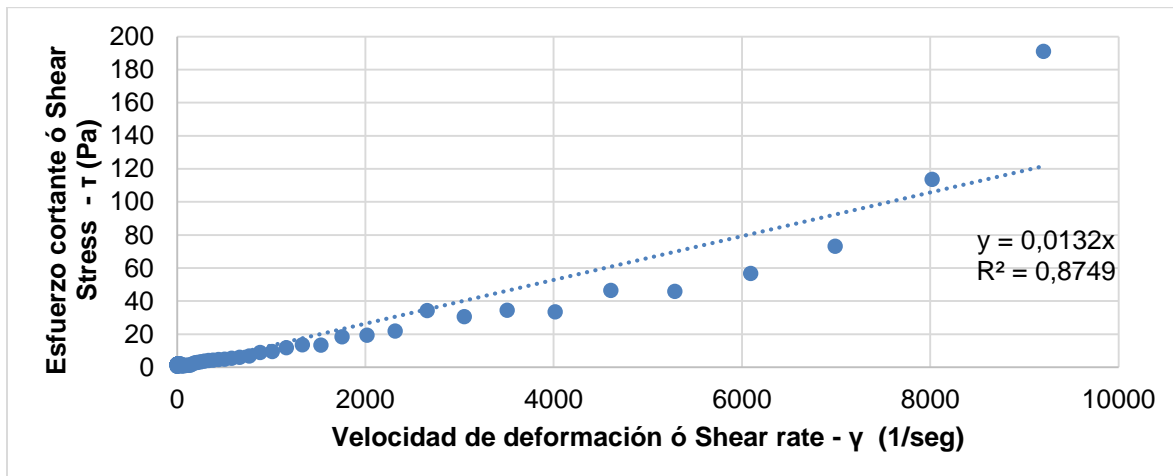
\*\* Desviación Estándar

\*\*\* Límite Inferior

\*\*\*\* Límite Superior

Con el fin de dilucidar las propiedades de flujo y clasificar la pulpa de asai en fresco por su comportamiento reológico, se construyó un reograma de esfuerzo cortante ( $\tau$  o Shear Stress) en el eje “y” en función de la velocidad de deformación ( $\gamma$  o Shear Rate) en el eje “x”. Siguiendo entonces la ley de Newton que enuncia que  $\tau = \mu\gamma$ , siendo  $\mu$  la viscosidad aparente del fluido, puede apreciarse en la **Figura 2-1** que todos los puntos tienden a agruparse en una recta que enuncia que para la pulpa de *E. precatoria*,  $\tau$  es directamente proporcional a  $\gamma$ , y que por ende la viscosidad es la pendiente de dicha recta, evidenciando un comportamiento típico de un fluido newtoniano.

**Figura 2-2:** Comportamiento reológico de la pulpa de asai en fresco (*Euterpe precatoria* Mart).



Así, se propuso una ecuación de regresión simple por el origen para cada una de las réplicas y se comprobó que las pendientes de dichas rectas son iguales estadísticamente (FCal= 3,47; P=0,0640), usando la prueba F correspondiente. Por lo anterior, se calculó la ecuación que define el comportamiento viscoelástico de la pulpa de asai en fresco como  $y = 0.0132x$  y sus resultados son los que se expresan en la **Figura 2-1**. Esta descripción de la viscosidad para este material vegetal está descrita en Pa/seg, para una temperatura de 25 °C en un tiempo de 100 segundos. Este dato es útil para la construcción de equipos específicos para el procesamiento del asai y difiere del comportamiento evidenciado por la mayoría de pulpas de fruta, que se comportan como pseudoplásticos (Andrade-Pizarro et al., 2007). El coeficiente de regresión que se expresa en la figura mencionada fue estadísticamente significativa diferente de cero (TCal=37,31; P=0,00001), lo que indica que hay relación entre “x” y “y”. El valor de R<sup>2</sup> indica un buen ajuste de los datos al modelo propuesto (Tonon et al., 2009).

### 2.3.4 Análisis Microbiológico

De acuerdo con lo evidenciado en la **Tabla 2-7** puede verse que la pulpa de asai en fresco de la especie *precatoria*, cumple con los parámetros de seguridad microbiológica establecidos por la NTC 5468 “Zumos (jugos), néctares, purés (pulpas) y concentrados de frutas para pulpas de frutas, la cual no es de obligatorio cumplimiento en el territorio colombiano, pero que sirve como documento de referencia para diversos índices de calidad de este tipo de productos.

Se trata entonces de un producto inocuo, cuyas condiciones de procesamiento en San José del Guaviare han sido plenamente controladas, lo mismo que su transporte y almacenamiento, considerando que no es posible garantizar totalmente la cadena de frío para la pulpa de asai y que realizar un proceso térmico altera notablemente sus características sensoriales. El uso de aditivos permitidos en mínimas cantidades (Peña et al., 2012) ayuda a mantener un pH ácido que evita la proliferación de microorganismos y a su vez, estabiliza las antocianinas presentes. El resultado de ambos mecanismos de conservación para la pulpa da como resultado un producto seguro que puede ser consumido directamente o ser incluido en otro tipo de matrices, sin riesgo para la salud.

**Tabla 2-9:** Análisis microbiológico de la pulpa de asai en fresco (*Euterpe precatoria* Mart).

Prueba	Pulpa de asai	Valor de Referencia
Coliformes Totales (ufc/g-mL)	<3	<3
Coliformes Fecales (ufc/g-mL)	<3	<3
Recuento de Mesófilos Aerobios	<10	500-800
Estanfilococo coagulasa (ufc/g-mL)	No hubo presencia	Ausencia
<i>Salmonella</i> en 25 g de muestra	No hubo presencia	Ausencia
Recuento de <i>Bacillus cereus</i>	No hubo presencia	Ausencia
Recuento de Mohos y Levaduras	<10	Entre 10-50
Recuento de esporas <i>Clostridium</i> sulfito reductor	<10	<10

## 2.4 Conclusiones

Los hallazgos de esta investigación permiten afirmar que la pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart) liofilizada nativa de la amazonía colombiana, puede ser considerada un material vegetal rico en componentes bioactivos, partiendo de su caracterización bromatológica y antioxidante. Contiene un 22,9% m/m de fibra dietaria y un 53% m/m de grasa en su composición en materia seca, de la cual el 70% m/v corresponde a ácido oléico y presenta un contenido de fenoles totales de 104,32 mg EAG/ g de materia seca liofilizada, donde las proantocianidinas predominan sobre las antocianinas presentes en la pulpa caracterizada, las cuales contribuyen en menor proporción a la capacidad antioxidante del fruto, que se estimó en 7782  $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$  de materia seca por el método DPPH y en 16236  $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$  de materia seca por el método ABTS. De otra parte, las propiedades fisicoquímicas y el perfil microbiológico de la pulpa de asai, hacen que este producto tenga un impacto tecnológico promisorio y que pueda ser materia prima para el desarrollo de nuevos productos alimenticios. Es necesario llevar a cabo pruebas biológicas con modelos *in vitro* e *in vivo* en pro de dilucidar el verdadero rol funcional del asai.

## Bibliografía

Aiyer HS, Warri AM, Woode DR, Hilakivi-Clarke L, Clarke R. Influence of berry polyphenols on receptor signaling and cell-death pathways: Implications for breast cancer prevention. *J. Agric. Food. Chem.* 2012; 60: 5693–5708.

- Almeida MMB, de Sousa PHM, Arriaga ÂMC, do Prado GM, Magalhães, CE, Maia GA, de Lemos TLG. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Res Int.* 2011; 44: 2155-2159.
- Andrade-Pizarro RD, Torres R, Montes EJ, Ortega FA. Comportamiento reológico de pulpas de frutas tropicales: Guayaba (*Psidium guajava* L), Guanábana (*Annona muricata* L), Zapote (*Calocarpum sapota* Merr) y Níspero (*Achras sapota* L). @limentech. Universidad de Pamplona. 2007; 2(5):37-44.
- AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Washington, 2000.
- Basu A, Lyons TJ. Strawberries, blueberries, and cranberries in the metabolic syndrome: Clinical perspectives. *J. Agric. Food. Chem.* 2012; 60: 5687-5692.
- Burton-Freeman, B. Postprandial metabolic events and fruit-derived phenolics: A review of the science. *Brit J Nutr.* 2010; 104:14.
- Castillo YM, Lares M, Hernández, MS. Caracterización bromatológica y fisicoquímica del fruto amazónico asai (*Euterpe precatoria* Mart). *Vitae.* 2012; 19(1):309-311.
- Chin YW, Chai HB, Keller WJ, Kinghorn AD. Lignans and other constituents of the fruits of *Euterpe oleracea* (acai) with antioxidant and cytoprotective activities. *J. Agric. Food. Chem.* 2008; 56: 7759–7764.
- Codex Alimentarius. Codex general standard for food additives codex Stan 192. 1995.
- Cordenunsi BR, Nascimento JRO, Genovese MI, Lajolo FM. Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 2581–2586.
- Costa AGV, Garcia-Diaz DF, Jimenez P, Silva P.I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red–black berries. *Journal of Functional Foods.* 2013;5 (2): 539–549.
- De Ancos B, Ibañez E, Reglero G, Cano P. Frozen storage effects on anthocyanins and volatile compounds of raspberry fruit. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48: 873–879.
- De Moura RS, Pires KMP, Ferreira TS, Lopes AA, Nesi RT, Resende AC, Sousa PJC, Da Silva AJR, Porto LC, Valencia SS. Addition of açai (*Euterpe oleracea*) to cigarettes has a protective effect against emphysema in mice. *Food Chem. Toxicol.* 2011; 49: 855-863.
- De Oliveira PRB, Da Costa CA, De Bem GF, Marins de Cavalho LCR, De Souza MAV, De Lemos Neto M, Da Cunha Sousa PJ, De Moura RS, Resende AC. Effects of an extract obtained from fruits of *Euterpe oleracea* Mart. In the components of metabolic

- syndrome induced in c57bl/6j mice fed a high-fat diet. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2010; 56: 619-626.
- Del Pozo-Insfran D, Percival SS, Talcott ST. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(4):1222–1229.
- Del Pozo-Insfran, D, Brenes, C.H, Talcott, ST. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *J Agric Food Chem.* 2004; 52: 1539-1545.
- Dembitsky VM, Poovarodom S, Leontowicz H, Leontowicz M, Vearasilp S, Trakhtenberg S, Gorinstein S. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites. *Food Res Int.* 2011; 44:1671-1701.
- Dennehy CE, Tsourounis C, Miller AE. Evaluation of herbal dietary supplements marketed on the internet for recreational use. *Ann Pharmacother.* 2005; 39: 1634–1639.
- Devalaraja S, Jain S, Yadav H. Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. *Food Res Int.* 2011, 44, 1856-1865.
- FAO. Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Capítulo 16. Análisis de fibra dietética. Pak, N. [en línea]. 2007. [Citado Septiembre de 2013 ] Disponible en: [ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ah833s /AH833S01.pdf]
- FAO/OMS. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Serie de Informes Técnicos. Ginebra.2003.
- González R, Ballester I, López-Posadas R, Suárez MD, Zarzuelo A, Martínez-Augustin O, Medina FS. Effects of flavonoids and other polyphenols on inflammation. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2011; 51: 331-362.
- Goodman M, Bostick R.M, Kucuk O, Jones D.P. Clinical trials of antioxidants as cancer prevention agents: Past, present, and future. *Free Radical Biol Med.* 2011; 51:1068-1084.
- Gordon A, Cruz APG, Cabral LMC, de Freitas SC, Taxi CMAD, Donangel, CM, De Andrade Mattietto R, Friedrich M, Da Matta VM, Marx F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of açai fruits (*Euterpe oleraceae* mart.) during ripening. *Food Chem.* 2012; 133: 256-263.
- Hassimotto NMA, Genovese MI, Lajolo FM. Antioxidant capacity of brazilian fruit, vegetables and commercially-frozen fruit pulps. *J Food Compos Anal.* 2009; 22: 394–396.
- Heinrich M, Dhanji T, Casselman I. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.)—a phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. *Phytochemistry Letters.* 2011: 4; 10-21.

- Henry JT, Ronald Ross W, Victor R.P. Chapter 2 - vegetable and fruit intake and the development of cancer: A brief review and analysis. In Bioactive foods in promoting health, Academic Press: San Diego. 2010: 19-36.
- Hogan S, Chung H, Zhang L, Li J, Lee Y, Dai Y, et al. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. Food Chem. 2010; 118(2):208-14.
- Horiguchi T, Ishiguro N, Chihara K, Ogi K, Nakashima K, Sada K, Hori-Tamura N. Inhibitory effect of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp on ige-mediated mast cell activation. J. Agric. Food. Chem. 2011; 59: 5595–5601.
- Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas (Sinchi). Caracterización química de especies maderables y no maderables del bosque. Proyecto forestal Guaviare. Ficha de caracterización *Euterpe precatoria*. 2011.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, ICONTEC. Norma técnica colombiana (NTC) 5468: “Zumos (jugos), néctares, purés (Pulpas) y concentrados de frutas”.2007.
- International Organization for Standardization (ISO). Norma 14892. Dried skimmed milk - Determination of vitamin D content using high-performance liquid chromatography. 2002.
- International Organization for Standardization (ISO). Norma 5508. Animal and vegetable fats and oils -- Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids. 1900.
- International Organization for Standardization (ISO). Norma 5509. Animal and vegetable fats and oils -- Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids.1990.
- Jensen GS, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, et al. In vitro and in vivo Antioxidant and Anti-inflammatory Capacities of an Antioxidant-Rich Fruit and Berry Juice Blend. Results of a Pilot and Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Crossover Study. J Agric Food Chem. 2008; 56(18):8326-33.
- Kang J, Li Z, Wu T, Jensen GS, Schauss AG, Wu X. Antioxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). Food Chem. 2010; 122(3):610-7.
- Kang J, Thakali KM, Xie C, Kondo M, Tong Y, Ou B, Jensen G, Medina MB, Schauss AG, Wu X. Bioactivities of Açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. Food Chem.2012; 133:671–677.
- Kang J, Xie C, Li Z, Nagarajan S, Schauss AG, Wu T, Wu X. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. Food Chem. 2011; 128: 152-157.

- Kausar H, Jeyabalan J, Aqil F, Chabba D, Sidana J, Singh IP, Gupta RC. Berry anthocyanidins synergistically suppress growth and invasive potential of human non-small-cell lung cancer cells. *Cancer Letters*. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2012.05.029>.
- Kinghorn AD, Chai HB, Sung CK, Keller WJ. The classical drug discovery approach to defining bioactive constituents of botanicals. *Fitoterapia*. 2011; 82:71-79.
- Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. 2005; 25: 726-732.
- Lai, L. S., S.T. Chou, W.W. Chao. 2 Studies on the antioxidant activities of Hsian-Tsao (*Mesona procumbens* Hemsl). *J. Agric. Food Chem*. 2001; 49(1): 963-968.
- Lee R, Balick MJ. Palms, people, and health. *Explore*. 2008; 4(1):59-62.
- Lichtenthaler R, Belandrino R, Maia J, Papaianopoulos M, Fabricius H, Marx, F. Total antioxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart (Asai). *Int. J. Food Sci. Nutr*. 2005; 56(1):68-75.
- Lim YY, Lim TT, Tee JJ. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chem*. 2007, 103, 1003-1008.
- Matheus ME, Fernandes SBdO, Silveira CS, Rodrigues VP, Menezes FS, Fernandes PD. Inhibitory effects of *Euterpe oleracea* Mart. On nitric oxide production and inos expression. *J Ethnopharmacol*. 2006; 107: 291-296.
- Mertens-Talcott S, Rios J, Jilma-Stohlawetz P, Pacheco-Palencia LA, Meibohm B, Talcott ST, Derendorf H. Pharmacokinetics of Anthocyanins and Antioxidant Effects after the Consumption of Anthocyanin-Rich Acai Juice and Pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in Human Healthy Volunteers. 2008; 56:7796-7802.
- Michalska M, Gluba A, Mikhailidis DP, Nowak P, Bielecka-Dabrowa A, Rysz J, Banach M. The role of polyphenols in cardiovascular disease. *Med Sci Monit*. 2010;16:110-119.
- Miller MG, Shukitt-Hale B. Berry fruit enhances beneficial signaling in the brain. *J. Agric. Food. Chem*. 2012; 60: 5709-5715.
- Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 00329 de 2013.
- Mirmiran P, Noori N, Zavareh MB, Azizi F. Fruit and vegetable consumption and risk factors for cardiovascular disease. *Metabolism*. 2009; 58:460-468.
- Muñoz-Puentes E, Rubio LA, Chernikoff R, Possa HN, Morant MA. Modelo predictivo del comportamiento reológico de pulpas de fruta (Pera). Facultad de Ciencias Aplicadas a la Industria, Universidad Nacional de Cuyo, San Martín 352, San Rafael (Mza.),

- Argentina. [en línea]. Sin año. [Citado Septiembre de 2011] Disponible en [www.fc.ai.uncu.edu.ar/upload/40atc-munoz-puntes-uncuyo.pdf].
- Nascimento RJSD, Couri S, Antoniassi R, Freitas SP. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. Rev. Bras. Fruticultura. 2008; 30: 498-502.
- Noratto GD, Angel-Morales G, Talcott ST, Mertens-Talcott SU. Polyphenolics from açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) and red muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) protect human umbilical vascular endothelial cells (HUVEC) from glucose- and lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and target microRNA-126. J. Agric. Food. Chem. 2011; 59: 7999–8012.
- Oliveira de Souza M, Silva M, Silva ME, De Paula Oliveira R, Pedrosa ML. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. Nutrition. 2010; 26: 804-810.
- OMS. 61ª Asamblea Mundial de la Salud. Prevención y control de las enfermedades no transmisibles: aplicación de la estrategia mundial [en línea]. 2008. [Citado Agosto de 2011]. Disponible en [http://www.who.int/gb/ebwha/pdf\_files/A61/A61\_8-sp.pdf].
- OMS. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Catalogo biblioteca de datos de publicación Organización Mundial de la Salud. 1ra Edición. p 176. Italia. 2011.
- Pacheco-Palencia LA, Duncan CE, Talcott ST. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial acai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. Food Chem. 2009; 115(4):1199-205.
- Pacheco-Palencia LA, Hawken P, Talcott ST. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. Food Res Int. 2007; 40(5):620-8.
- Pacheco-Palencia LA, Mertens-Talcott S, Talcott ST. In vitro absorption and antiproliferative activities of monomeric and polymeric anthocyanin fractions from açaí fruit (*Euterpe oleracea* Mart.). Food Chem. 2010; 119:1071-1078.
- Pacheco-Palencia LA, Talcott ST, Safe S, Mertens-Talcott S. Absorption and biological activity of phytochemical-rich extracts from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and oil in vitro. J. Agric. Food. Chem. 2008; 56:3593-3600.
- Pacheco-Palencia LA, Talcott ST. Chemical stability of açaí fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems. Food Chem. 2010; 118:17-25.
- Peña LF, Barrera JA, Hernández MS. Obtención de la pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart) en la amazonía norte colombiana. Vitae. 2012; 19: 309-311.

- Pessoa JDC, Arduin M, Martins MA, Carvalho JEU. Characterization of açai (E. Oleracea) fruits and its processing residues. Braz Arch Biol Techn. 2010; 53:1451-1460.
- Reiss R, Johnston J, Tucker K, DeSesso JM, Keen CL. Estimation of cancer risks and benefits associated with a potential increased consumption of fruits and vegetables. Food Chem. Toxicol. 2012; 50:4421-4427.
- Ribeiro JC, Greggi-Antunes LM, Ferro-Aissa A, Castania-Darin JD, Vera De Rosso V, Zerlotti- Mercadante A, Pires-Bianchi MDL. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects after acute and subacute treatments with acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) on mice using the erythrocytes micronucleus test and the comet assay. Mutat Res. 2010; 695:22–28.
- Rocha APM, Carvalho LCRM, Sousa MAV, Madeira SVF, Sousa PJC, Tano T, Schini-Kerth VB, Resende AC, Soares de Moura R. Endothelium-dependent vasodilator effect of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. Vasc Pharmacol. 2007; 46:97-104.
- Rogez H, Pompeu DR, Akwie SNT, Larondelle Y. Sigmoidal kinetics of anthocyanin accumulation during fruit ripening: A comparison between açai fruits (*Euterpe oleracea*) and other anthocyanin-rich fruits. J Food Compos Anal. 2011;24:796-800.
- Rogez H. asai: prepare, composicao, emelhoramento da conservacao, 1st ed. Edufpa, Belem Brazil. 2000.
- Rojano BA, Vahos ICZ, Arbeláez AFA, Martínez AJM, Correa FBC, Carvajal LG. Polifenoles y actividad antioxidante del fruto liofilizado de palma Naidi (Açai colombiano) (*Euterpe oleracea* Mart). Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín. 2011; 64: 6213-6220.
- Rufino MDSM, Alves RE, De Brito ES, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F, Mancini-Filho J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from brazil. Food Chem. 2010; 121: 996-1002.
- Rufino MdSM, Pérez-Jiménez J, Arranz S, Alves RE, de Brito ES, Oliveira MSP, Saura-Calixto F. Açai (*Euterpe oleraceae*) 'brs pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. Food Res Int. 2011; 44: 2100-2106.
- Sabbe S, Verbeke W, Deliza R, Matta V, Van Damme P. Effect of a health claim and personal characteristics on consumer acceptance of fruit juices with different concentrations of asai (*Euterpe oleracea* Mart.). Appetite. 2009; 53:84–92.
- Sanabria N, Sangronis E. Caracterización del asai o manaca (*Euterpe oleracea* Mart.): un fruto del Amazonas. Arch Latinoam Nutr. 2007; 57:94–99.

- Schauss (a) AG, Wu RL, Ou B, Patel D, Huang D, Kababick JP. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry *Euterpe oleracea* Mart (Asai). *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(22):8598–8603.
- Schauss (b) AG, Wu X, Prior RL., Ou B, Huang D, Owens J, Agarwal A, Jensen GS, Hart AN, Shanbrom E. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(22): 8604–8610.
- Seyhan, E. Química Orgánica. Estructura y Reactividad. Tomo 2. Tercera Edición. Editorial Reverté S.A. 2004. Barcelona, España.
- Shanmuganayagam D, Beahm MR, Kuhns MA, Krueger CG, Reed JD, Folts JD. Differential effects of grape (*vitis vinifera*) skin polyphenolics on human platelet aggregation and low-density lipoprotein oxidation. *J. Agric. Food. Chem.* 2012; 60:5787–5794.
- Spada PDS, Dani C, Bortolini GV, Funchal C, Henriques JAP, Salvador M. Frozen fruit pulp of *Euterpe oleraceae* Mart. (Acai) prevents hydrogen peroxide-induced damage in the cerebral cortex, cerebellum, and hippocampus of rats. *J Med Food.* 2009; 12: 1084-1088.
- Stoner GD, Wang LS, Seguin C, Rocha C, Stoner K, Chiu S, Kinghorn AD. Multiple berry types prevent n-nitrosomethylbenzylamine-induced esophageal cancer in rats. *Pharmaceutical Research.* 2010; 27:1138–1145.
- Stoner GD, Wang LS, Zikri N, Chen T, Hecht SS, Huang C, Sardo C, Lechner JF. Cancer prevention with freeze-dried berries and berry components. *Sem Cancer Biol.* 2007; 17: 403-410.
- Sun X, Seeberger J, Alberico T, Wanga C, Wheeler CT, Schauss AG, Zou S. Açai palm fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves survival of flies on a high fat diet. *Exp Gerontol.* 2010; 45: 243–251.
- Tonon RV, Alexandre D, Hubinger MD, Cunha RL. Steady and dynamic shear rheological properties of açai pulp (*Euterpe oleraceae* Mart.). *J. Food Eng.* 2009; 92(4):425-31.
- Udani JK, Singh BB, Singh VJ, Barrett ML. Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. *Nutrition Journal* 2011; 10(45):1-7.
- Velarde MJ, Moraes M. Densidad de individuos adultos y producción de frutos del asai (*Euterpe precatoria*, arecaceae) en riberalta, Bolivia. *Ecología en Bolivia.* 2008; 43: 9-110.
- Vera de Rosso V, Hillebrand S, Cuevas-Montilla E, Bobbio FO, Winterhalter P, Mercadante AZ. Determination of anthocyanins from acerola (*malpighia emarginata*

- dc.) and açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. *J Food Compos Anal.* 2008; 21: 291-299.
- Wang LS, Stoner GD. Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters.* 2008; 269: 281-290.
- Won L, Young JK, Hyong JL, Chang YL. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51: 7292–7295.
- Wootton-Beard P, Ryan L. Improving public health? The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Res Int.* 2011; 44: 3135-3148.
- Wrolstad RE, Durst W, Lee J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends Food Sci Technol.* 2005; 16:423-428.
- Xie C, Kang J, Burris R, Ferguson ME, Schauss AG, Nagarajan S, Wu X. Açai juice attenuates atherosclerosis in apo E deficient mice through antioxidant and anti-inflammatory activities. *Atherosclerosis.* 2011; 216: 327-333.
- Zanatta CF, Cuevas E, Bobbio FO, Winterhalter P, Mercadante AZ. Determination of anthocyanins from camu–camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC–PDA, HPLC–MS and NMR. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53: 9531–9535.

### **3.Efecto de las temperaturas de secado sobre capacidad antioxidante del asai (*Euterpe precatoria* Mart).**

#### **Resumen**

El asai es una planta perteneciente a la familia de las Arecáceas, clase Palmae, género *Euterpe*, cuyos frutos son de forma redonda-ovalada y tienen diámetros de hasta 1,8 cm. Esta palma se encuentra ampliamente distribuida en la amazonía de países como Brasil, Perú, Bolivia, Ecuador, Venezuela y Colombia y son escasas las alternativas agroindustriales para su uso sustentable. El objetivo de esta investigación fue evaluar la producción de un ingrediente natural con pulpa de asai y maltodextrina, mediante la técnica del secado por convección forzada a temperaturas de 55, 60 y 65 °C en un horno deshidratador de bandejas; simultáneamente también se evaluó el secado de la pulpa. Se construyeron las curvas de secado para los seis tratamientos propuestos, se realizó el análisis granulométrico y se evaluó el contenido y capacidad antioxidante de los polvos obtenidos. P55 mostró la humedad en equilibrio más alta y el mayor contenido de fenoles totales (90,56 mg AG/g). P+MD65 obtuvo la menor humedad en equilibrio (4,64% m/m) en un tiempo más corto, el mejor comportamiento granulométrico y la mejor capacidad antioxidante por el método ABTS (15976,58  $\mu$ moles ET/100g). Se definieron las condiciones de deshidratación para la producción de un ingrediente natural a partir del fruto amazónico asai logrando propiedades antioxidantes considerables para la formulación de productos alimenticios. Es importante considerar el control de todas las variables de secado para conservar las propiedades de los componentes bioactivos con interés para la salud.

**Palabras clave:** frutos amazónicos, secado, convección forzada, asai, *Euterpe precatoria*.

## Summary

Asai is a plant belonging to the family of the Arecaceae, Palmae class, genus *Euterpe* whose fruits are round-oval shape and have diameters of up to 1.8 cm. This palm is widely distributed in the Amazon countries like Brazil, Peru, Bolivia, Ecuador, Venezuela and Colombia and there are few alternatives for sustainable agro-industrial use. The objective of this research was to evaluate the production of a natural ingredient with asai pulp and maltodextrin, using the technique of forced convection drying at temperatures of 55, 60 and 65 ° C in a drying oven trays; simultaneously drying the pulp was also evaluated. Drying curves for the proposed six treatments were constructed, particle size analysis was carried out and content and antioxidant capacity of the powders obtained was evaluated. P55 showed the highest moisture balance and the highest total phenolic content (90.56 mg AG/g). P + MD65 had the lowest equilibrium moisture (4.64% m/m) in a shorter, best performance and best sieve antioxidant capacity by ABTS method (15976.58  $\mu\text{mol ET} / 100\text{g}$ ) time. Dehydration conditions for the production of a natural ingredient were defined from Amazon Fruit asai achieving considerable antioxidant properties for the formulation of food products. It is important to control all variables drying to preserve the properties of bioactive components relevant to health.

**Key Words:** amazon fruits, drying, forced convection, asai, *Euterpe precatoria*.

## 3.1 Introducción

El asai es una palma que se encuentra en la región amazónica suramericana. Su fruto, es reconocido como un alimento funcional *per se* y también, como una fuente promisoría de compuestos bioactivos de interés para la industria de alimentos (Sabbe et al., 2009; Lee et al., 2008; Velarde et al., 2008; Rogez, 2000, Pessoa et al., 2010).

El potencial fitoterapéutico del asai se basa en un gran número de publicaciones científicas (Kinghorn et al., 2011; Devalaraja et al., 2011; Rufino et al., 2010) que evidencian que los polifenoles (antocianinas y antocianidinas) (Pacheco-Palencia et al., 2009; Kang et al., 2010; Kang et al., 2011; Lichtenthaler et al., 2005; Rogez et al., 2011; Rojano et al., 2011; Vera de Rosso et al., 2008; Gordon et al., 2012; Sanabria & Sangronis, 2007; Schauss (a) et al., 2006; Schauss (b) et al., 2006; Pacheco-Palencia et

al., 2007; Del Pozo-Insfran et al., 2004; Pacheco-Palencia et al., 2010), los ácidos grasos (mono y poliinsaturados) y la fibra dietaria (Rufino et al., 2011), tienen acción biológica en el tratamiento y prevención del cáncer (Del Pozo-Insfran et al., 2006; Hogan et al., 2010; Pacheco-Palencia et al., 2010; Pacheco-Palencia et al., 2008; Ribeiro et al., 2010; Stoner et al., 2010), las enfermedades cardiovasculares (Sun et al., 2010; Oliveira de Souza et al., 2010; Rocha et al., 2007; Xie et al., 2011; De Oliveira et al., 2010; Udani et al., 2011) y otros cuadros asociados con el estrés oxidativo (Kang et al., 2012; Kang et al., 2011; Schauss (b) et al., 2006; Matheus et al., 2006; Noratto et al., 2011; Chin et al., 2008; Spada et al., 2009; Jensen et al., 2008; Mertens-Talcott et al., 2008).

Así, desde el 2005, un número importante de investigadores han estudiado la composición y la acción fisiológica de la pulpa, del jugo y de los extractos del asai, sobretudo de la especie *Euterpe oleracea*. En contraste, *Euterpe precatoria*, solo recientemente ha sido estudiada por su contenido de nutrientes y fitoquímicos, con resultados promisorios respecto a su contenido y capacidad antioxidante (Kang et al., 2012; Pacheco-Palencia et al., 2009).

Una tecnología de conservación y aprovechamiento para la pulpa del fruto en mención es la deshidratación. La reducción de humedad facilita su empaque, transporte y manipulación, disminuye la actividad de agua, el crecimiento microbiano y las reacciones de degradación, mejora la estabilidad del producto y concentra las sustancias bioactivas identificadas, en pro de su “dosificación” en nuevos productos alimenticios (Márquez et al., 2009; Márquez et al., 2002).

Existe en el mercado una gran oferta de productos en polvo elaborados con base a frutas ricas en antioxidantes y vitaminas y dentro de estos, se destacan los deshidratados de asai elaborados por el proceso de liofilización, que debido a las características de la técnica, se han descrito como alimentos de alta calidad nutricional y sensorial, ya que se preservan compuestos bioactivos, color y sabor. En la actualidad, otros métodos de deshidratación muy utilizados sobre todo en la industria de alimentos, incluyen el secado por aspersion (pulverización o “spray drying”) (Tonon et al., 2009; Tonon et al., 2010) y otros como el hoy por hoy denominado “Refractance Window (RW) drying”, el cual consiste en la aplicación del producto como una capa fina a la superficie superior de

una cinta transportadora de plástico transparente bajo la cual circula el agua caliente, que transfiere energía térmica al producto, resultando en productos calificados con los más altos estándares de calidad y conservación (Nindo y Tang, 2007; Khalloufi y Ratti, 2003). A pesar de las ventajas mencionadas anteriormente, es muy pertinente y relevante resaltar que debido a la utilización de vacío, temperaturas de congelación (sublimación en la liofilización) y/o evaporación, agua, material microencapsulante o de vehículo de secado, junto con los largos tiempo de procesamiento, las técnicas de secado antes mencionadas se constituyen como tecnologías de secado muy caras y complejas desde el punto de vista de la disponibilidad de equipos y suministro eléctrico (Hammami & Rene, 1997).

Uno de los métodos de deshidratación más comunes y tradicionales es el secado por convección, que puede definirse como el proceso por el cual se establece una diferencia de temperatura entre un fluido (gas o líquido) y un sólido, previa transferencia de calor por conducción y/o radiación, como lo que se logra en un horno de convección forzada cuando se hace circular una corriente de aire caliente sobre el producto para eliminar la humedad (Márquez et al., 2009). Aunque su uso es frecuente, algunos autores (Ratti, 2001) califican esta técnica como un método que implica altas temperaturas y largos tiempos de procesamiento, que causan pérdidas en los valores nutricionales y las propiedades sensoriales de los alimentos. Sin embargo, la evidencia científica también informa que bajo condiciones estandarizadas y controladas, la convección forzada ha mostrado resultados favorables para la obtención de productos alimenticios con características óptimas en su composición y a nivel fisicoquímico, a un bajo costo (Márquez et al., 2002). Así, el objetivo de esta investigación fue evaluar la producción de un ingrediente natural deshidratado a partir de la pulpa del fruto asai y maltodextrina grado alimenticio, usando como tecnología el secado por convección forzada con aire caliente.

## 3.2 Materiales y Métodos

### 3.2.1 Material Vegetal

La pulpa de asai provino del municipio de San José del Guaviare, Colombia y fue procesada según la metodología de Peña et al., 2012.

### 3.2.2 Preparación de la Muestra

Se utilizó pulpa de asai sola y en combinación con maltodextrina, en una relación 67% asai y 33% maltodextrina. Esta última, fue grado alimenticio y tuvo un equivalente de dextrina (DE) de 20, cual significa que cada molécula de maltodextrina se formó a partir de una hidrólisis parcial de una molécula de almidón y que está compuesta por aproximadamente 20 unidades de D- glucosa, unidas mediante enlaces  $\alpha$ -(1→4). Concretamente, el equivalente de dextrina se define así: DE= %Glucosa (azúcares reductores)/peso seco total. Un DE con valor de 100 corresponde al almidón completamente hidrolizado, que es la glucosa (dextrosa) pura.

### 3.2.3 Secado

Las muestras fueron deshidratadas por convección forzada a 55, 60 y 65°C cada una, para un total de 6 combinaciones, tal como se muestra en la **Tabla 3-1**.

**Tabla 3-1:** Identificación de los tratamientos a evaluar en el secado por convección formulación

Identificación - Abreviatura	Muestra
P <sup>155</sup>	Pulpa deshidratada a 55°C.
P <sup>60</sup>	Pulpa deshidratada a 60°C.
P <sup>65</sup>	Pulpa deshidratada a 65°C.
P+MD <sup>155</sup>	Pulpa y maltodextrina deshidratada a 55°C.
P+MD <sup>60</sup>	Pulpa y maltodextrina deshidratada a 60°C.
P+MD <sup>65</sup>	Pulpa y maltodextrina deshidratada a 65°C.

P= Pulpa; P+MD=Pulpa y maltodextrina

La primera temperatura de secado fue propuesta por Sinchi, 2012 y la última por Pavan et al., 2012. Se formuló 60°C como temperatura intermedia. Se utilizaron moldes de aluminio y se estandarizó el grosor de capa a 1 mm. Se usó un horno deshidratador de

bandejas eléctrico de 110 voltios (COMEK®). Se construyeron por duplicado las curvas de secado para los seis tratamientos propuestos con intervalos de 15 minutos hasta la estabilización del contenido de humedad. (Márquez et al., 2009) (Márquez et al., 2002).

### **3.2.4 Granulometría**

Las muestras denominadas como P+MD65, P+MD60 y P+MD55 fueron trituradas en un molino de café semiindustrial a velocidad media por 10 minutos. Posteriormente, se realizó el análisis granulométrico utilizando un sistema de tamices normalizado "Tyler Standard" siguiendo la norma internacional S319.2 establecida por la ASAE, 1994. Se utilizaron los tamices 40, 45, 50, 60, 80, 100 y fondo. El tiempo de vibración fue de 15 minutos.

### **3.2.5 Fenoles totales y Capacidad Antioxidante**

Se prepararon los extractos según la metodología de Rojano et al., 2011. La prueba de fenoles totales se hizo por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Kuskoski et al., 2005). Los resultados se expresan como equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mg EAG/g de muestra) utilizando una curva estándar de ácido gálico (AG) (0.05-1.5 mg/mL). Se determinó la capacidad antioxidante a través de dos métodos químicos por técnica espectrofotométrica: DPPH según la metodología descrita por Lai et. al., 2001 y ABTS de acuerdo a lo realizado por Won Lee et al., 2003. Los resultados son expresados como  $\mu\text{mol}$  de equivalentes Trolox (TE)/100 g de muestra. Todas las pruebas antioxidantes se hicieron por triplicado para cada una de las 6 muestras.

### **3.2.6 Diseño Experimental y Análisis Estadístico**

El diseño experimental básico fue completamente al azar en un arreglo factorial 2x3. El primer nivel fue Pulpa (0) y Pulpa+MD (1) y el segundo factor fueron los tres niveles de temperatura (55, 60 y 65 °C). Adicionalmente, se hicieron evaluaciones través del tiempo cada 15 minutos. Para el manejo estadístico, se hizo un análisis de varianza (ANOVA), correspondiente al arreglo factorial y a través del tiempo. Se propusieron modelos polinomiales hasta de quinto grado que permitieran describir y cuantificar el comportamiento de la humedad a través del tiempo ecuacional en cada combinación del arreglo factorial.

Para las características de contenido y capacidad antioxidante, se hizo un análisis con estadística descriptiva básica: promedio, desviación estándar, límite superior e inferior con un intervalo de confianza del 95% y error estándar del promedio. Se usó el paquete estadístico Statistix 9. También se hizo un análisis de varianza correspondiente al diseño factorial 2x3 y una prueba de comparación múltiple según los resultados del análisis de varianza.

### 3.3 Resultados y Discusión

#### 3.3.1 Secado

En la **Tabla 3-2** se presenta el análisis de varianza para la característica humedad y los dos factores en estudio a través del tiempo. El resultado principal corresponde es que la interacción Deshidratado  $\times$  Temperatura  $\times$  Tiempo fue estadísticamente significativa, lo cual quiere decir que el comportamiento del diseño factorial a través del tiempo es diferente. Por lo anterior, se propusieron los modelos de regresión polinomiales y no lineales para describir el diseño factorial en el tiempo.

**Tabla 3-2:** Análisis de varianza para la característica humedad y las diferentes condiciones de proceso para la obtención de un deshidratado con asai (*Euterpe precatoria* Mart.)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	$F_c$	$p^*$
Deshidratado	1117,936	1	1117,936	662,403	0,000
Temperatura	858,397	2	429,198	254,310	0,000
Tiempo	84761,133	20	4238,057	2511,148	0,000
Deshidratado* Temperatura	132,725	2	66,362	39,321	0,000
Deshidratado * Tiempo	8554,481	12	712,873	422,394	0,000
Temperatura * Tiempo	596,941	40	14,924	8,843	0,000
Deshidratado * Temperatura * Tiempo	166,288	24	6,929	4,105	0,000
ERROR	172,145	102	1,688		
TOTAL	201669,917	204			
TOTAL CORREGIDO	95563,643	203			

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

### 3.3.1.1 Obtención del deshidratado tipo pulpa

En el secado para la obtención del deshidratado tipo pulpa a las temperaturas 55, 60 y 65°C (P55, P60 y P65), el modelo que proporcionó el mejor ajuste fue el modelo cuadrático. En la **Tabla 3-3** se presentan las ecuaciones del modelo para cada uno de los tratamientos evaluados. Todos los términos del modelo para todas las temperaturas fueron estadísticamente diferentes a cero ( $p=0,00001$ ) y los  $R^2$  siempre fueron superiores a 0,95, por lo que se señala un excelente y sobresaliente ajuste del modelo cuadrático para describir la variación de la humedad, que por ser la variable independiente se describe como “y”.

**Tabla 3-3:** Ecuaciones del modelo cuadrático para la evaluación de la humedad durante el secado por convección de la pulpa de *asai* (*Euterpe precatoria* Mart.) a tres temperaturas distintas, a través del tiempo.

Muestra	Temperatura (°C)	Modelo	R <sup>2</sup>
P55	55	$Y = 93,96 - 1,44t + 0,005t^2$	0,98
P60	60	$Y = 89,85 - 1,41t + 0,005t^2$	0,97
P65	65	$Y = 86,27 - 1,44t + 0,005t^2$	0,95

Como se ilustra en la **Figura 3-1**, hasta el minuto 60, P65 tuvo un descenso más pronunciado en el contenido de humedad en comparación con las otras muestras, lo cual representó una ventaja en obtener en un tiempo más corto una menor humedad en equilibrio al final del experimento. Junto con P60 y P55, P65 empezó a mostrar un porcentaje de humedad relativamente constante desde el minuto 75 de secado. Para este momento, P60 y P55 mostraron aproximadamente entre 1,5 y 1,6% más de contenido humedad que P65, cuya presencia de agua pudo ser cuantificada como 4,08%  $\pm 0,14$ .

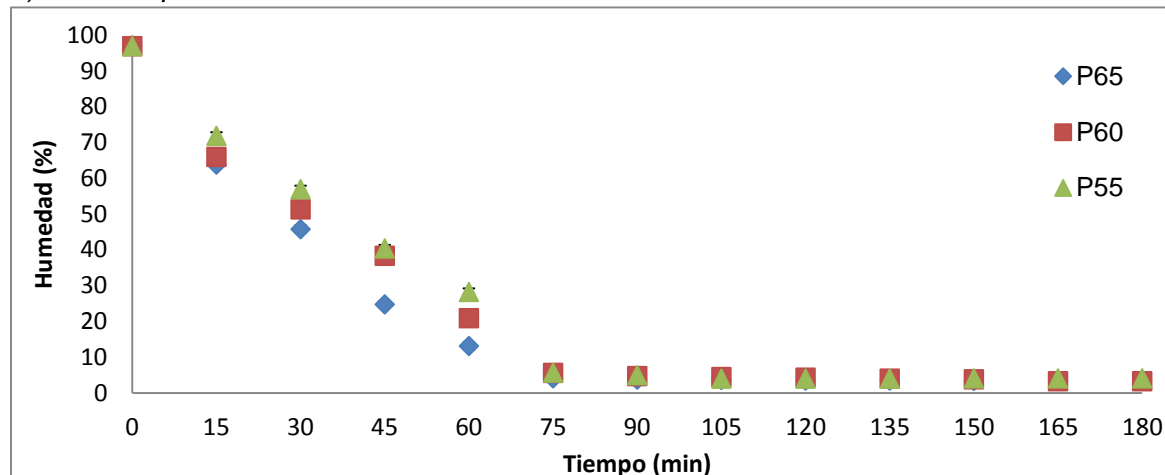
En el minuto 90, P65 llegó a su humedad en equilibrio que tuvo mínimas variaciones hasta el tiempo en el que se vigiló la cinética de secado en el montaje experimental. Este hecho fue perfectamente detectable por el modelo matemático propuesto, evidenciando un comportamiento típico de la fase final de un proceso de secado por convección. Para

el caso de P60 y P55, este mismo comportamiento se empezó a visualizar en ambos tratamientos durante el minuto 105.

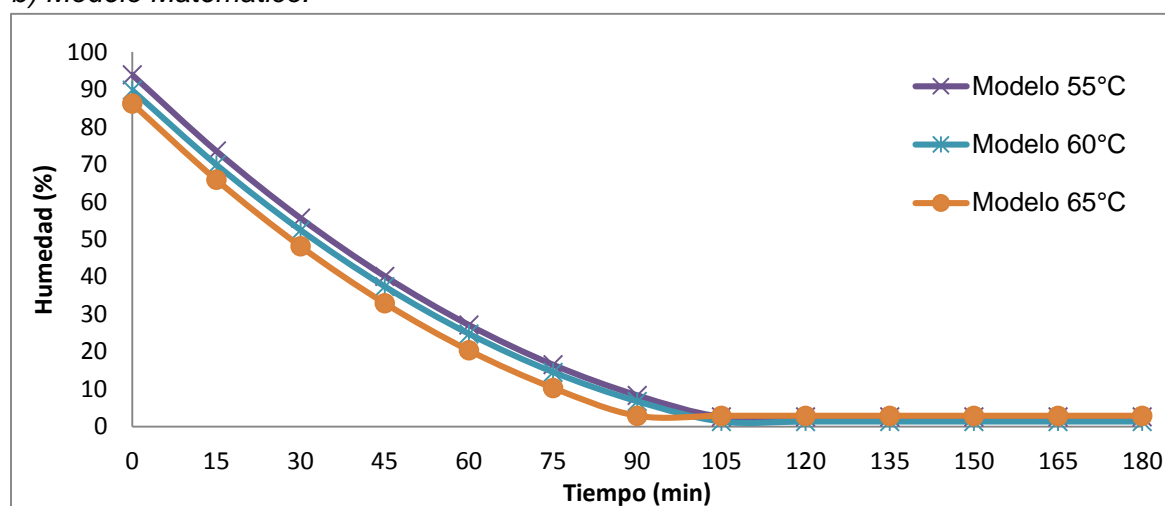
A las 3 horas de procesamiento, P55 tuvo la humedad en equilibrio más alta, ya que al disminuir la temperatura de deshidratación se tiene una menor capacidad de transferencia de calor y masa. Sin embargo, la humedad más baja, no fue para P65, sino para P60, cuyo deshidratado tuvo una humedad final de  $3,29\% \pm 1,46$ , siendo este hecho también descrito por el modelo matemático propuesto. El agua con que terminó la muestra P65 fue de  $3,39\% \pm 0,18$ . Todas las curvas de secado se adaptaron al comportamiento usual descrito para este tipo de procesamiento en materias vegetales como las pulpas de fruta (Contreras Monzón et al., 2006). Es importante recalcar que todas las muestras de pulpa que se deshidrataron partieron del mismo contenido de humedad ( $97,36 \pm 0,02\%$ ), pero que el modelo matemático no ilustra por completo esta situación, dado que se obtienen los primeros datos por cálculos indirectos con otras variables a considerar, como se muestra en las ecuaciones propuestas.

**Figura 3-1:** Curvas de secado para la pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart) a tres temperaturas distintas (a) y el ajuste al modelo propuesto para cada tratamiento (b)

a) Datos experimentales:



b) Modelo Matemático:



### 3.3.1.2 Obtención del ingrediente natural con maltodextrina

Durante el procesamiento para la obtención del deshidratado tipo pulpa y maltodextrina a las temperaturas 55, 60 y 65°C (P+MD55, P+MD60, P+MD65), al igual que para el caso anterior, se dio un buen ajuste del modelo cuadrático propuesto. Sin embargo, es de resaltar que para el caso de la muestra P+MD60 se logró una descripción más apropiada para la cinética de secado usando una ecuación de tercer grado, definida por un modelo cúbico. Este hecho habla que el secado de la mezcla a 60°C no cumplió con los

parámetros de un secado típicamente asintótico, sino que ilustra un comportamiento más sigmoide, indicando lentitud en el proceso de transferencia de masa.

En la **Tabla 3-4** se muestran las respectivas ecuaciones predictivas de la variación de la humedad, según el modelo matemático, para cada muestra. Todos los términos de los modelos para todas las temperaturas fueron estadísticamente diferentes a cero ( $p=0,00001$ ) y se tuvo valores para el  $R^2$  mayores a 0,86, que si bien fueron más bajos que los hallados para el secado de la pulpa sin adición de maltodextrina, muestran que el modelo cuadrático y cúbico, se consideran robustos para describir el comportamiento de la humedad.

**Tabla 3-4:** Ecuaciones del modelo cuadrático para la evaluación de la humedad durante el secado por convección de la mezcla de pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart.) y maltodextrina a tres temperaturas distintas, a través del tiempo.

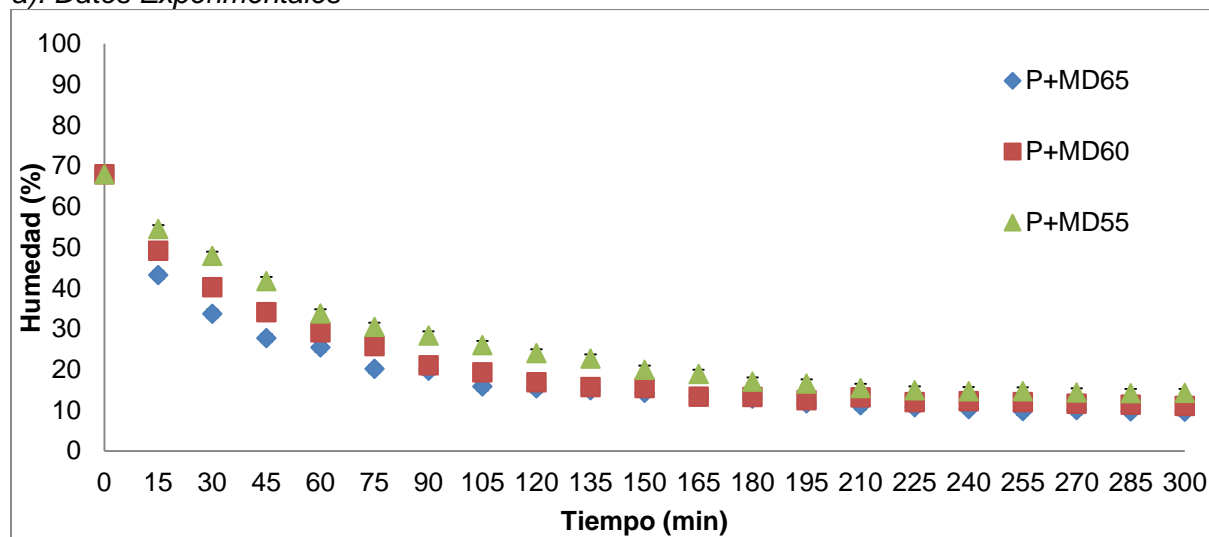
Muestra	Temperatura (°C)	Modelo	R <sup>2</sup>
P+MD55	55	$Y = 60,22 - 0,41t + 0,0009t^2$	0,97
P+MD60	60	$Y = 62,59 - 0,74t + 0,004t^2 - 0,00000591t^3$	0,98
P+MD65	65	$Y = 50,66 - 0,40t + 0,0009t^2$	0,86

Como se observa en la **Figura 3-2**, hasta las 2 primeras horas de deshidratación, P+MD65 redujo notablemente su contenido de humedad en contraste a P+MD 60 y P+MD55. Esta observación define el comportamiento ya descrito en la segunda etapa de una curva usual de proceso de deshidratación por convección, en la que hay una tendencia lineal, indicando que la velocidad de secado es constante. Sin embargo, considerando que la intensidad del secado está seriamente influenciada por la temperatura, es de esperar que tal como se acaba de describir, en las muestras sometidas a mayor temperatura se logra una remoción de humedad más rápida, lo que es descrito de forma más adecuada para P+MD65 según el modelo cuadrático, en comparación a lo que se detalla para P+MD60 según el modelo cúbico (Pineda-Castro et al., 2009).

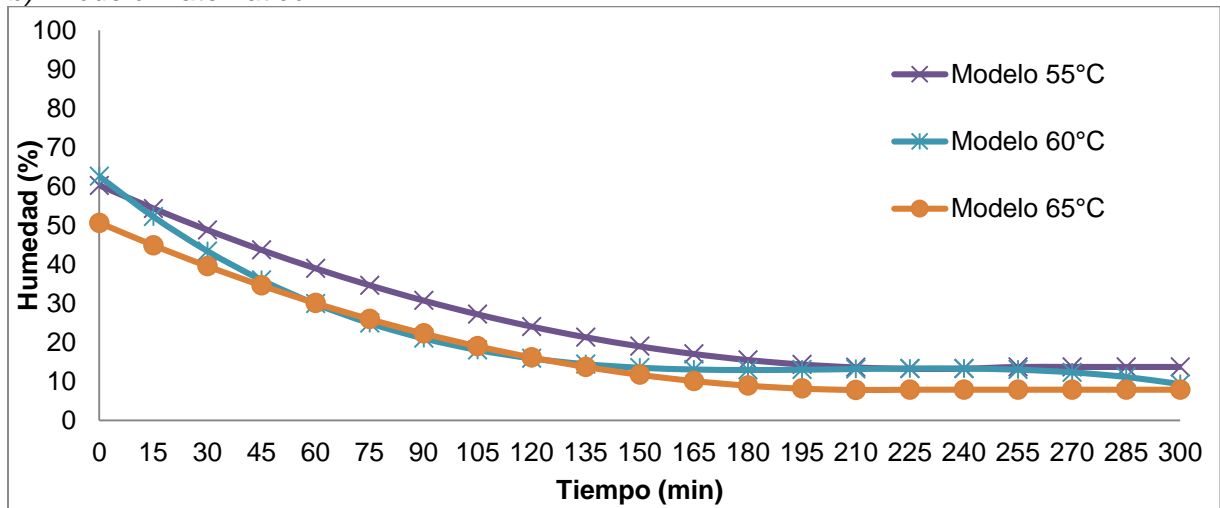
En el minuto 165, las muestras de P+MD65 y P+MD60 tienen un contenido de humedad muy cercano que comienza a diferenciarse en adelante, hasta que en el minuto 210 la primera muestra llega a su humedad en equilibrio (situación plenamente descrita por el modelo matemático propuesto), mientras que la segunda continúa fluctuando en su contenido de agua, hasta que entre el minuto 225 y 240 se presentan cifras de humedad relativamente estables. Sin embargo, el modelo cúbico propuesto para P+MD60 define que esta tendencia desaparece al minuto 255, momento en el cual la humedad presenta nuevas modificaciones, solo acercándose nuevamente a los resultados de P+MD65 luego de transcurridas 5 horas del proceso, es decir al final de la experimentación (humedad final de  $11,04 \pm 0,25$ ). P+MD65 pierde aproximadamente un 1% de humedad desde el minuto 210 hasta el final del secado y queda con un grado de humedad de  $4,64 \pm 0,34$ . Para el caso de P+MD55, sólo hasta el minuto 225 puede observarse como la cinética de secado se acerca sobre todo a la descrita para P+MD60, llegando a la humedad de equilibrio ( $14,25 \pm 0,19$ ) en dicho tiempo.

**Figura 3-2:** Curvas de secado para la pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart) y maltodextrina a tres temperaturas (a) y el ajuste al modelo propuesto para cada tratamiento (b)

a): Datos Experimentales



b): Modelo Matemático



La deshidratación de matrices alimenticias con un alto contenido de azúcares como las pulpas de fruta, se ha considerado tecnológicamente difícil debido a la rigidez y pegajosidad en el producto final (Muñoz & Cabrera, 2006). Uno de los enfoques para resolver éstas dificultades técnicas, ha sido la incorporación de sustancias autorizadas de alto peso molecular (Fabra et al., 2011). En el presente estudio se usó maltodextrina como agente antiaglutinante y como vehículo para evitar pérdidas de metabolitos secundarios que actúan como fitonutrientes, como es el caso de los polifenoles tipo antocianinas que predominan en el asai (Tonon et al., 2009; Tonon et al., 2010). Al comparar los resultados del secado de la pulpa de asai con los hallazgos anteriores puede verse que la maltodextrina modifica en general la dinámica del secado, influyendo en los tiempos de proceso (debido a la protección que provee frente a los componentes de la matriz vegetal) y altera la respuesta de la temperatura de secado frente a la relación sólidos solubles-humedad (Ortiz & Sulamita, 2003).

En este estudio, durante el secado con maltodextrina a 65°C se logró llegar a la humedad en equilibrio en el minuto 210, es decir 2 horas más de proceso frente a la pulpa de asai sola, obteniendo comparativamente con las otras muestras, el menor contenido agua, hecho que no se presentó durante el secado exclusivo de la pulpa a la misma temperatura. Lo anterior se debe a que durante la deshidratación con maltodextrina se forma una capa superficial tipo “encostramiento” en relación a que este compuesto contribuye a aumentar la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de la mezcla (Lewicki,

2006; Pavan et al., 2012). Con la mayor temperatura utilizada en este estudio fue posible promover un fenómeno de adsorción de la pulpa sobre la maltodextrina de la manera más efectiva, lo cual a pesar de alterar la transferencia de masa desde el interior de la muestra al medio externo (Tonon et al., 2009), parece llegar a proteger algunas sustancias termosensibles presentes en la pulpa de asai y que se destacan por ser bioactivos de gran preponderancia. Así mismo, esta descrito como la inclusión de dextrinas con alto peso molecular, además de actuar como agentes protectores y antiaglomerantes, puede llegar a mejorar la solubilidad de los deshidratados formulados con su inclusión y generar un aumento en la viscosidad durante la reconstitución de los mismos (Flood et al., 2004).

### 3.3.2 Granulometría

Como se observa en la **Tabla 3-5**, hay una clara influencia de la temperatura de secado en las características de tamaño de partícula de los polvos a obtener. El tamiz #50 fue en donde se presentó el mayor porcentaje de retención en los tres casos, sin embargo, en el tamiz #45 también se destacan altos porcentajes para P+MD65 y P+MD55 y en el #60 para P+MD60. El polvo obtenido del deshidratado a 65°C fue el que logró llegar hasta un tamaño de partícula más fino, lo cual puede relacionarse con la presencia de menor humedad (Márquez et al., 2009).

**Tabla 3-5:** Porcentaje de retención en tamiz de los deshidratados de pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart) y maltodextrina.

Muestra	Tamiz						
	40	45	50	60	80	100	Fondo
P+MD65	9,2±0,5	25,9±1,8	33,5±0,7	16,8±3,0	7,3±2,4	3,3±2,8	4,0±2,2
P+MD60	9,4±0,9	6,6±1,4	55,6±0,5	20,9±4,7	7,2±3,3	0,1±0,0	0,3±0,1
P+MD55	11,1±0,1	24,0±2,4	41,2±4,5	16,6±0,5	6,0±0,7	0,8±0,2	0,2±0,9

### 3.3.3 Contenido y capacidad antioxidante

En la **Tabla 3-6** se presenta el análisis de varianza para las características antioxidantes de los deshidratados. El resultado principal fue el hecho que la interacción Deshidratado  $\times$  Temperatura fue altamente significativa desde el punto de vista estadístico, lo cual quiere decir que el contenido y capacidad antioxidante exhibieron respuestas diferentes

según se realizó el secado por convección con pulpa sola o en combinación con maltodextrina y también considerando el cambio de temperatura.

**Tabla 3-6:** Análisis de varianza para las características antioxidantes y las diferentes condiciones de proceso para la obtención de un deshidratado con asai (*Euterpe precatoria* Mart.)

Ensayo	Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrática	$F_c$	$p^*$
Fenoles Totales	Deshidratado	19729,2	1	19729,2	65402,5	0,0000
	Temperatura	111,3	2	55,7	184,52	0,0000
	Deshidratado * Temperatura	116,7	2	58,3	193,38	0,0000
	ERROR	1,8	6	0,3		
	TOTAL	19959,0	11			
DPPH	Deshidratado	3,299E+07	1	3,299E+07	15664,7	0,0000
	Temperatura	7962,58	2	3981,29	1,89	0,0000
	Deshidratado * Temperatura	1063205	2	531603	252,44	0,0000
	ERROR	12635,2	6	2105,87		
	TOTAL	3,407E+07	11			
ABTS	Deshidratado	2,219E+07	1	2,219E+07	2449,48	0,0000
	Temperatura	8619995	2	4309998	475,84	0,0000
	Deshidratado * Temperatura	6460070	2	3230035	356,61	0,0000
	ERROR	54345,4	6	9057,57		
	TOTAL	3,732E+07	11			

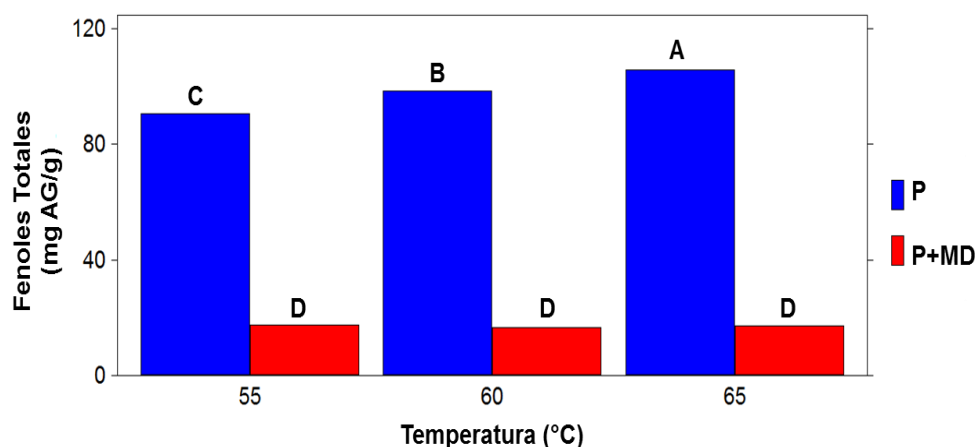
\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

Respecto a los fenoles totales, tal como lo muestra la **Figura 3-3**, se observa que para los polvos obtenidos de la mezcla de pulpa de asai y maltodextrina (P+MD), los datos a través de todas las temperaturas de secado fueron estadísticamente iguales, así lo indica la prueba de Tukey. Lo anterior indica que la adición de la maltodextrina efectivamente ejerce una protección importante ante la degradación de las sustancias termosensibles, sin relación estrecha con la temperatura de proceso para el caso de este tipo de antioxidantes. Entre tanto, puede verse en la misma figura, que la pulpa de asai deshidratada a diferentes temperaturas sin maltodextrina, si mostró una diferencia estadísticamente detectable en relación al contenido de fenoles, siendo la muestra P65 la

que conservó mejor el contenido de estos bioactivos. Al comparar los dos tipos de deshidratados obtenidos, es evidente que el contenido de fenoles varía en relación a la proporción de pulpa en la formulación, siendo para las muestras P+MD aproximadamente la quinta parte respecto a los polvos 100% pulpa, sin embargo también es claro que se presenta una variación por el papel protector de la maltodextrina.

Ahora, si bien se han observado reducciones en el contenido de polifenoles tipo antocianinas en otras frutas similares al asai, tras el proceso de secado con aire caliente (la investigación de Ruse et al., 2011 puso de manifiesto la reducción en el contenido de esta clase de bioactivos desde un 59% a un 79%, en diferentes variedades de arándano y el estudio de Wilska-Jeszka, 2007 señala que las antocianinas son altamente inestables y muy susceptibles de ser afectadas por el pH, la temperatura, el oxígeno, la luz, las enzimas, y por otras sustancias acompañantes tal como el ácido ascórbico, los azúcares, los sulfitos, los iones metálicos, entre otros), en la presente investigación puede verse que las muestras P60 y P65 (secadas con las dos temperaturas más altas), tuvieron luego del procesamiento, contenidos de fenoles totales superiores a la pulpa de asai liofilizada de referencia (104,3 mg EAG/g materia seca), hecho que podría explicarse al considerar que durante la deshidratación, pueden llegar a desarrollarse reacciones de deterioro como la reacción de Maillard, en la que se generan compuestos fenólicos que son captados y cuantificados por el reactivo de Folin (Tonon et al., 2010).

**Figura 3-3:** Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Deshidratado x Temperatura para Fenoles totales

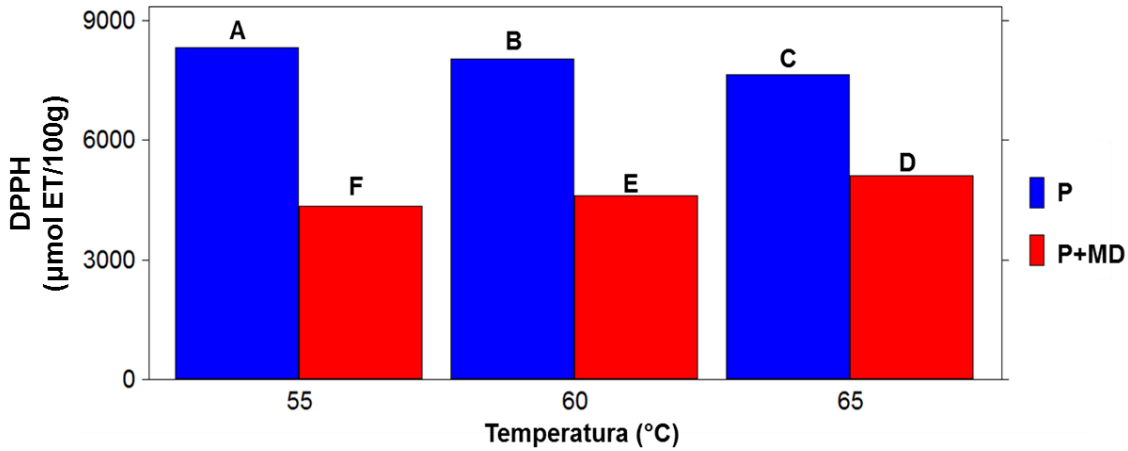


Nota: Columnas identificadas con letras diferentes, son estadísticamente diferentes entre sí.

Para el ensayo DPPH, en la **Figura 3-4** puede verse que tanto para los polvos obtenidos de la mezcla de pulpa de asai y maltodextrina (P+MD), como para los formulados con sólo pulpa (P), las variaciones en la capacidad antioxidante a través de todas las temperaturas de secado fueron diferentes estadísticamente según la prueba de Tukey. Así, para los primeros deshidratados (P+MD), puede observarse que se obtuvo una mayor capacidad antioxidante cuando se usó una mayor temperatura de secado, mientras que en el caso de la pulpa, se evidenció todo lo contrario. Este hecho pone de manifiesto como el mecanismo de adsorción de la pulpa de asai sobre la maltodextrina, no sólo es efectiva en la conservación de los antioxidantes, sino en su mecanismo de acción, aún ante el uso de altas temperaturas (Flood et al., 2004). Respecto a la pulpa, las muestras P+MD tuvieron en promedio un poco más de la mitad de la capacidad antioxidante que la pulpa deshidratada ( $P= 8007,48 \pm 304,00 \mu\text{molET}/100\text{g}$ ;  $P+MD= 4691,47 \pm 1735,08 \mu\text{molET}/100\text{g}$ ).

El efecto de la adición de la maltodextrina, como polímero de alto peso molecular sobre la capacidad antioxidante del ingrediente natural producido a diferentes temperaturas, es el de protección de los compuestos fenólicos presentes que marcan actividad antioxidante por los métodos químicos seleccionados. Vale la pena recalcar que esas propiedades de potencial antioxidante, no sólo las están generando los compuestos tipo fenoles, ya que existen reportes de algunos carotenoides presentes en el asai (Pacheco-Palencia et al., 2010:  $76.1 \pm 6 \%$  inhibición de oxidación) e incluso de algunas clorofilas. Ahora bien, debe tenerse en cuenta que esos compuestos de la reacción de Maillard, que parecían estar presentes en la cuantificación de los fenoles totales de la pulpa, no son captados por el reactivo DPPH (son polifenoles que se encuentran polimerizados), es decir que no marcan actividad antioxidante con el método seleccionado para el estudio. Esto hecho, sumado a la degradación general de los compuestos fenólicos ante el calor, explica porque en la Figura 3.4 hay un descenso en la cuantificación del potencial antioxidante de la pulpa de asai deshidratada en la experimentación.

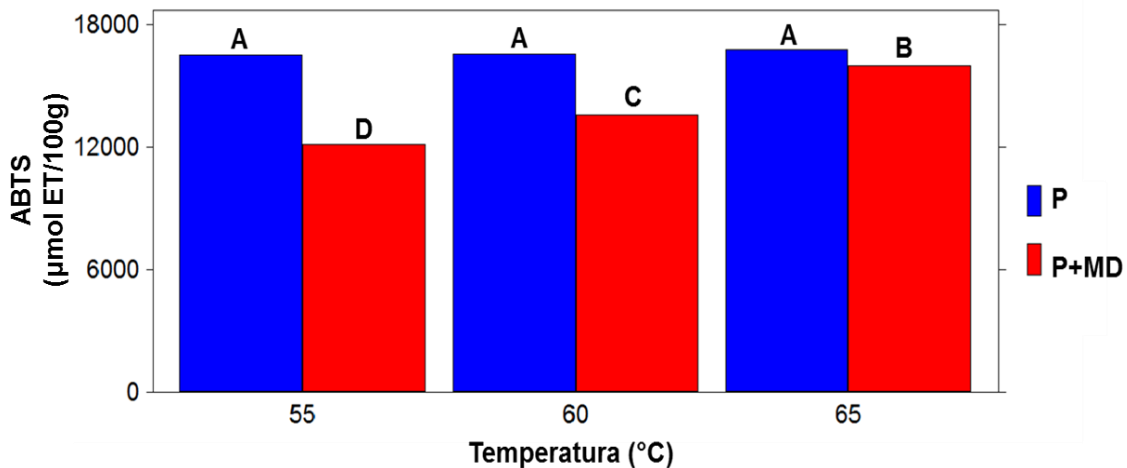
**Figura 3-4:** Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Deshidratado x Temperatura para la capacidad antioxidante medida por el método DPPH



Nota: Columnas identificadas con letras diferentes, son estadísticamente diferentes entre sí.

Tal como se observa en la **Figura 3-5**, el ensayo ABTS contrasta en parte con lo evidenciado por el método DPPH, ya que considerando los hallazgos del test de Tukey, no existen diferencias estadísticas entre la capacidad antioxidante de las muestras de pulpa deshidratadas a 55°C, 60°C y 65°C. Sin embargo, el método ABTS indica un aumento en la capacidad antioxidante para el caso de los polvos formulados con maltodextrina, indicando que hay diferencias estadísticamente detectables por el test de Tukey, en razón a la temperatura de secado. Así pues, se destaca que P+MD65 presenta la capacidad antioxidante más alta, siendo muy similar a la obtenida por la pulpa deshidratada ( $P = 16619,22 \pm 127,91 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$  vs.  $P+MD65 = 15976,58 \pm 15,86 \mu\text{mol ET}/100\text{g}$ ), lo cual puede estar relacionado con que esta última estuvo expuesta a un nivel de degradación por calor tan alto, que pudo reducir su contenido de antioxidantes hasta un punto muy cercano al factor de dilución presentado en la formulación de los polvos con maltodextrina, lo cual fue plenamente captado por el método ABTS.

**Figura 3-5:** Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Deshidratado x Temperatura para la capacidad antioxidante medida por el método ABTS



Nota: Columnas identificadas con letras diferentes, son estadísticamente diferentes entre sí.

Al considerar la capacidad antioxidante evaluada por los métodos DPPH y ABTS en la pulpa de asai deshidratada, es importante resaltar que este atributo se iguala o es ligeramente superado por esta última en relación a los datos para la pulpa liofilizada reportados por Castillo et al., 2013, indicando que el tipo de secado utilizado en el presente estudio, presenta también algunas ventajas. Para los deshidratados con inclusión de maltodextrina, se observó que la capacidad antioxidante se conservaba en más de la mitad según el valor de partida de la pulpa por DPPH (pulpa liofilizada=  $7782,0 \pm 430,43 \mu\text{mol TE}/100\text{g}$  muestra seca) y en porcentajes entre el 74 y el 98% por el método ABTS (pulpa liofilizada=  $16236 \pm 110.37 \mu\text{mol TE}/100\text{g}$  muestra seca), siendo en este caso mayor para la muestra P+MD65.

Kang et al., 2012 reportó para la pulpa seca de *Euterpe precatoria* niveles de fenoles totales más bajos que los evidenciados en este estudio ( $73.0 \pm 4.8$  mg Ácido Gálico/g de muestra) y una capacidad antioxidante más alta por el método DPPH, que la obtenida con la pulpa a las tres temperaturas exploradas ( $320.3 \pm 23.8$   $\mu\text{moles Trolox}/\text{g}$  muestra). Rojano et al., 2011 estudió *Euterpe oleracea* y reporta para la pulpa liofilizada una capacidad antioxidante de  $12420$   $\mu\text{moles Trolox}/100\text{g}$  por DPPH y de  $40330$   $\mu\text{moles Trolox}/100\text{g}$  por ABTS.

### 3.4 Conclusiones

La formulación y producción de un ingrediente natural deshidratado partir de pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart), implica un control detallado de todas las variables que influyen en las operaciones unitarias de secado por convección forzada de aire y molienda, especialmente la temperatura, la humedad y el tamaño de partícula. Se demostró que la incorporación de un polisacárido de alto peso molecular, como la maltodextrina, otorga protección a las sustancias antioxidantes presentes. En este sentido, la mezcla de pulpa de asai con maltodextrina, deshidratada a 65°C, obtuvo la menor humedad en equilibrio (4,64%) y la mayor capacidad antioxidante por el método ABTS (15976,58  $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$ ) en un tiempo más corto, siguiendo la tendencia del modelo matemático propuesto como predictor para llevar el proceso de secado a mayor escala. Los hallazgos anteriores confirman la promisorio actividad antioxidante del fruto amazónico asai, como parte de la formulación de alimentos funcionales.

### Bibliografía

- American Society of Agricultural Engineers (ASAE). Standards engineering practices data. St. Joseph, Michigan.1994: 467- 469.
- Castillo Y, Lares M, Gutierrez R, Hernandez M, Fernandez-Trujillo J. asai palm fruit bioactive compounds and impacts on health being. Proceedings of the F. Bioact. Process. Qual. & Nutr. Sciforum Electronic Conference Series. 2013; (1).
- Chin YW, Chai HB, Keller WJ, Kinghorn AD. Lignans and other constituents of the fruits of *Euterpe oleracea* (acai) with antioxidant and cytoprotective activities. J. Agric. Food. Chem. 2008; 56: 7759–7764.
- Contreras Monzón C. Influencia del método de secado en parámetros de calidad relacionados con la estructura y el color de manzana y fresa deshidratadas. Universidad Politécnica De Valencia. Departamento de Tecnología de Alimentos. Valencia. España 2006.
- De Oliveira PRB, Da Costa CA, De Bem GF, Marins de Cavalho LCR, De Souza MAV, De Lemos Neto M, Da Cunha Sousa PJ, De Moura RS, Resende AC. Effects of an extract obtained from fruits of *Euterpe oleracea* Mart. In the components of metabolic syndrome induced in c57bl/6j mice fed a high-fat diet. J. Cardiovasc. Pharmacol. 2010; 56: 619-626.

- Del Pozo-Insfran D, Percival SS, Talcott ST. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(4):1222–1229.
- Del Pozo-Insfran, D, Brenes, C.H, Talcott, ST. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *J Agric Food Chem.* 2004; 52: 1539-1545.
- Devalaraja S, Jain S, Yadav H. Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. *Food Res Int.* 2011, 44, 1856-1865.
- Fabra M, Márquez E. Effect of maltodextrins in the water-content-water activity-glass transition relationships of noni (*Morinda citrifolia* L.) pulp powder. *J. Food Eng.* 2011; 103: 47-51.
- Flood M, Auerbach M. A review of the clinical toleration studies of polydextrose in food. *Food Chem. Toxicol.* 2004; 42:1531-1542.
- Gordon A, Cruz APG, Cabral LMC, de Freitas SC, Taxi CMAD, Donangel, CM, De Andrade Mattietto R, Friedrich M, Da Matta VM, Marx F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of açai fruits (*Euterpe oleraceae* mart.) during ripening. *Food Chem.*2012; 133: 256-263.
- Hammami, C., & René, F. (1997). Determination of freeze-drying process variables for strawberries. *Journal of Food Engineering*, 32(2), 133e154.
- Hogan et al., 2010 Hogan S, Chung H, Zhang L, Li J, Lee Y, Dai Y, et al. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. *Food Chem.* 2010; 118(2):208-14.
- Instituto amazónico de investigaciones científicas (Sinchi). Proyecto de investigación, innovación y alternativas tecnológicas de aprovechamiento sostenible de los recursos naturales renovables y el medio ambiente amazónico. Informes de caracterización de especies. Línea de Sostenibilidad e Intervención. Producto No. 3. Orden de servicio N°. 92 de 2012.
- Jensen GS, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, et al. In vitro and in vivo Antioxidant and Anti-inflammatory Capacities of an Antioxidant-Rich Fruit and Berry Juice Blend. Results of a Pilot and Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Crossover Study. *J Agric Food Chem.* 2008; 56(18):8326-33.
- Kang J, Li Z, Wu T, Jensen GS, Schauss AG, Wu X. Antioxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chem.* 2010; 122(3):610-7.
- Kang J, Thakali KM, Xie C, Kondo M, Tong Y, Ou B, Jensen G, Medina MB, Schauss AG, Wu X. Bioactivities of Açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. *Food Chem.*2012; 133:671–677.

- Kang J, Xie C, Li Z, Nagarajan S, Schauss AG, Wu T, Wu X. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Chem.* 2011; 128: 152-157.
- Kang J, Thakali KM, Xie C, Kondo M, Tong Y, Ou B, Jensen G, Medina MB, Schauss AG, Wu X. Bioactivities of Açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. *Food Chem.* 2012; 133:671–677.
- Khalloufi, S., & Ratti, C. (2003). Quality deterioration of freeze-dried foods as explained by their glass transition temperature and internal structure. *Journal of Food Science*, 68(3), 892e903.
- Kinghorn AD, Chai HB, Sung CK, Keller WJ. The classical drug discovery approach to defining bioactive constituents of botanicals. *Fitoterapia.* 2011; 82:71-79.
- Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2005; 25: 726-732.
- Lai, L. S., S.T. Chou, W.W. Chao. 2 Studies on the antioxidant activities of Hsian-Tsao (*Mesona procumbens* Hemsl). *J. Agric. Food Chem.* 2001; 49(1): 963-968.
- Lee R, Balick MJ. Palms, people, and health. *Explore.* 2008; 4(1):59–62.
- Lewicki P. Design of hot air drying for better foods. *Trends Food Sci Tech.* 2006;17:153–163
- Lichtenthaler R, Belandrino R, Maia J, Papaianopoulos M, Fabricius H, Marx,F. Total antioxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart (Asai). *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2005; 56(1):68–75.
- Márquez C, Ciro H. Deshidratación de mora de castilla (*Rubus glaucus*) bajo régimen convectivo con aire forzado. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín.* 2002; 55(2): 1587-1600.
- Márquez C, Peláes M, Cortes M. Deshidratación de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) por convección forzada para elaboración de bebidas aromáticas. *Revista CES / Medicina Veterinaria y Zootecnia.* 2009; 4(2):100-117.
- Matheus ME, Fernandes SBdO, Silveira CS, Rodrigues VP, Menezes FS, Fernandes PD. Inhibitory effects of *Euterpe oleracea* Mart. On nitric oxide production and inos expression. *J Ethnopharmacol.* 2006; 107: 291-296.
- Mertens-Talcott et al., 2008 Matheus ME, Fernandes SBdO, Silveira CS, Rodrigues VP, Menezes FS, Fernandes PD. Inhibitory effects of *Euterpe oleracea* Mart. On nitric oxide production and inos expression. *J Ethnopharmacol.* 2006; 107: 291-296.
- Mertens-Talcott S, Rios J, Jilma-Stohlawetz P, Pacheco-Palencia LA, Meibohm B, Talcott ST, Derendorf H. Pharmacokinetics of Anthocyanins and Antioxidant Effects after the

Consumption of Anthocyanin-Rich Acai Juice and Pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in Human Healthy Volunteers. 2008; 56:7796–7802.

Muñoz D, Cabrera G. El secado directo e indirecto de piña. Revista Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2006; 4 (1).

Nindo, C. I., & Tang, J. Refractance window dehydration technology: a novel contact drying method. Drying Technology. 2007; 25(1):37-48.

Noratto GD, Angel-Morales G, Talcott ST, Mertens-Talcott SU. Polyphenolics from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and red muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) protect human umbilical vascular endothelial cells (HUVEC) from glucose- and lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and target microRNA-126. J. Agric. Food. Chem. 2011; 59: 7999–8012.

Oliveira de Souza M, Silva M, Silva ME, De Paula Oliveira R, Pedrosa ML. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. Nutrition. 2010; 26: 804-810.

Ortiz A, Sulamita B. Secado con bomba de calor para la deshidratación de frutos. Tesis Ingeniería Química con área en Ingeniería de Procesos. Universidad de las Américas. Puebla. 2003.

Pacheco-Palencia LA, Duncan CE, Talcott ST. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial acai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. Food Chem. 2009; 115(4):1199-205.

Pacheco-Palencia LA, Hawken P, Talcott ST. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. Food Res Int. 2007; 40(5):620-8.

Pacheco-Palencia LA, Mertens-Talcott S, Talcott ST. In vitro absorption and antiproliferative activities of monomeric and polymeric anthocyanin fractions from açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.). Food Chem. 2010; 119:1071-1078.

Pacheco-Palencia LA, Talcott ST, Safe S, Mertens-Talcott S. Absorption and biological activity of phytochemical-rich extracts from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and oil in vitro. J. Agric. Food. Chem. 2008; 56: 3593-3600.

Pacheco-Palencia LA, Talcott ST. Chemical stability of açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems. Food Chem. 2010; 118: 17-25.

Pavan M, Schmidt S, Feng H. Water sorption behavior and thermal analysis of freeze-dried, Refractance Window-dried and hot-air dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. Food Sci. Technol. 2012; 48:75-81.

Peña LF, Barrera JA, Hernández MS. Obtención de la pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart) en la amazonía norte colombiana. Vitae. 2012; 19: 309-311.

- Pessoa JDC, Arduin M, Martins MA, Carvalho JEU. Characterization of açai (E. Oleracea) fruits and its processing residues. Braz Arch Biol Techn. 2010; 53: 1451-1460.
- Pineda-Castro M L, Chacón. Villalobos A, Cordero. Gamboa G. Efecto de las condiciones de secado sobre la cinética de deshidratación de las hojas de morera (*Morus alba*). Agronomía Mesoamericana. 2009; 20(2):275-283
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. Journal of Food Engineering, 49(4), 311e319
- Ribeiro JC, Greggi-Antunes LM, Ferro-Aissa A, Castania-Darin JD, Vera De Rosso V, Zerlotti- Mercadante A, Pires-Bianchi MDL. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects after acute and subacute treatments with acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) on mice using the erythrocytes micronucleus test and the comet assay. Mutat Res. 2010; 695:22–28.
- Rocha APM, Carvalho LCRM, Sousa MAV, Madeira SVF, Sousa PJC, Tano T, Schini-Kerth VB, Resende AC, Soares de Moura R. Endothelium-dependent vasodilator effect of *Euterpe oleracea* Mart. (açai) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. Vasc Pharmacol. 2007; 46: 97-104.
- Rogez H, Pompeu DR, Akwie SNT, Larondelle Y. Sigmoidal kinetics of anthocyanin accumulation during fruit ripening: A comparison between açai fruits (*Euterpe oleracea*) and other anthocyanin-rich fruits. J Food Compos Anal. 2011;24:796-800.
- Rogez H. asai: prepare, composicao, emelhoramento da conservacao, 1st ed. Edufpa, Belem Brazil. 2000.
- Rojano BA, Vahos ICZ, Arbeláez AFA, Martínez AJM, Correa FBC, Carvajal LG. Polifenoles y actividad antioxidante del fruto liofilizado de palma naidi (Açai colombiano) (*Euterpe oleracea* Mart). Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín. 2011; 64: 6213-6220.
- Rufino MDSM, Alves RE, De Brito ES, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F, Mancini-Filho J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from brazil. Food Chem. 2010; 121: 996-1002.
- Rufino MdSM, Pérez-Jiménez J, Arranz S, Alves RE, de Brito ES, Oliveira MSP, Saura-Calixto F. Açai (*Euterpe oleraceae*) 'brs pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. Food Res Int. 2011; 44: 2100-2106.
- Ruse K, Rakcejeva T, Galoburda R, Dukalska L. Anthocyanin content in latvian cranberries dried in convective and microwave vacuum driers. Food Sciences. 2011; 1(1): 100-106
- Sabbe S, Verbeke W, Deliza R, Matta V, Van Damme P. Effect of a health claim and personal characteristics on consumer acceptance of fruit juices with different concentrations of asai (*Euterpe oleracea* Mart.). Appetite. 2009; 53:84–92.

- Sanabria N, Sangronis E. Caracterización del asai o manaca (*Euterpe oleracea* Mart.): un fruto del Amazonas. Arch Latinoam Nutr. 2007; 57:94–99.
- Schauss (a) AG, Wu RL, Ou B, Patel D, Huang D, Kababick JP. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry *Euterpe oleracea* Mart (Asai). J. Agric. Food Chem. 2006; 54(22):8598–8603.
- Schauss (b) AG, Wu X, Prior RL., Ou B, Huang D, Owens J, Agarwal A, Jensen GS, Hart AN, Shanbrom E. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. J. Agric. Food Chem. 2006; 54(22): 8604–8610.
- Spada PDS, Dani C, Bortolini GV, Funchal C, Henriques JAP, Salvador M. Frozen fruit pulp of *Euterpe oleraceae* Mart. (Acai) prevents hydrogen peroxide-induced damage in the cerebral cortex, cerebellum, and hippocampus of rats. J Med Food. 2009; 12: 1084-1088.
- Stoner GD, Wang LS, Seguin C, Rocha C, Stoner K, Chiu S, Kinghorn AD. Multiple berry types prevent n-nitrosomethylbenzylamine-induced esophageal cancer in rats. Pharmaceutical Research. 2010; 27:1138–1145.
- Stoner GD, Wang LS, Zikri N, Chen T, Hecht SS, Huang C, Sardo C, Lechner JF. Cancer prevention with freeze-dried berries and berry components. Sem Cancer Biol. 2007; 17: 403-410.
- Sun X, Seeberger J, Alberico T, Wanga C, Wheeler CT, Schauss AG, Zou S. Açai palm fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves survival of flies on a high fat diet. Exp Gerontol. 2010; 45: 243–251.
- Tonon R, Baroni A, Brabet C, Gibert O, Pallet D, Hubinger M. Water sorption and glass transition temperature of spray dried acai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. J. Food Eng. 2009; 94: 215–221.
- Tonon, R. V., Baroni, A. F., Brabet, C., Gibert, O., Pallet, D., & Hubinger, M. D. (2009). Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. J. Food Eng. 94(3-4), 215-221.
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. Food Research International, 43(3), 907-914.
- Udani JK, Singh BB, Singh VJ, Barrett ML. Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. Nutrition Journal 2011; 10(45):1-7.
- Velarde MJ, Moraes M. Densidad de individuos adultos y producción de frutos del asai (*Euterpe precatoria*, Arecaceae) en Riberalta, Bolivia. Ecología en Bolivia. 2008; 43: 9-110.

- Vera de Rosso V, Hillebrand S, Cuevas-Montilla E, Bobbio FO, Winterhalter P, Mercadante AZ. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC–PDA–MS/MS. *J Food Compos Anal.* 2008; 21: 291-299.
- Xie C, Kang J, Burris R, Ferguson ME, Schauss AG, Nagarajan S, Wu X. Açai juice attenuates atherosclerosis in apo E deficient mice through antioxidant and anti-inflammatory activities. *Atherosclerosis.* 2011; 216: 327-333.
- Wilska-Jeszka J. (2007) Food colorants. In Z.E. Sikorski (ed.), *Chemical and functional properties of food components* Boca Ration: CRC Press. pp. 245-274.

## 4. Formulación y evaluación de una bebida en polvo con propiedades antioxidantes a partir del fruto de asai (*Euterpe precatoria* Mart)

### Resumen

El asai es una palma nativa de la región tropical de América del Sur, cuyo fruto ha atraído recientemente la atención de la comunidad científica debido a su extraordinario contenido de antioxidantes y los consiguientes efectos benéficos sobre la salud humana. El objetivo de esta investigación fue desarrollar una bebida en polvo a partir de la pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart.) nativa de la Amazonia colombiana y evaluar sus propiedades antioxidantes, fisicoquímicas y sensoriales. Se realizó una mezcla de pulpa y maltodextrina, se deshidrató en un horno de convección forzada a 65 ° C y el polvo se sometió a análisis por tamizado. La formulación de las bebidas se realizó al 10, 12 y 15% de este ingrediente natural, junto con 0, 2 y 3 % de sacarosa para cada tratamiento, para un total de 9 combinaciones. Las bebidas se caracterizaron en cuanto a su contenido y capacidad antioxidante, así como en la determinación de pH y los sólidos solubles. El análisis sensorial se realizó con 60 consumidores. Las bebidas formuladas con el ingrediente natural al 15 % mostraron el contenido y actividad antioxidante más alta, así como los valores más altos en los parámetros físico-químicos evaluados, sin embargo, la mayor aceptación de bebidas por el consumidor estuvo dada por la bebida con un 12% del polvo y un 3% de sacarosa (Fenoles totales= 1,10 mg EAG/g y Capacidad Antioxidante: ABTS: 924,07  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$  y DPPH: 834,59  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ ). La obtención de un ingrediente natural en polvo a partir de la pulpa de asai pone de relieve la importancia de diseñar y desarrollar nuevos productos con características fitoquímicas funcionales.

**Palabras clave:** asai, *Euterpe precatoria*, frutas amazónicas, bebidas, alimentos funcionales, salud, análisis sensorial.

## Summary

The Asai is a palm native to the tropical region of South America, whose fruit has recently attracted the attention of the scientific community due to its extraordinary antioxidant content and consequent beneficial effects on human health. The objective of this research was to develop a powdered drink from asai pulp (*Euterpe precatoria* Mart.) Native to the Colombian Amazon and assess their antioxidant, physicochemical and sensory properties. A mixture of pulp and maltodextrin was performed, dehydrated on a forced air oven at 65 ° C and the powder was subjected to sieve analysis. The beverage formulation was performed at 10, 12 and 15% of the natural ingredient, together with 0, 2 and 3% sucrose for each treatment, a total of 9 combinations. Drinks were characterized in terms of content and antioxidant capacity as well as the determination of pH and the soluble solids. Sensory analysis was conducted with 60 consumers. Drinks made with natural ingredients 15% showed the content and higher antioxidant activity and the highest values in the physicochemical parameters evaluated, however, the increased acceptance of drinks for the consumer was given by the drink 12% of dust and 3% sucrose (Total Phenols = 1.10 mg EAG / g; Antioxidant Capacity: ABTS: 924.07  $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$  and DPPH: 834.59  $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$ ). Obtaining a natural ingredient powder from pulp asai highlights the importance of designing and developing new products with functional phytochemical characteristics.

**Key Words:** asai, *Euterpe precatoria*, amazonian fruits, beverages, functional foods, health, sensory analysis.

## 4.1 Introducción

El asai es un árbol de hoja perenne tipo de palma que se encuentra principalmente en las llanuras de los ríos en la región amazónica (Sabbe et al., 2009; Lee et al., 2008; Velarde et al., 2008; Rogez, 2000; Pessoa et al., 2010). Los frutos de asai, conocidos por el mismo nombre son de forma oval y forman racimos de color verde hasta una coloración púrpura cuando se da plena maduración. Hay dos especies, *Euterpe oleracea* Mart y *Euterpe precatoria* Mart, la primera de gran importancia económica y ampliamente caracterizada, mientras que la segunda es poco conocida y sólo recientemente se ha identificado como una especie promisorio debido a que es fuente de antioxidantes tipo

antocianinas, ácidos grasos poliinsaturados y fibra, sustancias con múltiples efectos beneficiosos para la salud (Castillo et al., 2012; Castillo et al., 2013 (a); Castillo et al., 2013 (b); Kang et al., 2012). En Colombia, la palma de asai (*Euterpe precatoria* Mart) se encuentra principalmente en la región selvática del Amazonas y Guaviare. Su explotación y diversificación en productos alimenticios están comenzando a ser exploradas, siendo hasta el momento un recurso natural muy valorado por las comunidades indígenas que la consumen (Sinchi, 2012).

En este sentido, y teniendo en cuenta que en la actualidad la formulación de bebidas no carbonatadas, la fabricación de cueros y otras aplicaciones tecnológicas, podrían transformarse en una alternativa comercial para el aprovechamiento de las cualidades nutricionales de las frutas tropicales, el objetivo de este estudio fue desarrollar una bebida en polvo a partir de pulpa asai (*Euterpe precatoria* Mart.) nativa de la Amazonia colombiana y evaluar sus propiedades antioxidantes, propiedades fisicoquímicas y sensoriales.

## **4.2 Materiales y Métodos**

### **4.2.1 Obtención del ingrediente natural**

El origen del material vegetal fue San José del Guaviare, una ciudad situada en la región amazónica colombiana. El producto se basó en la pulpa de asai estandarizada de acuerdo a investigaciones previas del grupo de investigación colombiano “Frutales promisorios de la Amazonía” (Peña et al., 2012). El proceso de obtención del asai fue controlado desde la cosecha, la recepción, limpieza y desinfección del fruto, el despulpado y la refinación, hasta el envase y almacenamiento, el cual se produce bajo condiciones de congelación.

El desarrollo del ingrediente natural usado como base para la formulación de las bebidas se hizo mezclando pulpa de asai con un 33% de maltodextrina. La maltodextrina que se usó fue grado alimenticio y su dextrosa equivalente (DE) fue de 20, que se relaciona con que cada molécula de maltodextrina se formó a partir de una hidrólisis parcial de una molécula de almidón y que está compuesta por aproximadamente 20 unidades de D-

glucosa, unidas mediante enlaces  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4). El material se sometió a secado en horno de convección forzada a 65 °C durante 3.5 horas (Castillo et al., 2013 (b); Pavan et al., 2012; Márquez et al., 2009; Márquez et al., 2002). La mezcla se dispuso en bandejas de aluminio termoformado a un grosor de capa previamente estandarizado. Después del secado, la mezcla se recogió y se procesó en un molino de café por un tiempo de 10 minutos a velocidad media. Se realizó tamizado del polvo obtenido hasta unificar el tamaño de partícula a la finura del tamiz estándar 100 (ASAE, 1994).

#### **4.2.2 Análisis bromatológico y nutricional del deshidratado de asai**

Antes de la formulación de la bebida se hizo el análisis proximal del ingrediente natural. Así pues, la determinación de humedad se realizó según el método AOAC 920.151, cenizas según la AOAC 940.26, extracto etéreo por el método Soxhlet, proteína según la AOAC 920.152 y fibra cruda según la AOAC 985.29. El contenido de carbohidratos se calculó por diferencia. El número de réplicas fue n=5 (AOAC, 2000).

Además de las anteriores evaluaciones, se determinó en el deshidratado el contenido de fibra dietaria y sus fracciones, junto con los aportes de micronutrientes que ya habían sido reportados en la pulpa de asai especie *precatoria*. El análisis de fibra se hizo por el método oficial enzimático-gravimétrico, según la AOAC 985.29. Para la determinación de la fracción insoluble se usó un buffer de fosfato durante la técnica enzimática-gravimétrica de acuerdo a lo estipulado en la AOAC 991.42 y el aporte de fibra dietaria soluble, se halló por diferencia entre la fibra dietaria total y fibra dietaria insoluble. El número de réplicas fue n=5.

#### **4.2.3 Formulación de la bebida**

Para la formulación de la bebida por reconstitución del ingrediente natural, se eligieron tres porcentajes: 10 %, 12% y 15 %. Estos porcentajes fueron escogidos con el fin de cumplir con la norma técnica colombiana respecto bebidas en polvo (NTC 5727) y según experiencias con paneles sensoriales previos. Para cada nivel, se evaluaron dos porcentajes de inclusión de azúcar: 2% y 3%; además, se evaluaron muestras sin azúcar para cada formulación. Se usó azúcar sin refinar para la presente experimentación.

Así, hubo un total de nueve combinaciones para el diseño experimental, las cuales se codificaron como se muestra en la Tabla 4-1. El objetivo de cada reconstitución de polvo fue obtener doscientos cincuenta mililitros de la bebida, el equivalente a una porción comúnmente consumida.

**Tabla 4-1:** Identificación de las formulaciones a evaluar para el desarrollo de la bebida a base de asai *Euterpe precatoria*.

Identificación – Abreviatura	Características
B10-0	10% del ingrediente natural y 0% de azúcar
B10-2	10% del ingrediente natural y 2% de azúcar
B10-3	10% del ingrediente natural y 3% de azúcar
B12-0	12% del ingrediente natural y 0% de azúcar
B12-2	12% del ingrediente natural y 2% de azúcar
B12-3	12% del ingrediente natural y 3% de azúcar
B15-0	15% del ingrediente natural y 0% de azúcar
B15-2	15% del ingrediente natural y 2% de azúcar
B15-3	15% del ingrediente natural y 3% de azúcar

#### 4.2.4 Análisis Antioxidante

Se prepararon los extractos según la metodología de Rojano et al., 2011 partiendo de las bebidas ya reconstituidas. La prueba de fenoles totales se hizo por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Kuskoski et al., 2005). Los resultados se expresan como equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mg EAG/g de muestra) utilizando una curva estándar de ácido gálico (AG) (0.05-1.5 mg/mL).

Se determinó la capacidad antioxidante a través de dos métodos químicos por técnica espectrofotométrica: DPPH según la metodología descrita por Lai et. al., 2001 y ABTS de acuerdo a lo realizado por Won Lee et al., 2003. Los resultados son expresados como  $\mu\text{mol}$  de equivalentes Trolox (TE)/100 g de muestra. Todas las pruebas antioxidantes se hicieron por triplicado para cada una de las 9 muestras.

#### 4.2.5 Análisis Físicoquímico

La determinación del pH se realizó según el método oficial AOAC 981.12 mediante la técnica de inmersión del electrodo, usando un potenciómetro calibrado (pH-metro) con

buffer 7 y 4 (Seyhan et al., 2004). Para el análisis de sólidos solubles o grados Brix, se usó el método oficial AOAC 932.12, basándose en el índice de refracción (Andrade-Pizarro et al., 2007). El número de réplicas fue de 3.

#### **4.2.6 Análisis Sensorial**

Se realizó una prueba afectiva, con el objetivo de conocer si el producto era atractivo y satisfacía las expectativas de los consumidores. Se planteó evaluar tres de las nueve bebidas formuladas, bajo el criterio de ofrecer aquellas combinaciones donde se tuviera un mayor contenido de fenoles totales, así como una respuesta más significativa desde el punto de vista de la capacidad antioxidante.

Se contó con la participación de un grupo de 60 adultos sanos entre los 18 y 60 años, panelistas no entrenados tipo consumidores (Lawless & Heymann et al., 2010). La prueba de aceptabilidad fue cerrada y se aplicó de forma individual en forma de una escala hedónica de cinco puntos 1: Me gusta extremadamente, 2: Me gusta, 3: No me gusta ni disgusta, 4: No me gusta, 5: No me gusta extremadamente. Los atributos valorados fueron: sabor, olor, color y solubilidad.

#### **4.2.7 Diseño Experimental y Análisis Estadístico**

Para el manejo estadístico de los datos referentes a la composición nutricional del ingrediente natural de la bebida, se hizo un análisis con estadística descriptiva básica. Se presenta promedio, desviación estándar, límite superior e inferior con un intervalo de confianza del 95% y error estándar del promedio.

Para la caracterización antioxidante y fisicoquímica de las bebidas formuladas, se usó un diseño experimental completamente al azar en un arreglo factorial de 3x3 donde el primer factor correspondió a los tres niveles de polvo, y el segundo factor correspondió a los tres niveles de azúcar. Se hizo un análisis de varianza asociado con este diseño y su arreglo factorial.

Para el análisis sensorial, el diseño experimental correspondió a un diseño completamente al azar con tres tratamientos y 60 réplicas. Con los datos de los

consumidores, se realizó el test de Shapiro Will para comprobar la normalidad o no de los mismos y decidir si aplicar una prueba paramétrica o no paramétrica en pro de establecer si existían o no diferencias estadísticamente significativas entre las bebidas formuladas para los atributos sensoriales evaluados.

## 4.3 Resultados y Discusión

### 4.3.1 Composición nutricional del ingrediente natural

Antes de proceder a la formulación de la bebida funcional de asai, se realizó el análisis de los componentes nutricionales presentes en el ingrediente natural que se desarrolló. Al comparar los resultados del análisis bromatológico de dicho material (**Tabla 4.2**) con los de la pulpa de asai liofilizada (Castillo et al, 2013 (c)), puede verse que el contenido de humedad es más alto en el deshidratado preparado con maltodextrina ( $4,6\pm 0,3\%$ ), obtenido mediante secado por convección, que en la pulpa ( $2,6\pm 0,1$ ). En este mismo sentido, es relevante mencionar que el ingrediente de asai, base de la bebida funcional sin reconstituir, no supera la humedad estipulada por la NTC 5727 (mezclas en polvo) que habla de un 5% como valor máximo.

Así mismo, hay que poner de manifiesto que en razón a la adición de maltodextrina y al porcentaje de pulpa incluido en el polvo de asai, es posible apreciar una reducción importante de los macronutrientes y demás componentes descritos en el análisis proximal de éste (**Tabla 4.2**), en comparación con la pulpa del fruto liofilizada (Castillo et al, 2013 (c)). Conviene añadir igualmente, que el nutriente que más prima en la composición del ingrediente natural, son los carbohidratos y no las grasas como sucedía en la materia vegetal original. Ahora bien, debido a las características químicas y estructurales de la maltodextrina, estos carbohidratos pueden considerarse como moléculas intermedias entre los azúcares y los almidones, siendo aún consideradas de baja carga glicémica cuando son ingeridas (Foster et al., 2002; Arteaga-Llona, 2006; Fernández et al., 2008; Torres et al., 2006). Entonces, todos los componentes del análisis proximal, con excepción de los carbohidratos, sufren reducciones proporcionales a la cantidad de pulpa fresca usada en la fabricación del ingrediente natural, lo cual demuestra la influencia del efecto de dilución esperado.

Es oportuno advertir, que aunque no se determinó el perfil graso del ingrediente natural, fue posible calcular indirectamente el aporte de los ácidos grasos predominantes en los triglicéridos propios del aceite del asai, partiendo del 1,5% de grasa hallado en el deshidratado obtenido. Los resultados más interesantes hablan de 1,05 g de ácido oléico, 0,3 g de ácido palmítico, 0,1 g de ácido esteárico, 0,1 g de ácido linoléico y 0,01 g de ácido linolénico, por cada 100g del ingrediente natural.

**Tabla 4-2:** Composición proximal del deshidratado elaborado con pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart.) y maltodextrina a 65°C

Componente	g/100g		IC 95%*	
	Promedio	DE**	LI***	LS****
Cenizas <sup>1</sup>	0,01	0,001	0,01	0,02
Grasa <sup>1</sup>	1,5	0,3	1,2	1,9
Proteína <sup>1</sup>	0,1	0,02	0,1	0,2
Fibra Cruda <sup>1</sup>	0,4	0,1	0,6	0,2
Carbohidratos <sup>1</sup>	97,9	1,3	98,0	97,8

\*\* Desviación Estándar; \*\*\* Límite Inferior; \*\*\*\* Límite Superior

<sup>1</sup>Cálculo en base seca

En la **Tabla 4.3**, se muestra el aporte de fibra dietaria del ingrediente natural de asai. En general, puede afirmarse que el aporte del deshidratado no es alto y que se destaca el predominio de la fracción insoluble, que igualmente fue descrita como mayoritaria en la pulpa de asai liofilizada (Castillo et al, 2013 (c); Kang et al., 2012; Rufino et al., 2011). Así, puede afirmarse que dentro de la fracción de carbohidratos del ingrediente natural desarrollado, predomina el aporte de la fracción de maltodextrina.

**Tabla 4-3:** Contenido de fibra dietaria del deshidratado elaborado con pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart.)y maltodextrina a 65°C

Componente	g/100g		IC 95%*	
	Promedio	DE**	LI***	LS****
Fibra dietaria total <sup>1</sup>	1,19	±0,81	1,18	1,20
Fibra dietaria Insoluble <sup>1</sup>	1,12	±0,72	1,10	1,14
Fibra dietaria soluble <sup>1</sup>	0,07	±0,03	0,05	0,09

\*\* Desviación Estándar; \*\*\* Límite Inferior; \*\*\*\* Límite Superior

<sup>1</sup>Dato calculado en base seca de materia liofilizada

### 4.3.2 Análisis Antioxidante de las bebidas formuladas

En la **Tabla 4.4** se presenta el análisis de varianza para las características antioxidantes de las nueve bebidas que se diseñaron con el deshidratado de asai. Como resultado principal, se destaca que la interacción Ingrediente natural  $\times$  Nivel de Azúcar, fue altamente significativa desde el punto de vista estadístico ( $p < 0,05$ ). La anterior aseveración se traduce en que el contenido y capacidad antioxidante de los productos, tuvieron respuestas diferentes dependiendo de la adición o no de azúcar y según el porcentaje de inclusión de la misma.

**Tabla 4-4:** Análisis de varianza para las características antioxidantes de las bebidas formuladas con base en el ingrediente natural con asai (*Euterpe precatoria* Mart.)

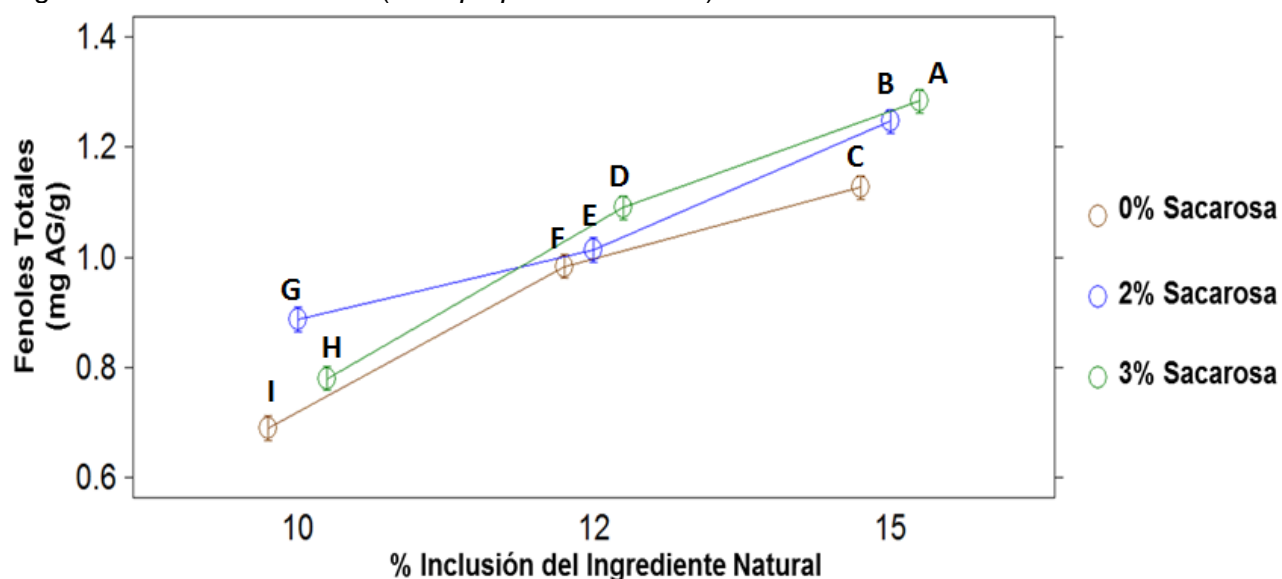
Ensayo	Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrática	$F_c$	$p^*$
Fenoles Totales	Ingrediente natural	0.84927	2	0.42463	5459.57	0,0000
	Nivel de Azúcar	0.08169	2	0.04084	525.14	0,0000
	Ingrediente natural * Nivel de Azúcar	0.03491	4	0.00873	112.21	0,0000
	ERROR	0.00140	18	0.00008		
	TOTAL	0.96727	26			
DPPH	Ingrediente natural	1354803	2	677402	109116	0,0000
	Nivel de Azúcar	65098	2	32549	5243.03	0,0000
	Ingrediente natural * Nivel de Azúcar	163895	4	40974	6600.06	0,0000
	ERROR	112	18	6		
	TOTAL	1583909	26			
ABTS	Ingrediente natural	606318	2	303159	31820.2	0,0000
	Nivel de Azúcar	158250	2	79125	8305.10	0,0000
	Ingrediente natural * Nivel de Azúcar	173931	4	43483	4564.04	0,0000
	ERROR	171	18	10		
	TOTAL	938670	26			

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

En el caso de los fenoles totales, tal como lo muestra la **Figura 4-1**, se observa que las bebidas que incluyeron un mayor porcentaje del ingrediente natural con asai, tuvieron un mayor contenido de antioxidantes. Sin embargo, el presente estudio también mostró

como el nivel de azúcar modifica el contenido de polifenoles reportado al interior de cada nivel de adición de polvo de asai. Así, puede verse que para los casos de un nivel de dilución del ingrediente natural al 12% y 15%, a mayor contenido de azúcar, se observa un contenido mayor en los fenoles totales detectados. En este sentido, la prueba de Tukey indicó que las nueve muestras evaluadas fueron diferentes desde la perspectiva estadística, siendo B15-3 la bebida con mayor contenido de fenoles (1,28 mg AG/g) y B10-0, el producto con menor cantidad (0,69 mg AG/g).

**Figura 4-1:** Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Ingrediente natural x Nivel de Azúcar para Fenoles totales en las bebidas formuladas con base en el ingrediente natural con asai (*Euterpe precatoria* Mart.)



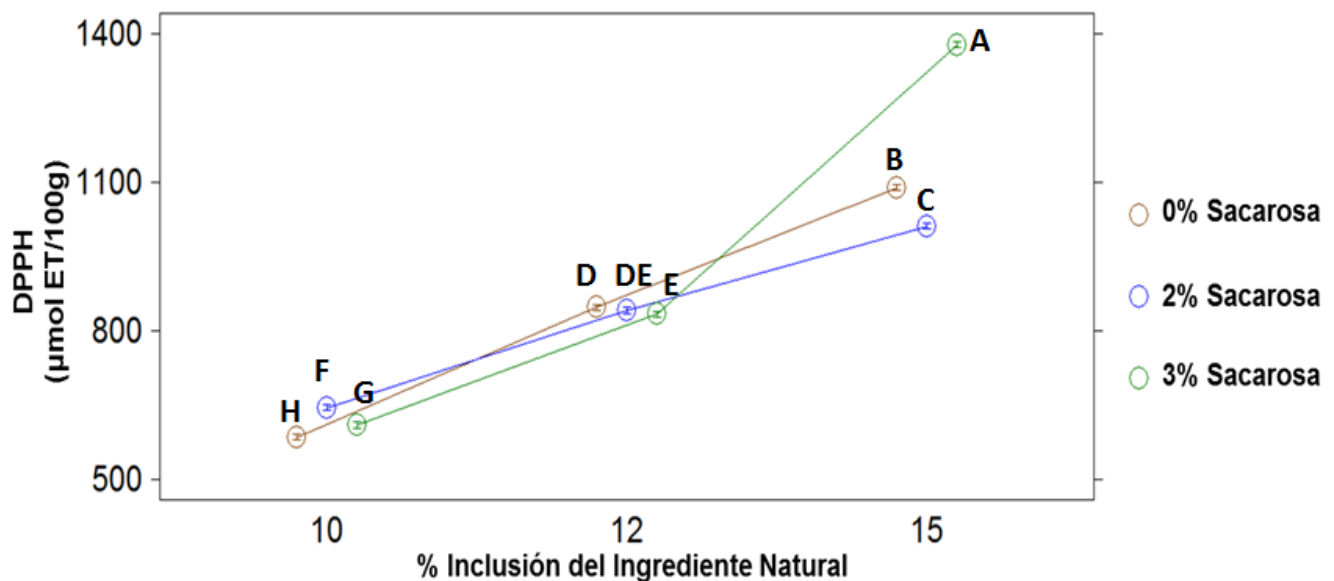
Nota: Puntos identificados con letras diferentes, son estadísticamente diferentes entre sí.

La bebida preparada con 15% del deshidratado de asai y 3% de azúcar presenta un contenido de fenoles menor en comparación con el jugo de asai formulado por Muller et al., 2010 ( $431,30 \pm 20,00$  mg AG/100 g), pero superior a los datos reportados para doce batidos de frutas y hortalizas, puré de manzana ( $125,01 \pm 5,29$  mg AG/100 g) y zumo de naranja ( $71,66 \pm 2,00$  mg AG/100 g), estudiados por el autor antes mencionado. Sin embargo, hay que considerar también otros estudios, que como el de Vera de Rosso et al., 2007, que ponen de manifiesto que es necesario moderar o evitar la adición de azúcar o sal a las bebidas de asai (*Euterpe oleracea* Mart), debido a que estos componentes pueden afectar la estabilidad de los polifenoles tipo antocianinas presentes

en la pulpa del fruto. Wilska-Jeszka J. (2007) indica que la sal y el azúcar afectan el potencial redox de la solución o medio en el que se encuentren las antocianinas y por ende ocasionan cambios de pH, al que algunos antocianos son sensibles.

Para el ensayo DPPH, puede verse en la **Figura 4-2**, que los mayores porcentajes de inclusión del ingrediente natural están condicionando una mayor capacidad antioxidante en las bebidas formuladas, lo cual está estrechamente relacionado con una mayor presencia de pulpa en términos masa/volumen y por ende, con una cantidad superior de los bioactivos tipo antioxidantes en las bebidas. Sin embargo, es de anotar que tal como se evidenció para la prueba de fenoles totales, la inclusión de azúcar también tuvo un efecto al interior y entre los tres niveles de adición del ingrediente natural. Así pues, para un 15% de polvo, la muestra B15-3 tuvo mayor capacidad antioxidante, entre tanto para un 12% del deshidratado, la muestra B12-0 presentó el mismo comportamiento y, finalmente, para un 10% del ingrediente, la muestra B10-2 fue la mejor en el parámetro evaluado. La prueba de Tukey reveló que si bien las nueve muestras evaluadas fueron diferentes desde la perspectiva estadística, B12-2 tuvo un comportamiento intermedio entre B12-0 y B12-3.

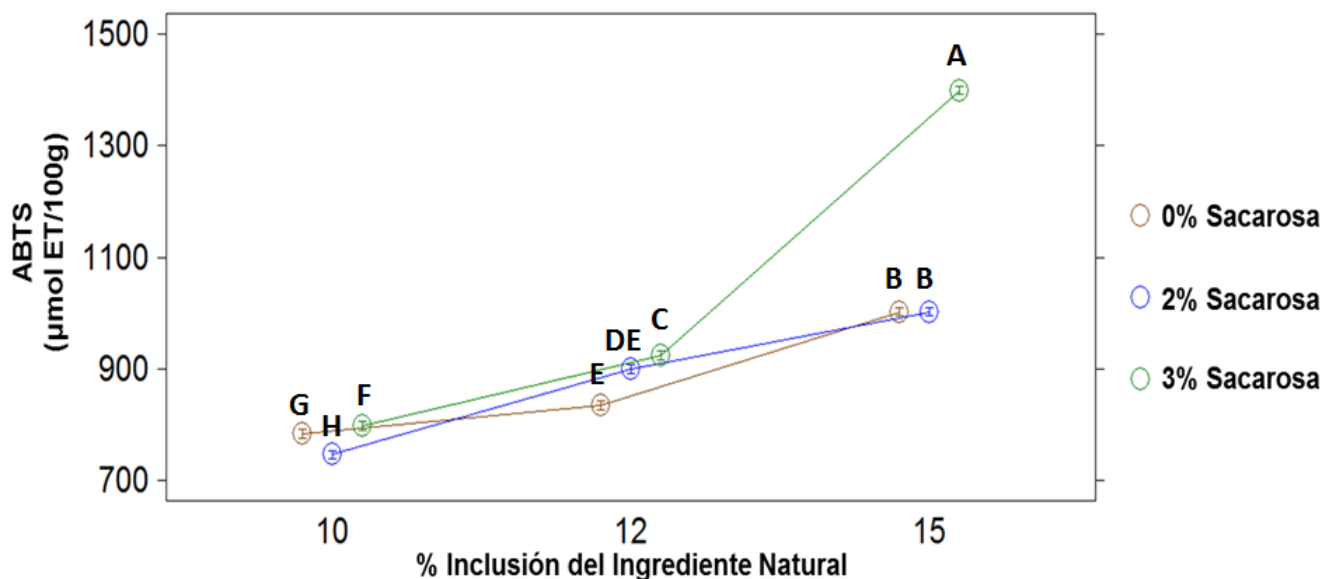
**Figura 4-2:** Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Ingrediente natural x Nivel de Azúcar para la prueba DPPH en las bebidas formuladas con base en el ingrediente natural con asai (*Euterpe precatoria* Mart.)



Nota: Puntos identificados con letras diferentes, son estadísticamente diferentes entre sí

Por otra parte, en la prueba ABTS, que también evalúa capacidad antioxidante, según lo expuesto en la **Figura 4-3**, puede verse que al igual que en el ensayo DPPH, en las muestras de bebidas elaboradas con un mayor porcentaje del deshidratado hay una mayor eliminación del radical de prueba y la concentración de trolox es mayor, es decir, el potencial antioxidante es más significativo. Bajo la misma tendencia, también fue posible detectar que el porcentaje de azúcar influyó en la respuesta antioxidante evaluada por este método, pudiéndose observar que de manera uniforme, para todos los porcentajes de inclusión del ingrediente natural, hubo un mejor valor antioxidante conforme el porcentaje de azúcar era más alto, siendo relevante destacar el comportamiento de la muestra B15-3. Esta variación intragrupos también es detectable al comparar las nueve muestras y en ese sentido, el test de Tukey permitió corroborar esas diferencias estadísticas, con excepción de las muestras B15-0 y B15-2, que tuvieron igual comportamiento.

**Figura 4-3:** Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Ingrediente natural x Nivel de Azúcar para la prueba ABTS en las bebidas formuladas con base en el ingrediente natural con asai (*Euterpe precatoria* Mart.)



Nota: Puntos identificados con letras diferentes, son estadísticamente diferentes entre sí

Al comparar los hallazgos obtenidos por los ensayos DPPH y ABTS para la evaluación de la capacidad antioxidante de las bebidas, es importante anotar que las diferencias al

interior de los tres grupos son detectables de forma más sensible por el método DPPH. Sin embargo, durante la ejecución de la experimentación, tal como se nombró anteriormente, esta prueba no permitió evidenciar una relación o una tendencia estable entre la variación de la capacidad antioxidante respecto a la interacción con el nivel de azúcar de cada bebida, hecho que sí pudo ser corroborado por ABTS. Las pruebas químicas para la evaluación de la capacidad antioxidante son complementarias en la evaluación del potencial antioxidante de un material o sustancia en específico y deben realizarse como mínimo dos de ellas, en pro de establecer tendencias y comparaciones entre sí. Así, en ambos ensayos, a pesar de tener cada uno sus particularidades, ventajas y desventajas, se puede apreciar que fue muy clara la superioridad de la muestra B15-3, lo cual puede sugerir que bajo este nivel de adición, el azúcar sin refinar utilizado ya empieza a mostrar influencia significativa sobre la absorbancia de las muestras evaluadas, sin que necesariamente se afirme que la sacarosa tiene propiedades antioxidantes, ya que su exceso a nivel fisiológico humano se traduce en su efecto contrario.

Autores como Sharma et al., 2008 quienes estudiaron la influencia de la adición de leche y azúcar durante la preparación de una bebida rica en polifenoles como el té negro, afirman que existe menor capacidad antioxidante medida por el método DPPH en esta bebida, cuando se agregan dichos ingredientes, especialmente la leche. Sin embargo, cuando las pruebas antioxidantes para dicha bebida se hicieron por el ensayo “B-caroteno-ácido linoléico”, los autores afirman que la adición de leche o azúcar o leche con azúcar, aumenta y estabiliza la actividad antioxidante, por lo cual sugieren estudiar la interacción a profundidad la interacción del azúcar comercial tipo sacarosa con el efecto biológico de los antioxidantes.

Amaya & Portillo, 2013 estudiaron el contenido y capacidad antioxidante del azúcar blanco, moreno y de las melazas, concluyendo que existe un mayor contenido de polifenoles y un potencial antioxidante conforme se aplica un menor procesamiento sobre los productos que resultan de la concentración del jugo de la caña. Así pues, para el caso del azúcar moreno usado en la presente investigación, se reportan un contenido de fenoles de 11,77 mg GAE/g y una capacidad antioxidante medida por el método ABTS de 51.28 mg Trolox/g, que no es altamente significativa desde la perspectiva nutricional,

pero que pudo contribuir al aumento de los parámetros antioxidantes medidos en cada grupo de bebidas y que explican en parte el fenómeno observado con la muestra B15-3. Así mismo, esta bebida en específico tenía el nivel más alto del ingrediente natural formulado, por ende tenía el mayor contenido de pulpa (vs. porcentajes de inclusión al 10% y 12%), así que contenía más compuestos fenólicos tipo antocianinas y proantocianidinas (entre otros) que son susceptibles de formar interacciones moleculares con el azúcar, cuyo contenido en la muestra también era el mayor de todos los porcentajes que se probaron. Estas interacciones pueden significar una inestabilidad molecular para el caso de las antocianinas, según las afirmaciones de Wilska-Jeszka J, (2007), pero para el caso de las proantocianidinas no es así y partiendo de que estas sustancias contribuyen aproximadamente al 90% de la capacidad antioxidante de la pulpa liofilizada del asai (Pacheco-Palencia et al., 2009; Castillo et al (a)., 2013), es de esperar una cifra de potencial antioxidante significativa.

#### **4.3.3 Análisis Fisicoquímico**

En la **Tabla 4-5** se presenta el análisis de varianza para las características fisicoquímicas de las bebidas formuladas. La interacción ingrediente natural  $\times$  nivel de azúcar fue altamente significativa desde el punto de vista estadístico para los grados Brix, pero no para el pH ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 4-5:** Análisis de varianza para las características fisicoquímicas de las bebidas formuladas con base en el ingrediente natural con asai (*Euterpe precatoria* Mart.)

Ensayo	Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrática	$F_c$	$p^*$
pH	Ingrediente natural	0.00192	2	0.00096	32.38	0,1845
	Nivel de Azúcar	0.00356	2	0.00178	60.12	0.1764
	Ingrediente natural * Nivel de Azúcar	0.00870	4	0.00218	73.44	0,0728
	ERROR	0.00053	18	0.00003		
	TOTAL	0.01472	26			
°Brix	Ingrediente natural	76.016	2	38.0078	3665.04	0.0000
	Nivel de Azúcar	39.096	2	19.5478	1884.96	0.0000
	Ingrediente natural * Nivel de Azúcar	3.189	4	0.7972	76.88	0.0000
	ERROR	0.187	18	0.0104		
	TOTAL	118.487	26			

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

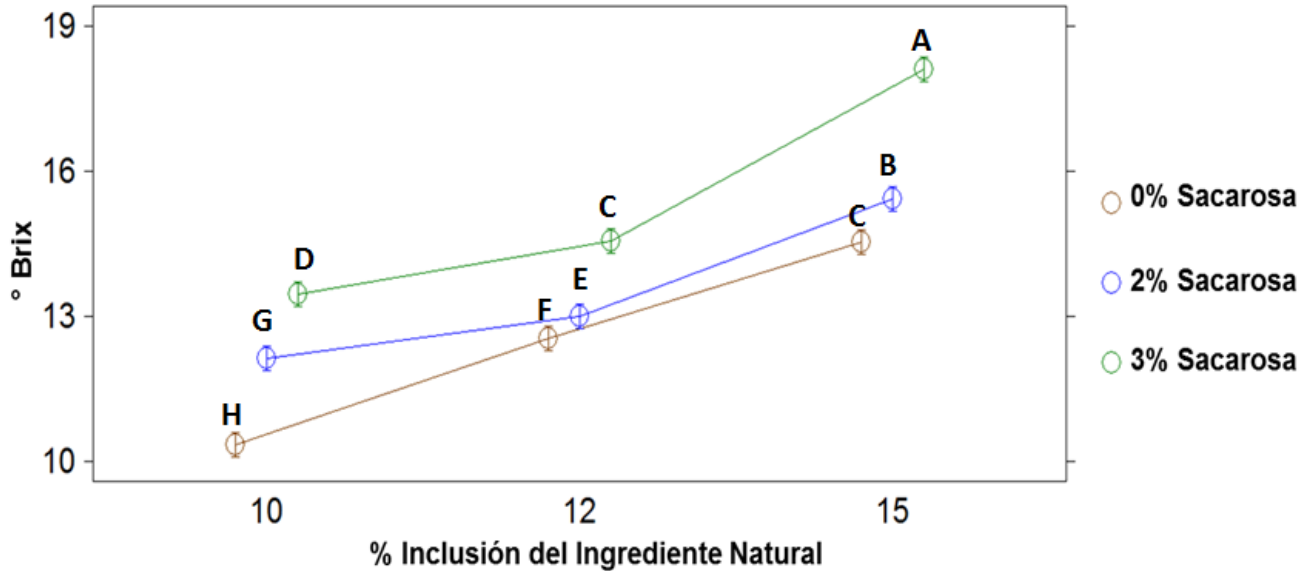
Así, el pH no mostró variación entre las diferentes formulaciones y el valor arrojado por el pH-metro fue siempre 4,38, cifra ligeramente superior a la evidenciada por la pulpa de asai en fresco. Lo anterior permite afirmar que de acuerdo con lo esperado, esta característica fisicoquímica de las bebidas fue influenciada ni por el nivel de inclusión del ingrediente natural, ni por el porcentaje de adición de azúcar.

En contraste al comportamiento del pH, la **Figura 4-4** muestra la variación de los grados Brix en función del porcentaje de inclusión del ingrediente natural y de la cantidad de azúcar presente en las bebidas. De esta manera, según los hallazgos del test de Tukey, se afirma que existe una relación directamente proporcional entre la adición de polvo de asai y la cantidad de sólidos solubles presentes en las bebidas, con excepción de B10-3 y de las muestras B15-0 y B12-3 que no diferencian estadísticamente.

Así mismo, dentro de cada nivel de dilución del deshidratado para reconstituir en una porción de 250 mL, se observa que la mayor adición de sacarosa condiciona cifras de grados Brix más altas. Las dos tendencias ya expuestas eran esperadas, ya que durante la medición por refractometría, los carbohidratos como la maltodextrina y los azúcares, por ser solubles, aumentan los sólidos disueltos y por ende los datos obtenidos. Las

muestras con resultados más importantes al respecto fueron B15-3 con 18.1 °Bx y B15-2 con 15.4 °Bx, mientras que la bebida con la menor cantidad de sólidos en solución fue B10-0 con 10.3 °Bx,

**Figura 4-4:** Promedios y prueba de Tukey (5%) de la interacción Ingrediente natural x Nivel de Azúcar para los °Brix en las bebidas formuladas con base en el ingrediente natural con asai (*Euterpe precatoria* Mart.)



Nota: Puntos identificados con letras diferentes, son estadísticamente diferentes entre sí

#### 4.3.4 Análisis Sensorial

La prueba de Shapiro Will permitió estudiar la tendencia estadística de los datos obtenidos mediante la calificación de cuatro atributos sensoriales (sabor, olor, color y solubilidad) de tres de las nueve bebidas formuladas. Los productos seleccionados para ser evaluados por los sesenta panelistas no entrenados, tipo consumidores fueron B10-2, B12-3 y B15-3, ya que exhibieron el mejor comportamiento dentro de cada uno de los tres niveles de inclusión del ingrediente natural en las bebidas, en por lo menos dos de las tres pruebas antioxidantes que se presentaron anteriormente.

De este modo, tal como puede verse en la **Tabla 4-6**, los valores de  $p < 0,005$  para los atributos considerados, demuestran que los datos no tienen una tendencia normal y, que como era de esperarse en este tipo de análisis sensoriales, no es válido aplicar ANOVA, sino un prueba no paramétrica como el método de Kruskal-Wallis para estudiar

diferencias entre las muestras de interés.

**Tabla 4-6:** Prueba de normalidad Shapiro Will para los atributos sensoriales evaluados en tres formulaciones diferentes de bebidas elaboradas con el ingrediente natural de asai (*Euterpe precatoria* Mart.)

Atributo sensorial	N	W	p*
Color	180	0,8771	0,0000
Olor	180	0,8444	0,0000
Sabor	180	0,8713	0,0000
Solubilidad	180	0,8587	0,0000

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

A través de lo reportado en la **Tabla 4-7**, puede verse que fue posible establecer diferencias estadísticamente significativas, entre las tres muestras de bebidas en todos los parámetros que fueron calificados por los consumidores.

**Tabla 4-7:** Prueba de Kruskal Wallis para los atributos sensoriales evaluados en tres formulaciones diferentes de bebidas elaboradas con el ingrediente natural de asai (*Euterpe precatoria* Mart.)

Atributo sensorial	Valor Estadístico para Kruskal-Wallis	p*
Color	17,05	0,0002
Olor	34,35	0,00001
Sabor	47,63	0,00001
Solubilidad	51,57	0,00001

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

Ahora bien, en pro de establecer diferencias más concretas entre cada una de las muestras por cada uno de los atributos sensoriales evaluados y considerando que se trata de datos que no cumplen con el criterio de normalidad, se calcularon las medianas de las calificaciones de todos los participantes y se aplicó la prueba de diferencia mínima significativa (LSD), cuyos resultados se muestran en la **Tabla 4-8**.

**Tabla 4-8:** Prueba de diferencia mínima significativa para cada uno de los atributos sensoriales evaluados en las muestras de bebidas

Muestra	Color		Olor		Sabor		Solubilidad	
	Mediana	DMS*	Mediana	DMS*	Mediana	DMS*	Mediana	DMS*
B10-2	3	A	3	A	3	A	2	A
B12-3	3	AB	1	A	1	A	1	B
B15-3	2	B	2	B	3	B	3	C

\* Valores con letras diferentes son significativamente diferentes al nivel de  $p < 0,05$

Según con el perfil AQD (método cuantitativo descriptivo para elaboración de perfiles sensoriales) calculado con la mediana, puede observarse en la **Figura 4-5**, que los voluntarios tuvieron una mayor aceptación de la bebida reconstituida al 12 % del ingrediente natural con asai y la adición de azúcar 3% (B12-3) en los atributos de sabor, olor y solubilidad. Sin embargo, la mayoría de los consumidores informó que B15 - 3 fue la muestra más agradable en color. En este mismo sentido, es importante mencionar que los participantes solo fueron informados de la procedencia del fruto con el que se fabricó el ingrediente natural para la bebida y de la seguridad e inocuidad de la misma, pero no se tuvo en consideración darles a conocer datos del producto sobre las características funcionales y posibles impactos positivos sobre la salud, ya que esto podría interferir en su selección y calificación objetiva.

Los estudios de Vidigal et al., 2011 y de Sabbe et al., 2009, demostraron que, a pesar que los consumidores refieran una baja calificación para las bebidas desarrolladas con frutas exóticas como el asai, en relación al atributo del sabor, cuando éstos conocen o son informados mediante declaraciones en salud o “Health Claims” sobre los beneficios que obtendrán tras su consumo, se supera la llamada “neofobia alimentaria” y se aumenta la aceptabilidad sensorial de todos los nuevos sabores y características, mediante calificaciones hedónicas más altas. Sin embargo, los autores concluyen que los parámetros sensoriales son más importantes a la hora de seleccionar un alimento durante las compras y por ende recomiendan profundizar en los mecanismos que definen la decisión de consumo de las bebidas “exóticas”, en torno al placer sensorial y el autocuidado de la salud.

**Figura 4-5:** Perfil AQD para tres muestras de bebidas elaboradas con el ingrediente natural de asai (*Euterpe precatoria* Mart.)



## 4.4 Conclusiones

Las bebidas reconstituidas al 15% mostraron una actividad antioxidante más alta y el contenido y los valores más altos en los parámetros físico-químicos evaluados, sin embargo, la mayor aceptación de las bebidas por los voluntarios se obtuvo con el polvo estándar al 12% y 3% de sacarosa (Fenoles totales= 1,10 mg EAG/g y Capacidad Antioxidante: ABTS: 924,07  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$  y DPPH: 834,59  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ ). Al obtener un ingrediente natural a partir de la pulpa del asai se pone de relieve la importancia de diseñar y desarrollar nuevos productos con características funcionales y sensoriales utilizando las frutas tropicales, especialmente los productos amazónicos.

## Bibliografía

Amaya L, Portillo C. Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio Chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible. Trabajo de graduación. Universidad de El Salvador. Facultad de química y farmacia. San Salvador. 2013

- American Society of Agricultural Engineers (ASAE). Standards engineering practices data. St. Joseph, Michigan.1994: 467- 469.
- AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Washington, 2000.
- Arteaga- Llona A. El Índice glicémico. Una controversia actual. Nutr. Hosp. 2006; 21 (2): 55-6.
- Castillo Y, Hernández M, Lares M (a). Componentes bioactivos del asai (*Euterpe oleracea* Mart y *Euterpe precatoria* Mart) y su efecto sobre la salud. Archivos venezolanos de farmacología y terapéutica. 2013; 32(1).
- Castillo Y, Hernández M, Lares M. Caracterización bromatológica y fisicoquímica del fruto amazónico asai (*Euterpe precatoria* Mart). Vitae. 2012; 19(1):309-311.
- Castillo Y, Hernández, M, Lares M (b). Effect of drying temperatures on content and antioxidant capacity of asai (*Euterpe precatoria* Mart). Memorias V Congreso Venezolano de Ciencia y Tecnología de Alimentos "Dra. Mercedes Baragaño de Venezuela. 2013. (In press).
- Castillo Y, Lares M, Gutierrez R, Hernandez M, Fernandez-Trujillo J. asai palm fruit bioactive compounds and impacts on health being. Proceedings of the F. Bioact. Process. Qual. & Nutr. Sciforum Electronic Conference Series. 2013; (1).
- Foster–Powell K, Holt SHA. International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. Am J Clin Nutr. 2002; 76: 5–56.
- Instituto amazónico de investigaciones científicas (Sinchi). Proyecto de investigación, innovación y alternativas tecnológicas de aprovechamiento sostenible de los recursos naturales renovables y el medio ambiente amazónico. Informes de caracterización de especies. Línea de Sostenibilidad e Intervención. Producto No. 3. Orden de servicio N°. 92 de 2012.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, ICONTEC. Norma técnica colombiana (NTC) 5727: "Mezclas en polvo para preparar refrescos o bebidas instantáneas".2010.
- Kang J, Thakali KM, Xie C, Kondo M, Tong Y, Ou B, Jensen G, Medina MB, Schauss AG, Wu X. Bioactivities of Açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. Food Chemistry. 2012; 133: 671-677
- Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2005; 25: 726-732.
- Lai, L. S., S.T. Chou, W.W. Chao. 2 Studies on the antioxidant activities of Hsian-Tsao (*Mesona procumbens* Hemsl). J. Agric. Food Chem. 2001; 49(1): 963-968 Won Lee et al., 2003

- Lawless H T, Heymann H. Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices. Food Science Text Series. 2nd ed. 2010, 596 p.
- Lawless HT and Heymann H. Sensory Evaluation of Food, Food Science Text Series, ISSN 1572-0330, New York, Springer, 2010.
- Lee R, Balick MJ. Palms, people, and health. Explore: The Journal of Science and Healing. 2008; 4: 59-62.
- Márquez C, Ciro H. Deshidratación de mora de castilla (*Rubus glaucus*) bajo régimen convectivo con aire forzado. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín. 2002; 55(2): 1587-1600.
- Márquez C, Peláez M, Cortes M. Deshidratación de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) por convección forzada para elaboración de bebidas aromáticas. Revista CES / Medicina Veterinaria y Zootecnia. 2009; 4(2):100-117.
- Müller L, Gnoyke S, Popken AM, Böhma V. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. LWT - Food Science and Technology.2010; 43: 992–999.
- Pavan M, Schmidt S, Feng H. Water sorption behavior and thermal analysis of freeze-dried, Refractance Window-dried and hot-air dried açai (*Euterpe oleracea* Martius) juice. Food Science and Technology. 2012; 48:75-81.
- Peña LF, Barrera JA, Hernández MS. Obtención de la pulpa de asai (*Euterpe precatoria* Mart) en la amazonía norte colombiana. Vitae. 2012; 19: 309-311.
- Pacheco-Palencia LA, Duncan CE, Talcott ST. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial asai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. Food Chem. 2009; 115(4):1199-205.
- Rojano BA, Vahos ICZ, Arbeláez AFA, Martínez AJM, Correa FBC, Carvajal LG. Polifenoles y actividad antioxidante del fruto liofilizado de palma naidi (Açaí colombiano) (*Euterpe oleracea* Mart). Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín. 2011; 64: 6213-6220.
- Rufino MDSM, Pérez-Jiménez J, Arranz S, Alves RE, de Brito ES, Oliveira MSP, Saura-Calixto F. Açai (*Euterpe oleraceae*) 'brs pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. Food Res Int. 2011; 44: 2100-2106.
- Sabbe S, Verbeke W, Deliza R, Matta V, Van Damme P. Effect of a health claim and personal characteristics on consumer acceptance of fruit juices with different concentrations of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). Appetite. 2009; 53: 84-92.
- Seyhan, E. Química Orgánica. Estructura y Reactividad. Tomo 2. Tercera Edición. Editorial Reverté S.A. 2004. Barcelona, España.
- Torres N, Palacios-González B, Noriega-López L, Tovar-Palacio A. Índice glicémico, índice insulinémico y carga glicémica de bebidas de soya con un contenido bajo y alto en hidratos de carbono. Rev. invest. clín.2006;58(5):12-15

Vasundhara S, Kumar H V, Rao LJM. Influence of milk and sugar on antioxidant potential of black tea. *Food Res Int.*: 2008; 41 (1):124–129

Vera de Rosso V, Mercadante AZ. Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 2007;8(3):347-52.

Vidigal MCTR, Minim VPR, Carvalho NB, Milagres MP, Gonçalves ACA. Effect of a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: Açai (*Euterpe oleracea* Mart.), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Cajá (*Spondias lutea* L.) and Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda). *Food Res Int.* 2011;44(7):1988-96.

Wilska-Jeszka J. (2007) Food colorants. In Z.E. Sikorski (ed.), *Chemical and functional properties of food components* Boca Ration: CRC Press. pp. 245-274.

## **5. Evaluación de la dosis segura de una bebida de asai (*Euterpe precatoria* Mart.) en el pez cebra y su efecto sobre biomarcadores y alelos de riesgo asociados a polimorfismos para las enzimas Paraxonasa-1 y Óxido nítrico sintasa endotelial en sujetos sanos**

### **Resumen**

El asai (*Euterpe oleracea* Mart. y *Euterpe precatoria* Mart.) es una palma monocotiledónea nativa de Suramérica con frutos tipo bayas redondeadas-ovaladas, de color morado intenso. El contenido nutricional, perfil de ácidos grasos y la concentración de antioxidantes de este fruto, se han reportado en la literatura científica como posibles factores etiológicos de una serie de beneficios sobre la salud, sobre todo en modelos *in vitro*, siendo escasos los trabajos investigativos a nivel *in vivo*. El objetivo de este trabajo fue evaluar toxicológica y funcionalmente una bebida en polvo de asai (*Euterpe precatoria* Mart.) nativo de la amazonía colombiana, usando un modelo animal y un grupo de humanos sanos. Se formuló la bebida con un ingrediente natural en polvo de asai al 12% en una porción usual de consumo. Se ajustaron las dosis del producto para ser suministrado a larvas de pez cebra (*Danio rerio*) y se evaluó su dosis máxima de consumo a través del tiempo. Se planteó un estudio clínico piloto con 8 voluntarios humanos para medición del impacto metabólico de la bebida sobre diferentes biomarcadores metabólicos en un efecto agudo y a largo plazo, luego de una semana de ingesta 1 vez al día. Se realizó evaluación nutricional, respuesta bioquímica para glicemia, perfil lipídico, ácido úrico, creatinina e insulina y se avaluó el efecto antioxidante de la bebida midiendo marcadores específicos para estrés oxidativo y respuesta antiagregante. Así mismo, se identificó la presencia de dos alelos de riesgo para

polimorfismos en los genes PON-1 y NOS-3, implicados en la respuesta antioxidante de los participantes. Se determinó que la dosis máxima de consumo del producto en el modelo animal fue de 8,78 mg/mL. En el grupo de sujetos sanos, no se observaron diferencias significativas entre las variables nutricionales y bioquímicas en la línea de base y tras del consumo de la bebida por una semana, a excepción del 8-isoprostano, (con variación de de 68,34 a 60,90  $\mu\text{mol/mL}$ ). marcador de respuesta antioxidante en las lipoproteínas, lo cual estuvo condicionado por la presencia de alelos de riesgo en los voluntarios. Se observó entonces una tendencia hacia la reducción de estrés oxidativo, evidenciando el potencial funcional del asai especie *precatoria* en la formulación de productos alimenticios.

**Palabras clave:** asai (*Euterpe precatoria* Mart.), Antioxidantes, Alimentos Funcionales, Toxicología, Salud, Biomarcadores.

## Summary

The asai (*Euterpe oleracea* Mart. and *Euterpe precatoria* Mart) is a native of South America monocot palm type with rounded - oval fruit, deep purple berries. The nutritional content, fatty acid profile and concentration of antioxidants this fruit have been reported in the scientific literature as possible etiologic factors of a number of health benefits, especially in in vitro models, being little investigative work to in vivo level. The aim of this study was to evaluate toxicological and functionally a drink powder asai (*Euterpe precatoria* Mart.) Native to the Colombian Amazon, using an animal model and a group of healthy humans. Drink was formulated with a natural ingredient Asai powder 12% in a usual drinking portion. Doses of the product to be supplied to larval zebrafish (*Danio rerio*) and the maximum dose intake was assessed over time were adjusted. Pilot clinical study with eight human volunteers for measuring metabolic beverage impact on different metabolic biomarkers in acute and long-term effect was raised after one week of ingestion 1 time per day. Nutritional assessment, biochemical response to glucose, lipid profile, uric acid, creatinine and insulin was performed and the antioxidant effect of the drink by measuring specific markers for oxidative stress and antiplatelet response was valued. Likewise, the presence of two risk alleles for polymorphisms in the PON-1 and NOS-3 genes, involved in the antioxidant response of the participants was identified. It was

determined that the maximum level of consumption of the product in the animal model was 8.78 mg / mL. In healthy subjects, no significant differences between the nutritional and biochemical variables at baseline and after consumption of the drink for a week, with the exception of 8-isoprostane were observed (with variation from 68.34 to 60.90  $\mu\text{mol} / \text{mL}$ ). Marker lipoprotein antioxidant response, which was conditioned by the presence of risk alleles in volunteers. A trend toward reduction of oxidative stress were then observed, demonstrating the functional potential of asai precatória species in the formulation of food products.

**Keywords:** asai (*Euterpe precatória* Mart), Antioxidants, Functional Foods, Toxicology, Health Biomarkers.

## 5.1 Introducción

El asai es una palma nativa de las llanuras de inundación natural de la región amazónica de países que comparten este ecosistema de selva húmeda tropical tales como Brasil, Perú, Bolivia, Venezuela y Colombia (Sabbe et al., 2009; Lee & Balick, 2008). El fruto, igualmente denominado, es clasificado dentro de la categoría de las llamadas “berries”, tiene forma redondeada y es en la actualidad, el centro de atención de la industria cosmética, nutracéutica y alimentaria, ya que existen reportes etnobotánicos y científicos que le atribuyen un sin número de propiedades excepcionales para la prevención o tratamiento de diferentes problemas de salud, tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares, sobrepeso y obesidad, debilidad y cansancio excesivo y disfunción sexual, entre otros. Existen dos especies, *Euterpe oleracea* y *Euterpe precatória*, siendo la primera ampliamente descrita y la segunda, una especie presente de manera silvestre en la amazonía colombiana, poco estudiada desde la perspectiva bioquímica y sin descripción de su potencial como alimento que impacte la salud humana.

Los resultados investigativos más relevantes en torno a la composición del asai, hablan de un contenido considerable de polifenoles (antocianinas y flavonoides, principalmente) (Lichtenthäler et al., 2005; Schauss et al., (a) (b) 2006; Sanabria et al., 2007; Palencia-Pacheco et al., 2007; Palencia Pacheco et al., 2009), un perfil de ácidos grasos similar al del aceite de oliva y de aguacate (Rufino et al., 2011) y de una gran capacidad

antioxidante que ha mostrado ciertos efectos positivos: *In vitro*, se tiene la reducción del daño oxidativo en cultivos de eritrocitos y PMN (Polimorfomononucleares) neutrófilos humanos (Kang et al., 2010), la supresión de la proliferación de células HL-60 humanas asociadas a leucemia (Del Pozo-Insfran et al., 2006) y de células murinas C-6 ligadas al desarrollo de tumores cerebrales (Hogan et al., 2010), entre otros. *In vivo*, se ha logrado verificar la disminución de la presión sanguínea en ratas hipertensas (Matheus et al., 2006), la reducción de la oxidación de proteínas en ratas suplementadas con asai y un efecto dosis-dependiente entre el consumo del extracto alcohólico de asai y la aparición de un efecto vasodilatador en ratas, entre otros estudios.

Diferentes investigaciones ponen de manifiesto la evidencia científica que respalda los beneficios del asai con actividad como antioxidante, antiinflamatorio y por ende cardioprotector y un efecto antiproliferativo, entre los que destacan los trabajos realizados por Schauss et al., 2006 quienes determinaron que los polifenoles del asai pueden incorporarse a los neutrófilos humanos inhibiendo la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de las enzimas ciclooxigenasa 1 y 2 (COX-1 y COX-2). Noratto et al., 2011 también evidenciaron los efectos antiinflamatorios de los polifenoles provenientes del asai. Los autores concluyen que los polifenoles de la fruta a dosis de 5-20 mg equivalentes ácido gálico/ L protegen a las células endoteliales vasculares humanas del estrés oxidativo inducido por glucosa y de la inflamación. Kang et al., 2012 también evaluaron las propiedades antiinflamatorias de la pulpa de asai especie *precatoria* vs. la especie *oleracea*, concluyendo que el extracto etilacetílico de la primera inhibió la activación del factor nuclear ya mencionado en un 23% en comparación a la otra especie que no tuvo un efecto significativo. Oliveira de Souza et al., 2010, no solo evidencian el efecto antioxidante sino también hipocolesterolémico del asai tras el suministro de pulpa a ratas alimentadas con una dieta estándar o rica en colesterol, llegando a la conclusión que al complementar esta última dieta con el fruto, se produce la reducción del colesterol total y de las lipoproteínas de baja densidad. La pulpa de asai indujo una reducción significativa en la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) sólo en las ratas con hipercolesterolemia. Pacheco-Palencia et al., 2008 estudiaron el efecto antiproliferativo de los polifenoles de los extractos de la pulpa y el aceite de asai en células humanas de adenocarcinoma de colon HT-29 y comprobaron que las fracciones de polifenoles de ambos extractos a dosis de 0-12 µg equivalentes ácido gálico/ L, inhibieron la

proliferación celular cerca de un 90,7 %, al igual que estudios realizados por Hogan et al., 2010, Pacheco-Palencia et al., 2010 y Stoner et al., 2010 que encontraron efecto antiproliferativo en el asai, al prevenir la tumorigénesis.

Ahora bien, ante el panorama antes descrito, es importante resaltar que los estudios que involucran grupos humanos y que describen beneficios concretos del consumo regular del asai, son muy limitados (Castillo et al., 2012; Castillo et al., 2013 (a); Castillo et al., 2013 (b); Castillo et al., 2013 (c)). Se cuenta tan solo con tres estudios científicos que involucran cohortes de pacientes sanos y con patologías metabólicas para evaluar el efecto antioxidante del fruto sobre diferentes biomarcadores (Jensen et al., 2008; Mertens-Talcott et al., 2008; Udani et al., 2011), lo cuál puede ser el punto de partida para el desarrollo de más investigaciones en el tema, teniendo en cuenta el creciente interés en los compuestos bioactivos de los alimentos.

A la luz de la evidencia presentada para el asai y considerando que varios estudios epidemiológicos y experimentales apuntan a los beneficios potenciales de los antioxidantes en la mejora de algunos de los factores de riesgos para la aparición de enfermedades no transmisibles (ENT) (OMS, 2013), el objetivo de este trabajo fue evaluar desde el punto de vista funcional una bebida en polvo de asai (*Euterpe precatória* Mart.) propio de la amazonía colombiana, usando un modelo animal y un grupo de humanos sanos. En los animales se pretendió evaluar la respuesta toxicológica y en la cohorte de voluntarios, el impacto del producto diseñado sobre biomarcadores metabólicos, de estado proinflamatorio y de estrés oxidativo, evaluando la presencia de dos polimorfismos genéticos en los participantes.

## **5.2 Materiales y Métodos**

### **5.2.1 Producto en estudio**

La pulpa del fruto asai provino del municipio de San José del Guaviare, Colombia. En este lugar los frutos fueron cosechados, recolectados y conducidos a una planta piloto de procesamiento, donde se obtuvo la pulpa estandarizada de esta “berry” según la

metodología planteada por Peña et al., 2012. El producto se dispuso en el empaque idóneo, se congeló y se transportó de esta forma. Cada una de las etapas se realizó según la normatividad colombiana para la manipulación de alimentos.

Con la pulpa se desarrolló un ingrediente natural de asai, partiendo de la mezcla del fruto con maltodextrina grado alimentario (DE=20) en un 33%. La combinación en líquido se dispuso en recipientes termoformados de aluminio y deshidrató de manera previamente estandarizada, mediante secado por convección forzada a 65°C por menos de 6 horas (Castillo et al., 2013 (b); Pavan et al., 2012). Luego de este proceso, se unificó el tamaño de partícula del deshidratado, usando un molino de café y se hicieron los análisis granulométricos.

Luego de la obtención del polvo y de realizar pruebas fisicoquímicas, antioxidantes y sensoriales, se obtuvo una formulación de bebida al 12% del ingrediente natural de asai, sin la incorporación de azúcar en un volumen de reconstitución de 250 mL, una porción usual de consumo (Castillo et al., 2013 (d)). En la **Tabla 5-1** se muestra el aporte nutricional por porción de la bebida con asai (cálculo indirecto). El ingrediente natural que se normalizó y con el que se elaboró la bebida al 12%, contiene en base seca, 1,5 % de Grasa (1,05 % de ácido oléico), 0,1 % de Proteína, 97,9 % de Carbohidratos, 1,19 % de Fibra Dietaria Total y 0,01% de Cenizas.

**Tabla 5-1:** Aporte de macronutrientes y fibra dietaria de la bebida de asai formulada, por porción de 250 mL

Calorías (Kcal)	Proteína (g)	Grasa (g)	Carbohidratos (g)	Fibra Dietaria Total (g)	Fibra Dietaria Insoluble (g)	Fibra Dietaria Soluble (g)
123	0,0	0,5	29,4	0,36	0,34	0,02

En la **Tabla 5-2** se consignaron los datos de contenido y capacidad antioxidante para una porción de la bebida con asai, reconstituída (cálculos indirectos). El deshidratado con el que se fabricó la bebida contiene  $170 \pm 2,66$  mg de Cianidin 3-glucósido/100 g de materia seca de antocianinas y su capacidad antioxidante se cuantificó como  $5119,47 \pm 65,55$

µmoles ET/100g por el método DPPH y en  $15976,58 \pm 15,86$  µmoles ET/100g según la prueba ABTS.

**Tabla 5-2:** Contenido de antioxidantes tipo polifenol y capacidad antioxidante de la bebida de asai formulada, por porción de 250 mL

Fenoles totales (mg EAG/g muestra)	Antocianinas totales (mg Cianidin 3-Glucósido/100 g)	Capacidad Antioxidante – DPPH (µmoles ET/100g muestra)	Capacidad Antioxidante – ABTS (µmoles ET/100g muestra)
29,4	37,5	2117,45	2086,05

## 5.2.2 Estudio toxicológico en modelo *in vivo*

### 5.2.2.1 Obtención de larvas de pez cebra (*Danio rerio*)

Las colonias de pez cebra fueron obtenidas de casa comercial y mantenidas en el laboratorio de microscopía del Instituto Anatómico “José Izquierdo” de la Facultad de Medicina, de la Universidad Central de Venezuela. Las mismas, fueron manipuladas de acuerdo a lo establecido por el comité de bioética del instituto y respetando las recomendaciones internacionales. Dichas colonias, constituidas por hembras y machos de cepa silvestre, se mantuvieron en condiciones de crecimiento en un medio ambiente tipo acuario de vidrio, provisto de filtro interno y aireador de carbón activo para la oxigenación del agua, a temperatura de 28° C y alimentados tres veces al día, con alimento estándar para peces. Los embriones fueron obtenidos por desove foto-inducido, durante ciclos de luz-oscuridad de 12-14 horas, respectivamente. Estos fueron mantenidos en capsulas de Petri, inmersos en agua de pecera filtrada, hasta alcanzar la eclosión y liberación de las larvas. Las larvas obtenidas, fueron seleccionadas bajo el criterio de su estadio de desarrollo, según descripción anatómica (Kimmel et al., 1995).

### **5.2.2.2 Ensayo de toxicidad.**

Larvas de pez cebra, seleccionadas de 5 días post fertilización (dpf), fueron colocadas en placas de 24 pozos, a razón de 10 larvas/pozo; cada bache con concentraciones distintas de solución del ingrediente natural. Se utilizó el ingrediente natural con asai puro y diluido en el agua de pecera en un rango de concentraciones de 2,3 mg/mL; 4,3 mg/mL; 6,3 mg/mL; 8,3 mg/mL y 10,3 mg/mL). El volumen final en cada pozo fue de 2 mL. El grupo control correspondió a 10 larvas incubadas en agua de pecera. Los experimentos fueron realizados por triplicado.

Transcurridas 8 y 24 horas de incubación, se observó, a través de un microscopio estereoscópico, la actividad cardiaca. La ausencia de esta determino la muerte de la población larvaria correspondiente. El porcentaje de muerte de la población larvaria, transcurridas 8 horas de incubación, fue expresada en función de la concentración para la estimación del valor de  $CL_{50}$  para las primeras 8 horas de tratamiento. A las 24 horas del mismo, se evaluaron los cambios morfológicos y anatomía de las larvas, controles y tratadas, a través de registros fotográficos. Para la estimación de la  $CL_{50}$ , se procedió a través del método de Probit (Álvarez et al., 2013).

### **5.2.3 Estudio clínico piloto**

Se planteó un estudio clínico no controlado con voluntarios humanos sanos para medición del impacto del consumo de la bebida sobre diferentes biomarcadores metabólicos en un efecto agudo y a largo plazo, luego de una semana de ingesta de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai al 12%, una vez al día por una semana.

#### **5.2.3.1 Sujetos**

Se contó con la participación de diez individuos adultos sanos, de los cuales solo ocho completaron la totalidad del estudio, siendo finalmente cuatro hombres y cuatro mujeres, captados en el Servicio de Endocrinología y Metabolismo del Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo, en Caracas, Venezuela.

Los criterios de inclusión fueron: hombres y mujeres con edades entre 18 y 60 años, índice de masa corporal (IMC) entre 18 y 24,5, presión arterial normal, con ausencia de enfermedades no transmisibles (ENT), infecciones, enfermedades de origen inmunológico u obesidad tratada con cirugía, tener un bajo consumo de bebidas alcohólicas, no consumir sustancias psicoactivas, en caso de ser mujer no estar en gestación y no tener una ingesta de suplementos nutricionales o fármacos, principalmente antiagregantes plaquetarios u antioxidantes. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Militar previa presentación del proyecto.

Como requisito final todos los voluntarios debieron firmar el consentimiento informado, en el cual aceptaban participar en el estudio y ser citados para la realización de las evaluaciones: clínicas básicas por un médico y exámenes generales previos, nutricionales y de laboratorio.

### **5.2.3.2 Desarrollo del estudio**

Se realizó una evaluación previa para conocer si los voluntarios se encontraban sanos y si estaban dispuestos a llevar a cabo el consumo de 250 mL de la bebida junto con una dieta controlada, que excluyera otros alimentos fuente de antioxidantes como el vino y el chocolate oscuro, lo cual fue una indicación que recibieron los pacientes y que debían cumplir de forma imperativa. Sin embargo, en etapas posteriores del estudio, se tuvo control de esta situación, contrastando los datos de los dos recordatorios de 24 horas y de la frecuencia semi-cuantitativa por grupos de alimentos que se les realizó a los participantes.

Entonces, durante este primer contacto se hizo una valoración médica completa y se tomaron muestras de sangre y orina, con las que se hicieron pruebas bioquímicas de rutina para comprobar el estado de salud de los participantes. Como prueba excepcional se llevaron a cabo pruebas hormonales de perfil tiroideo (T4 libre, T3 libre y TSH) para comprobar la ausencia de alteración metabólica.

#### ***Evaluación inicial***

Una vez agotada esta fase, se procedió a citar a cada uno de los pacientes para llevar a cabo la evaluación del efecto agudo post consumo de la bebida. Se realizó la valoración nutricional inicial del estudio y la evaluación de la tensión arterial y la toma de muestra de sangre periférica sin torniquete antes y después de 2 horas de ingerir la bebida con *asai*.

La evaluación nutricional incluyó los componentes de antropometría y valoración del consumo. Se incluyeron mediciones de peso corporal, estatura y circunferencia de cintura. Se utilizó balanza digital TANITA® UM-080, cinta de fibra de vidrio estrecha, flexible y no elástica fijada a la pared y escuadra. Con las medidas obtenidas se determinó el índice de masa corporal (IMC) y se usó la clasificación de la OMS. Una circunferencia de cintura mayor a 80 cm en mujeres y 90 cm en hombres se consideró como obesidad abdominal.

En relación a la valoración dietética, se realizó la aplicación de dos técnicas de medición del consumo de alimentos, recordatorio del consumo de alimentos en 24 horas de un día usual o típico y cuestionario de frecuencia cualitativa del consumo de alimentos. En la aplicación del recordatorio, para la estimación de las cantidades de alimentos consumidos, se emplearon modelos de alimentos y unidades de ayuda como tazas, cucharadas y vasos. El computo de calorías y nutrientes aportados por la dieta se realizó con base en la información ofrecida por la Tabla de Composición de Alimentos de Venezuela.

### ***Estado basal***

Con las muestras de sangre de los participantes obtenidas antes de la ingesta del producto a evaluar (ayuno previo de 12 horas), se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: perfil lipídico completo (colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol VLDL y triglicéridos), glicemia basal, ácido úrico y creatinina. Además, se calculó agregación plaquetaria usando tres agonistas de los receptores en plaquetas (ADP, colágeno y epinefrina) y se evaluó el efecto antioxidante de la bebida a través de dos biomarcadores específicos para estrés oxidativo y respuesta antiinflamatoria, el 8-Isoprostano y el óxido nítrico, respectivamente. Se emplearon kits por método enzimático colorimétrico de Roche Diagnostico C.A ® y para el 8-Isoprostano (valores de referencia

normales plasma 40-100 pg/mL), se determinó por método de Elisa empleando los kits comerciales de Calbiochem, en un Lector de Microplacas Elisa Biotek Instruments, INC.

### ***Efecto Agudo***

Luego de dos horas de la ingesta de la bebida, se hicieron nuevas tomas de sangre periférica sin torniquete a cada uno de los participantes del estudio, las cuales se procesaron tan sólo para los biomarcadores que son susceptibles de sufrir un recambio metabólico en un corto lapso de tiempo, tales como: triglicéridos, glicemia y agregación plaquetaria.

### ***Efecto luego de la semana posconsumo***

Se citó diariamente a los pacientes para el suministro de la bebida. La reconstitución de la misma se hizo minutos antes del consumo, en presencia de los voluntarios, a los que se les indicó y entrenó en cómo hacer el procedimiento, ya que durante el fin de semana no se tuvo contacto con ellos. La ingesta de la bebida se dio casi siempre a la misma hora, como merienda a media mañana.

Luego de los siete días de consumo del producto con asai, los participantes fueron nuevamente citados al Servicio de Endocrinología y Metabolismo del Hospital Militar Dr. Carlos Arvelo, se evaluó la tensión arterial y se tomaron las últimas muestras de sangre para determinar los mismos parámetros bioquímicos que se evaluaron en el estado basal.

## **5.2.4 Estudios de polimorfismos**

Con el fin de estudiar en los participantes una posible asociación entre el consumo de la bebida de asai y una posible disminución en el efecto antioxidante de la misma, condicionada por la presencia de “alteraciones” en ciertos genes, se quiso identificar la presencia de alelos de riesgo (AR) asociados a la expresión de polimorfismos en los genes que codifican para las enzimas PON-1 (Paraxonasa-1) y NOS-3 (Óxido-Nítrico sintasa endotelial), relacionadas con la respuesta antioxidante y la vasodilatación, respectivamente. Los polimorfismos que se investigaron fueron para el caso de PON-1,

C.455A>G, donde el AR fue la guanina (G) y para el caso de NOS-3, C. 984G>T, donde el AR fue la timina (T).

Las muestras de sangre iniciales se transportaron según el protocolo de manejo de material biológico, al Laboratorio de Genética Molecular Humana, del Departamento de Biología Celular de la Universidad Simón Bolívar en Caracas, Venezuela. Allí luego de la obtención de las muestras de plasma de cada paciente, se aplicó el protocolo de extracción rápida de DNA genómico de alto peso molecular descrito por Derrick & Bowen, 2003. Se realizó la comprobación de calidad e integridad de la molécula de ADN del aislamiento, mediante electroforesis en gel de agarosa al 0,8 % y un volumen de carga de 6  $\mu$ L y también por pruebas espectrofotométricas, estimando la concentración y pureza de las muestras de ADN genómico.

Luego, a través de la técnica de PCR, usando un termociclador, fue posible lograr la amplificación de los fragmentos de interés para ambos genes estudiados (PON-1= fragmento de 111 pares de bases nitrogenadas y NOS-3=fragmento de 206 pares de bases nitrogenadas). Este hecho se comprobó para los dos genes mediante electroforesis en gel de agarosa al 2,5% y un volumen de carga de 3  $\mu$ L. Posteriormente, se llevó a cabo el ensayo RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) con enzima de digestión Hinf-I para PON-1 y con la enzima Mbo-I para NOS-3, con el fin de dilucidar si los fragmentos aislados de cada gen se separaban de forma que indicasen la presencia o no del polimorfismo, lo cual se comprobó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida al 12 %.

### **5.2.5 Análisis Estadístico**

Para el manejo estadístico de los datos referentes al estudio de toxicidad con el modelo animal y a las pruebas genéticas se hizo un análisis con estadística descriptiva básica. Se presentan promedios, y desviaciones estándar, con un intervalo de confianza del 95%. Para el análisis del estudio clínico piloto se realizó una prueba de ANOVA utilizando el paquete estadístico Statistix 9.0. Se hizo una prueba de datos pareados, que gracias a su distribución normal, dió paso a la aplicación de una prueba *t* pareada.

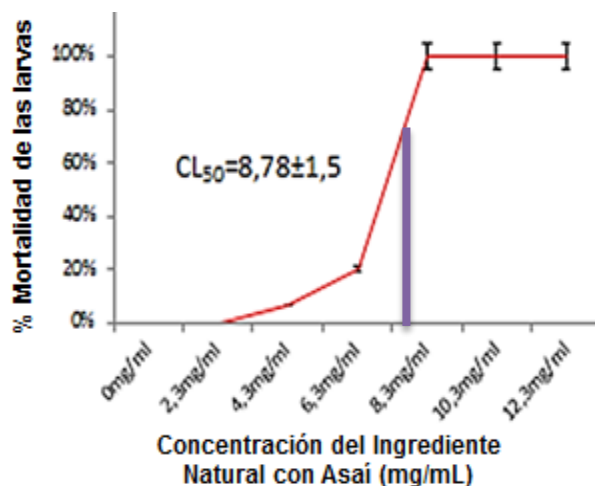
## 5.3 Resultados y Discusión

### 5.3.1 Pruebas toxicológicas

#### 5.3.1.1 Ensayo de Toxicidad

La relación concentración–mortalidad, permitió determinar un fenómeno causa-efecto, expresado en una curva (**Figura 5-1**), que permitió, a través de linealidad de la misma (calculada por el método probit) (**Figura 5-2**), calcular el valor de la dosis media letal o concentración que causa la muerte del 50% de la población larvaria ( $CL_{50}$ ), transcurridas las 8 horas de tratamiento (Álvarez et al., 2013). Cabe destacar entonces que  $8,78 \pm 1,5$  mg/mL del ingrediente natural de asai, inducen el porcentaje de mortalidad ya mencionado.

**Figura 5-1:** Relación entre la concentración de asai y el porcentaje de mortalidad de las larvas de pez cebrá, transcurridas 8 horas de tratamiento.

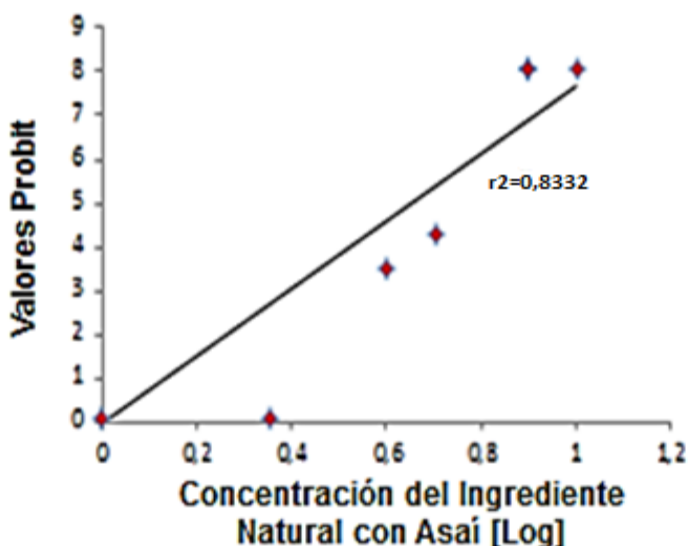


Se representan valores promedio  $\pm$  DE (desviación estándar). n=30.

El método Probit es un método de análisis paramétrico, que permite establecer relaciones de regresión, transformando cada dosis (d) a una escala logarítmica donde  $X = \log_{10}(d)$ . Con las tablas de Probit se transforma p (porcentaje de efecto) a unidades probit (buscando en una tabla de distribución normal el valor de z correspondiente a una

probabilidad acumulada igual a  $p$  y sumándole a continuación cinco unidades). Finalmente, se obtiene una distribución de puntos en un sistema bivariado de tipo lineal, los cuales se procesan según un análisis de regresión típico tal como lo ilustra la **Figura 5.2**, donde también puede verse que el  $r^2$  determina un buen ajuste de los datos obtenidos al modelo de análisis.

**Figura 5-2:** Representación gráfica de la línea de regresión de la relación concentración–respuesta en el porcentaje de mortalidad de las larvas de pez cebra, transcurridas 8 horas de tratamiento.



### 5.3.1.2 Cambios Morfológicos

Los registros fotográficos de la población larvaria, a distintas concentraciones de asai, permitieron describir los cambios morfológicos (**Figura 5-3**). Se destaca que a medida que se incrementa la concentración el fenómeno de curvatura troncal y adelgazamiento de las larvas resultan más evidentes, así como su cambio de color, sobre todo en las últimas microfotografías donde se está cerca y se sobrepasa (respectivamente) el valor  $CL_{50}$ .

**Figura 5-3:** Cambios morfológicos de las larvas de pez cebra tratadas con diferentes concentraciones del ingrediente natural de asai (*Euterpe precatória* Mart.) por 24 horas de incubación.



Los datos anteriores confirman que el pez cebra es un modelo altamente reproducible y extrapolable al ser humano para establecer concentraciones seguras de sustancias de consumo a través de alimentos o fármacos. Estudios como el de Howe et al., 2013 y el de Goldsmith- Jobin, 2012, ponen de manifiesto como aproximadamente el 70% de los genes humanos, tienen por lo menos un análogos en el pez cebra. Así, si se quisiera extrapolar los datos obtenidos en el presente estudio al ser humano, sería necesario conocer el peso del individuo y el suministro de la bebida por cada unidad de peso, sin embargo los cálculos expresados con el peso corporal de un sujeto promedio, indican que para llegar a la mortalidad, sería necesario consumir más de la mitad del mismo en la bebida de asai estudiada, lo cual no corresponde a la lógica de consumo en grupos humanos.

### 5.3.2 Intervención en sujetos sanos

En la **Tabla 5-3** se presenta la edad y el sexo de los participantes. Mediante la evaluación médica realizada se pudo comprobar que se encontraban en buen estado de salud desde el punto de vista físico y metabólico, antes de iniciar el estudio de intervención.

**Tabla 5-3:** Edad y sexo de los participantes del estudio clínico piloto

Individuo	Edad (años)	Sexo
1	24	F
2	47	F
3	34	M
4	54	F
5	44	M
6	27	F
7	52	M
8	42	M
Edad promedio	41 Años	

El test de Shapiro Wilk aplicado a las medidas antropométricas que se evaluaron en los voluntarios del estudio, antes y después de una semana de la toma diaria de la bebida con *asai*, indicó que los datos se comportaron bajo una tendencia normal (Peso:  $p=0,0567$ ; Talla:  $p=0,1259$ ; C. Cintura:  $p=0,0941$ ; IMC:  $p=0,0814$ ), por lo que se aplicó la prueba *t* paramétrica que mostró que las medidas corporales no cambiaron de forma significativa (**Tabla 5-4**), al igual que los hallazgos obtenidos en relación al análisis químico de los recordatorios de 24 horas de los pacientes.

**Tabla 5-4:** Variables antropométricas antes y después de la ingesta de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai

Medida/Índice Antropométrico	Antes del consumo de la bebida con asai		Después del consumo por una semana de la bebida con asai		$p^*$	Tcal**
	Promedio	DE***	Promedio	DE***		
Peso	71,5	±19,546	72,0	±18,272	0,7298	-0,35
Talla	1,697	±0,1430	1,699	±0,1525	0,9183	-0,10
C. Cintura	87,9	±13,531	88,3	±9,5442	0,5274	-0,65
IMC	24,8	±4,5922	24,9	±3,9081	0,6599	-0,45

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

\*\*Tcal=T calculado. Prueba T paramétrica

\*DE=Desviación Estándar

Con lo anterior, se puede afirmar que los cambios observados en los marcadores bioquímicos evaluados, no se relacionaron con el consumo de alimentos, ya que este permaneció constante durante el estudio (cantidad de calorías y nutrientes consumidos) (**Tabla 5-5**). Se pudo corroborar, mediante el análisis del recordatorio de 24 horas y de la frecuencia cualitativa de consumo por grupos de alimentos, que los pacientes siguieron la indicación de restringir las bebidas alcohólicas en general (principalmente vino) y el consumo de chocolate oscuro, de consumo muy usual y frecuente en la población evaluada. Vale la pena resaltar que los datos presentados sobre la evaluación de la ingesta son limitados y permiten tener una imagen muy general del consumo de alimentos por parte de los participantes; idealmente estas determinaciones deberían hacerse a diario.

**Tabla 5-5:** Ingesta de macro y micronutrientes de los pacientes antes (a) y después (b) del consumo por una semana de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai

a) Antes:

Nutriente	Antes del consumo de la bebida con asai								Promedio
	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Paciente 6	Paciente 7	Paciente 8	
Proteína (g)	75,8	78,9	61,9	79,6	80,4	83,6	72,9	78,9	76,5
Grasa (g)	82	90,1	79,5	95	91,4	84,3	94,6	82,4	87,4
Carbohidratos (g)	357,8	320,1	335,7	310,5	320,6	319,1	317,2	322,5	325,4
Calcio (mg)	976	1200	945	937	1020	1300	1365	897	1080
Fósforo (mg)	897	1047	947	923	1049	1298	1479	934	1072
Hierro (mg)	13,7	12,9	12,9	11,8	11,8	11,8	11,9	12,6	12,4
Vitamina A (ER)	257	392	398	203	393	359	234	308	318
Vitamina C (mg)	59	65	86	57	62	72	87	57	68

b) Después

Nutriente	Después del consumo por una semana de la bebida con asai								Promedio	p*	Tcal**
	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Paciente 6	Paciente 7	Paciente 8			
Proteína (g)	75,1	79,1	62,4	78,3	79,4	80,2	70,1	73,9	74,8	0,321	0,12
Grasa (g)	91,2	92,5	87,5	96,7	91,4	94,3	95,6	89,4	92,5	0,5321	-0,76
Carbohidratos (g)	346,6	319,7	329,7	319,2	328,6	319,2	349,2	329,3	330,2	0,8736	0,87
Calcio (mg)	1000	1186	945	967	1145	1257	1310	934	1093	0,7322	0,45
Fósforo (mg)	903	1059	1010	994	1053	1294	1427	956	1087	0,3797	-0,98
Hierro (mg)	12,7	13,6	13,1	12,3	11,3	11,5	12	12,1	12,3	0,2653	-0,23
Vitamina A (ER)	249	350	401	236	386	351	250	305	316	0,2445	-0,98
Vitamina C (mg)	61	63	81	59	61	74	82	55	67	0,5776	-0,56

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%, respecto a los datos antes del consumo de la bebida

\*\*Tcal=T calculado. Prueba T paramétrica

Todos los resultados de las pruebas bioquímicas que se hicieron con las muestras de los pacientes fueron sometidas a la prueba de normalidad, que arrojó que todos los datos se comportaron bajo una distribución típicamente normal (Colesterol total: p=0.0554; Colesterol HDL: p=0.2139; Colesterol LDL: p=0.4366; Colesterol VLDL: p=0.4094; Triglicéridos: p=0.1; Glicemia basal: p=0.7596; Ácido úrico: p=0.5669; Creatinina: p=0.1249; Agregación plaquetaria – ADP: p=0.0511; Colágeno: p=0.2450; Epinefrina: p=0.1544; 8-Isoprostano: p=0.2616; Óxido nítrico: p=0.4436); se realizaron entonces análisis paramétricos.

En ese orden de ideas, en relación a los marcadores bioquímicos que se seleccionaron para estudiar el efecto agudo del consumo de la bebida con asai, el análisis de varianza determinó que no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en los triglicéridos, la glicemia, ni en la agregación plaquetaria, entre el estado basal y luego de 2 horas de tomar el producto. En la **Tabla 5-6** se presentan los promedios de las pruebas en sangre.

**Tabla 5-6:** Indicadores bioquímicos evaluados en los voluntarios de forma basal y luego de dos horas de la ingesta de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai

Indicador Bioquímico		Antes del consumo de la bebida con asai		2 horas después del consumo de la bebida con asai		$p^*$
		Promedio	DE**	Promedio	DE**	
Glicemia		90,63	2,5122	84,50	2,9008	0,2266
Triglicéridos		144,13	16,266	139,33	18,783	0,7089
Agregabilidad Plaquetaria	ADP	58,53	3,9861	68,07	4,6028	0,3025
	Colágeno	68,51	3,1229	64,39	3,6060	0,6440
	Epinefrina	59,04	5,9288	55,97	6,8460	0,9404

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

\*\*DE=Desviación Estándar

Bajo esta misma tendencia, al comparar las variables bioquímicas estudiadas en el grupo de humanos voluntarios, durante su evaluación basal y luego de 7 días de tratamiento con la bebida, no fue posible demostrar cambios favorables en estos indicadores metabólicos, ya que mediante la prueba *t* pareada pudo observarse que no existieron diferencias significativas entre todas las pruebas. En la **Tabla 5-7** se muestran los promedios de todos los paraclínicos y los resultados del análisis estadístico propuesto.

**Tabla 5-7:** Indicadores bioquímicos evaluados en los voluntarios de forma basal y después del consumo por una semana de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai

Indicador Bioquímico		Antes del consumo de la bebida con asai		Después del consumo por una semana de la bebida con asai		$p^*$	Tcal**
		Promedio	DE***	Promedio	DE***		
Perfil lipídico	Colesterol Total	184,63	40,068	182,71	38,819	0,7343	-0,35
	Colesterol HDL	49,25	13,68	49,86	12,469	0,9548	0,06
	Colesterol LDL	104,25	35,44	103,14	35,00	0,8764	-0,16
	Colesterol VLDL	29,80	9,62	29,66	11,09	0,2347	-1,25
	Triglicéridos	144,13	16,266	143,43	17,39	0,2879	-1,02
Glicemia basal		90,63	2,5122	90,71	2,6857	0,5987	1,76
Ácido úrico		4,80	0,8992	5,24	1,1516	0,4182	-0,84
Creatinina		0,75	0,2138	0,71	0,1952	0,7423	0,34
Agregabilidad Plaquetaria	ADP	58,53	3,9861	60,96	4,2613	0,7682	1,67
	Colágeno	68,51	3,1229	68,35	3,3385	0,3870	0,39
	Epinefrina	59,04	5,9288	58,43	6,3381	0,4965	-1,98

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

\*\*Tcal=T calculado. Prueba T paramétrica

\*\*\*DE=Desviación Estándar

La evaluación de los biomarcadores específicos que se tomaron como referencia para dilucidar el impacto de la bebida con asai, sobre los beneficios concretos que se le han otorgado a los bioactivos tipo antioxidantes presentes en esta fruta tropical, mostraron comportamientos similares luego de la semana del estudio, tal como se puede ver en la **Tabla 5-8**. Así pues, sólo el 8-isoprostano, marcador relacionado con el estrés oxidativo, tuvo una disminución estadísticamente significativa en el rango de tiempo ya mencionado, mientras que el óxido nítrico, a pesar de mostrar un aumento positivo, no mostró una diferencia significativa entre la medición basal y a los 7 días posconsumo del producto con asai. Este hecho se comprobó según los resultados de la prueba *t* pareada.

**Tabla 5-8:** Biomarcadores específicos para la estimación de estrés oxidativo y disfunción endotelial en estado basal y después del consumo por una semana de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai

Biomarcador	Antes del consumo de la bebida con asai		Después del consumo por una semana de la bebida con asai		$p^*$	Tcal**
	Promedio	DE***	Promedio	DE***		
8-Isoprostano	68,34	5,3726	60,90	7,7121	0,0461	1,90
Óxido nítrico	16,705	0,8275	18,320	1,1941	0,2620	-1,17

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

\*\*Tcal=T calculado. Prueba T paramétrica

\*\*\*DE=Desviación Estándar

Los hallazgos anteriores, ponen de manifiesto la importancia de medir el efecto de marcadores de estrés oxidativo y difusión endotelial, apreciando que existe una acción antioxidante de la bebida de asai, posiblemente dada por su contenido de polifenoles totales y el poder antioxidante de la pulpa presente en el ingrediente natural base del producto. Éstos se relacionarían entonces con la disminución del estrés oxidativo y en consecuencia con la prevención de procesos inflamatorios y el desencadenamiento de eventos cardiovasculares.

Lo afirmado anteriormente indica que, tal como lo respalda la literatura científica, los regímenes de alimentación donde se incluyen frutas y verduras, son más aptos para lograr el aumento de la capacidad antioxidante del plasma (Cao et al., 1998) y por ende lograr una asociación inversa entre la ingesta de sustancias biológicamente activas (como los antioxidantes tipo polifenoles) y el riesgo de enfermedades no transmisibles (ENT) como las cardiovasculares y la diabetes (Fernandez-Panchon et al., 2008; Arts & Hollman, 2005). Los estudios preclínicos han informado de que los compuestos polifenólicos tienen efectos beneficiosos sobre la absorción de glucosa, los niveles de insulina y metabolismo de los lípidos (Dembinska-Kiec et al., 2008).

Resultados semejantes a los anteriores fueron observados por diferentes autores para el caso del asai. Jensen et al., 2008, con la participación de doce voluntarios, obtuvieron

resultados positivos en cuanto a la reducción de la peroxidación lipídica (un factor de riesgo asociado al desarrollo de aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares, diabetes e hipertensión) tras el consumo de una mezcla de jugo de asai (Mona Vie®). Mertens-Talcott et al., 2008 comprobaron la capacidad antioxidante en plasma aumentó en cada sujeto del estudio hasta 3 y 2,3 veces tras el consumo de pulpa de asai y el jugo clarificado del fruto. Udani et al., 2011 realizaron un estudio donde se evaluó el efecto de la pulpa de asai sobre algunos factores de riesgo para Síndrome Metabólico a través de un estudio piloto con 10 adultos con sobrepeso. Luego de 30 días de consumo de asai los investigadores observaron reducciones significativas en la glucosa en ayunas, los niveles de insulina, el colesterol total, colesterol-LDL y en la relación Colesterol total - Colesterol-HDL de los participantes.

De otra parte, en lo referente a la tensión arterial sistólica (TAS) y la tensión arterial diastólica (TAD), con los datos obtenidos de los sujetos sanos se hizo inicialmente una prueba de normalidad para decidir si se usaba un método paramétrico o no en la comparación de resultados entre el estado basal y luego de una semana. El test Shapiro Will indicó que los datos tuvieron una distribución normal para las dos presiones (sistólica  $p=0,169$ ; diastólica  $p=0,1697$ ). La prueba  $t$  para las presiones sistólica ( $t_{cal}=0,36$ ;  $p=0,7210$ ) y diastólica ( $t_{cal}=-0,14$  y  $p=0,8909$ ), indicó que no hubo diferencias significativas tras el consumo de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai, es decir que la bebida no marcó un impacto sobre las cifras tensionales de los pacientes. En la **Tabla 5-9** se presentan los promedios de las cifras tensionales de los pacientes antes y después del suministro del producto en estudio.

**Tabla 5-9:** Evaluación de la Tensión Arterial (TA) en los participantes del estudio de intervención antes y tras una semana de la ingesta de la bebida formulada con el ingrediente natural de asai

Componente	Antes del consumo de la bebida con asai		Después del consumo por una semana de la bebida con asai		p*
	Promedio	DE**	Promedio	DE**	
Tensión arterial sistólica (TAS)	118,4	5,9	118,7	2,7	0,8863
Tensión arterial diastólica (TAD)	81,6	6,1	80,4	6,5	0,7210

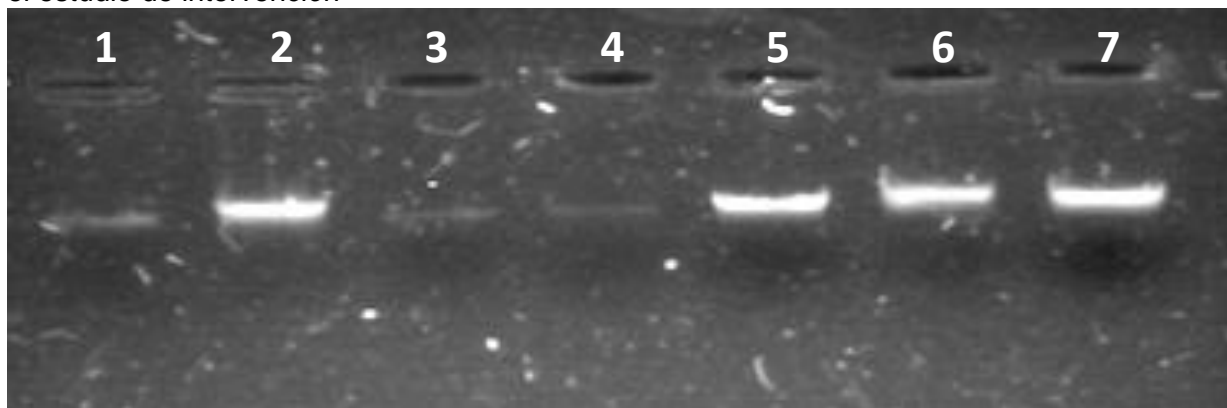
\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

\*\*DE=Desviación Estándar

### 5.3.3 Influencia genética en la respuesta antioxidante

Fue posible realizar la comprobación de la calidad e integridad de la molécula de ADN del aislamiento de cada uno de los participantes del estudio. Así pues, en la Figura 5-4, puede verse que para todos participantes se logró hacer extracción efectiva de su material genético y tal como se muestra en la Tabla 5-10, la concentración y pureza de las muestras de ADN genómico, estuvieron dentro del rango de pureza esperado (0 a 2 nm), siendo solo la muestra del paciente 3 la que tuvo la pureza más baja.

**Figura 5-4:** Electroforesis en gel de agarosa al 0.8 % y un volumen de carga de 6 µL de las muestras de ADN aisladas del suero sanguíneo de los voluntarios que participaron en el estudio de intervención



Se muestra la numeración para los pacientes participantes.

**Tabla 5-10:** Concentración y Pureza de las muestras de ADN g extraídas

Muestra-Paciente	Concentración (µg/mL)	Pureza (Relación $ABS_{260/280}$ )*
1	70	2
2	91	2
3	100	1,25
4	30	2
5	10	2
6	50	2
7	118	2
Promedio	67	1,89
DE**	39,12	0,28

\*1 unidad ABS 260nm = 50ug/mL

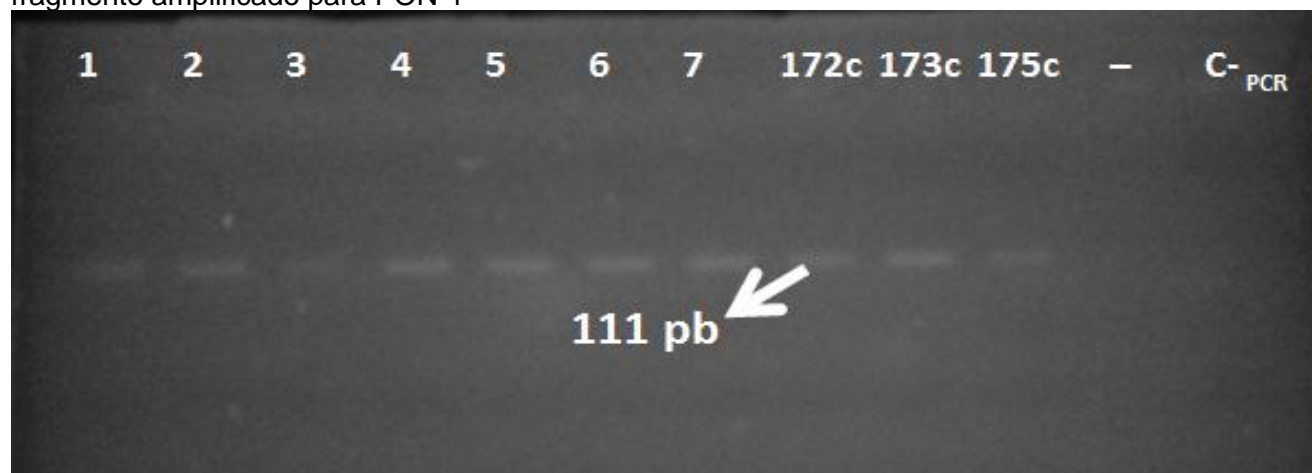
Rango de pureza 0-2. Más puro cercano a 2.

\*\*DE=Desviación Estándar

### 5.3.3.1 Polimorfismo C.455A>G PON-1 (Paraxonasa-1)

En la **Figura 5-5** puede verse que la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), como técnica de diagnóstico molecular, fue efectiva para lograr la amplificación del fragmento genético de interés con 111 pares de bases nitrogenadas, dentro del gen que codifica las proteínas para la síntesis de la enzima Paraxonasa-1. Las muestras 172c, 173c y 175 c se añadieron durante la electroforesis como control positivo, así como una muestra control negativo en la parte derecha del gel.

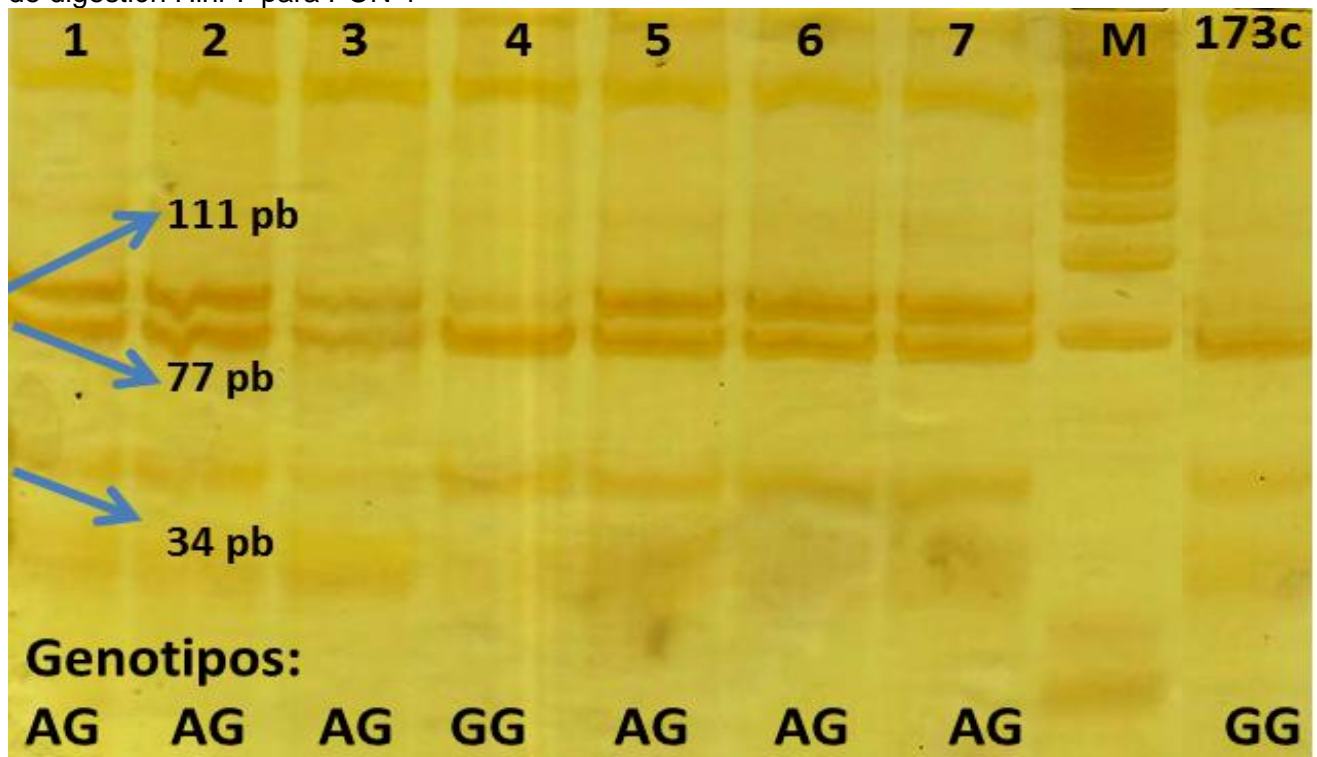
**Figura 5-5:** Electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % y un volumen de carga de 3 µL del fragmento amplificado para PON-1



Se incluyó un control negativo de digestión (C<sub>D</sub>)

Durante el ensayo de restricción enzimática con el fragmento ya aislado, usando la enzima de digestión Hinf-I, fue posible lograr la identificación de los genotipos de los participantes en relación a los fragmentos de bases nitrogenadas que se visualizaron en la electroforesis correspondiente (Figura 5-6). Así pues, todos los voluntarios fueron heterocigotos normales, excepto el número 4 que exhibió un genotipo homocigoto mutado para AR G (GG) (Pestana et al., 2010).

**Figura 5-6:** Electroforesis en gel de poliacrilamida al 12 % para el ensayo –RFLP enzima de digestión Hinf-I para PON-1



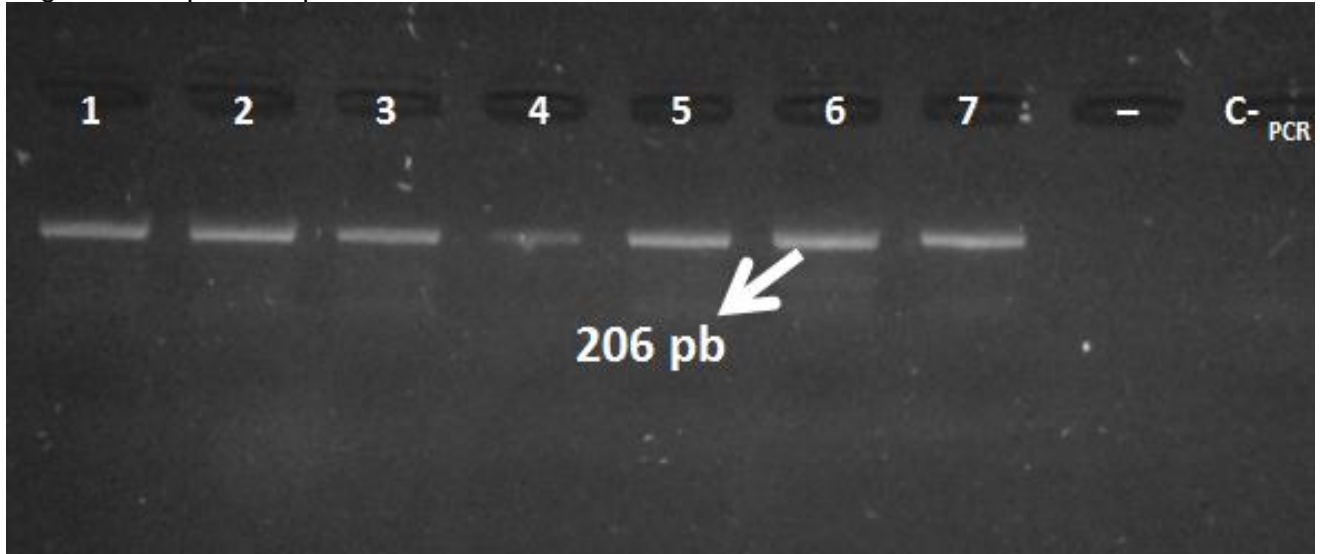
M: Marcador de peso Molecular  
Se incluyó la muestra 173c, que es de genotipo conocido GG

### 5.3.3.2 Polimorfismo C. 984G>T NOS-3 (Óxido-Nítrico sintasa endotelial),

En la **Figura 5-7** se observa que al igual que para el estudio del gen que codifica para PON-1, la técnica PCR fue ideal para lograr la amplificación del fragmento genético de interés, que para el caso del gen que codifica para la enzima endotelial NOS-3, constaba

de 206 pares de bases nitrogenadas. Se añadió un control negativo en la parte derecha del gel.

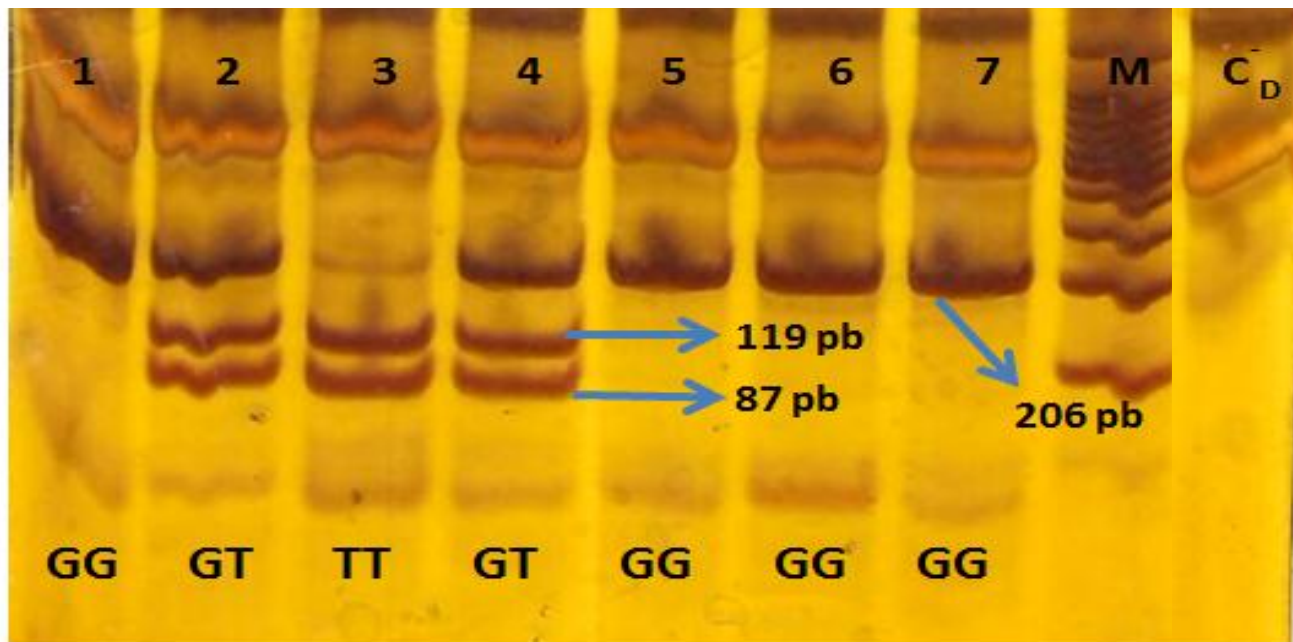
**Figura 5-7:** Electroforesis en gel de agarosa al 2.5 % y un volumen de carga de 3  $\mu$ L del fragmento amplificado para NOS-3



Se incluyó un control negativo de digestión (C<sub>D</sub>)

El ensayo de restricción enzimática con el fragmento ya aislado (**Figura 5-8**), usó la enzima de digestión Mbo-I para la identificación de los genotipos de los participantes en función a los fragmentos de bases nitrogenadas que se visualizaron en el gel de poliacrilamida. La presencia del AR T fue detectada como fragmentos de ADN de 119 y 87 pares de bases, mientras que el alelo G como la presencia total y única del fragmento amplificado por la técnica PCR y finalmente, los tres fragmentos antes descritos, para definir un genotipo heterocigoto. Como resultado principal, se obtuvo que 4 pacientes fueron homocigotos normales (GG), 2 pacientes heterocigotos GT y solamente un paciente (3), homocigoto mutado con el AR (TT).

**Figura 5-8:** Electroforesis en gel de poliacrilamida al 12 % para el ensayo – RFLP enzima Mbo-I para NOS-3



M: Marcador de peso Molecular  
Se incluyó un control negativo de digestión (C<sub>D</sub>)

La distribución de los genotipos y las frecuencias de los alelos para los genes evaluados, mostraron entonces que tres pacientes tienen AR en el gen que codifica para óxido nítrico sintasa, mientras que un sólo voluntario tuvo AR en el gen para la Paraxonasa-1 (Tabla 5-11). En este sentido, para los participantes 2, 3 y 4 es de esperar que su respuesta vasodilatadora ante el consumo de antioxidantes provenientes de la bebida de asai no se directamente proporcional, ya que de por sí, su síntesis de óxido nítrico en el endotelio está disminuida. Para el caso de la Paraxonasa – 1, el paciente 4 presenta nuevamente el AR, lo cual permite inferir que además de tener tendencia a la vasoconstricción, su respuesta antioxidante en las lipoproteínas de baja densidad (LDL) está disminuida, por lo cual este tipo de partículas grasas son más susceptibles a la precipitación y oxidación, con la consecuente predisposición a la generación de radicales libres y aparición de trastornos cardiovasculares, como la aterosclerosis (Pestana et al., 2010).

**Tabla 5-11:** Distribución de genotipos en la evaluación de los polimorfismos para PON-1 y NOS-3 en los participantes del estudio clínico piloto

Paciente	Genotipos	
	PON1 c.455 A>G	NOS3 c.984 G>T
1	AG	GG
2	AG	GT
3	AG	TT
4	GG	GT
5	AG	GG
6	AG	GG
7	AG	GG

Al evaluar la relación de los distintos genotipos para PON-1 y NOS-3, con los biomarcadores específicos que miden la acción de los antioxidantes tipo antocianinas que se encuentran en la bebida con *asai*, el ANOVA indicó que no hubo interacción entre las mediciones bioquímicas de 8-isoprostano y de óxido nítrico, con la presencia de AR en los participantes en el estudio (**Tabla 5-12**).

**Tabla 5-12:** Análisis de varianza para los biomarcadores que miden funcionalidad de los antioxidantes presentes en el producto evaluado, en función del impacto de los polimorfismos identificados.

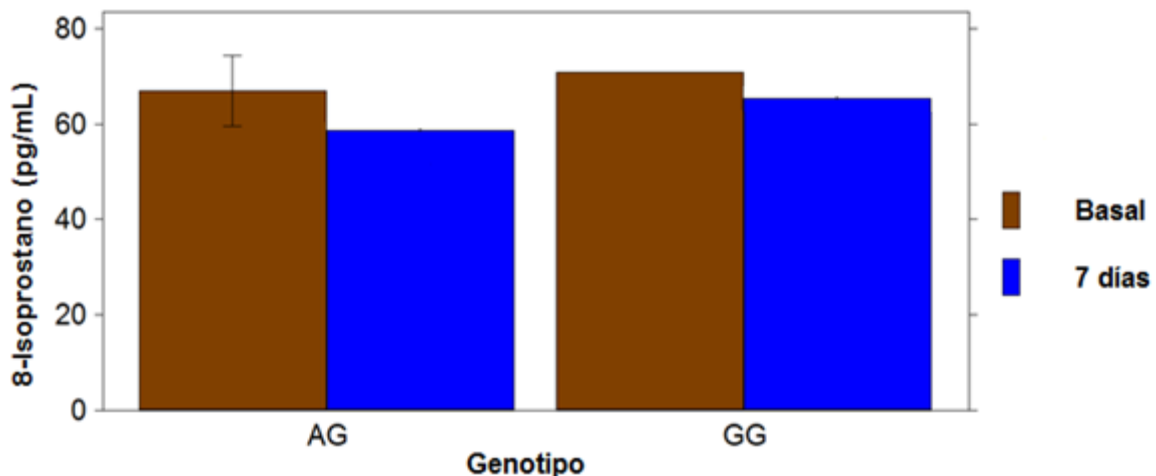
Biomarcador	Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrática	$F_c$	$p^*$
8-Isoprostano	8-isoprostano	88.410	1	88.4097	1.78	0.2147
	Genotipo	16.744	1	16.7438	0.34	0.5755
	8-isoprostano * Genotipo	0.895	1	0.8945	0.02	0.8961
	ERROR	446.508	9	49.6120		
	TOTAL		12			
Óxido Nítrico	Óxido Nítrico	3.87054	1	3.87054	3.95	0.0872
	Genotipo	0.68538	2	0.34269	0.35	0,7165
	Óxido Nítrico* Genotipo	2.12909	2	1.06455	1,09	0.3882
	ERROR	6.85854	7	0.97979		
	TOTAL		12			

\*Calculado con un intervalo de confianza del 95%

Ahora bien, a pesar de no evidenciar diferencias significativas al nivel estadístico propuesto, es evidente que para los valores de 8-isoprostano si se logró identificar un

comportamiento diferencial según el genotipo. Así, tal como lo muestra la **Figura 5-9**, el paciente homocigoto con el alelo de riesgo tuvo mayores cifras del biomarcador tanto en el estado basal como luego de la semana del consumo de la bebida, en comparación con el resto de pacientes heterocigotos normales. Ahora bien, precisamente en este último grupo, se logró visualizar una reducción positiva más importante del biomarcador que en el paciente 4 con el alelo de riesgo G, que definitivamente lo hace más susceptible a generar productos de la oxidación lipídica como el 8-isoprostano y a que los antioxidantes no sean capaces de presentar el efecto esperado a nivel metabólico, ya que este individuo tiene un polimorfismo que condiciona la expresión de presentar mayor oxidación *per se*.

**Figura 5-9:** Asociación entre el genotipo para PON-1 y los valores de 8- Isoprostano



En pro de entender el por qué el 8-isoprostano es considerado un marcador de estrés oxidativo y cuál es su importancia, debe recordarse que este compuesto pertenece a la familia de los isoprostanos, los cuales son ecosanoides originados a partir de la oxidación de los fosfolípidos por radicales libres; así, el 8-isoprostano es considerado un detector de estrés oxidativo en las partículas de colesterol LDL, determinando grado de susceptibilidad de éstas a la peroxidación lipídica. La determinación de F2-isoprostanos es actualmente el método más confiable para determinar el estrés oxidativo in vivo. En particular, el 8-isoprostano está considerado como un marcador de déficit de antioxidantes y de estrés oxidativo para evaluar patología vascular. Estos hallazgos

señalan que niveles elevados de 8-isoprostanos en el plasma están asociados con la extensión y la severidad de la enfermedad coronaria y con la aparición de diferentes factores de riesgo aterogénico, siendo evidente una clara relación con la carga genética de los individuos (Vassale et al.,2003).

## 5.4 Conclusiones

Fue posible determinar la dosis máxima de consumo del producto en el modelo animal (8,3mg/mL) y obtener resultados positivos en la reducción del 8-isoprostano como biomarcador de estrés oxidativo en los voluntarios sanos (de 68,34 a 60,90  $\mu\text{mol/mL}$ ). Se evidenció relación directa entre las cifras en sangre de este derivado de la oxidación lipídica y la presencia polimorfismos genéticos, Así pues, se muestra el potencial funcional del asai especie *precatoria*, por lo cual valdría la pena postular a este fruto como una fuente promisorias antioxidantes y compuestos naturales, de gran interés para la industria de alimentos en el contexto del desarrollo de alimentos funcionales. Es necesario ampliar estos primeros hallazgos en estudios clínicos con un diseño más riguroso y por un lapso de tiempo mayor.

## Bibliografía

- Álvarez M, Urbina G, Perdomo L. Excretion Product of *Shigella dysenteriae* (SdyEP) Induced Cell Death in Early Larval Stage of Zebrafish (*Danio rerio*): Acridine Orange and Ethidium Bromide (AO/EB) in vivo Staining. *Int. J. Morphol.* 2013;31(4):1175-1180.
- Arts IC, Hollman PC. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81:317S-325S.
- Cao G, Booth SL, Sadowski JA, Prior RL. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr* 1998, 68:1081-1087.
- Castillo Y, Hernández M, Lares M. Caracterización bromatológica y fisicoquímica del fruto amazónico asai (*Euterpe precatoria* Mart). *Vitae.* 2012; 19(1):309-311.
- Castillo Y, Hernández M, Lares M (a). Componentes bioactivos del asai (*Euterpe oleracea* Mart y *Euterpe precatoria* Mart) y su efecto sobre la salud. *Archivos venezolanos de farmacología y terapéutica.* 2013; 32(1).
- Castillo Y, Hernández, M, Lares M (b). Effect of drying temperatures on content and antioxidant capacity of asai (*Euterpe precatoria* Mart). *Memorias V Congreso*

Venezolano de Ciencia y Tecnología de Alimentos "Dra. Mercedes Baragaño de Venezuela. 2013. (In press).

Castillo Y, Lares M, Gutierrez R, Hernandez M, Fernandez-Trujillo J (c). asai palm fruit bioactive compounds and impacts on health being. Proceedings of the F. Bioact. Process. Qual. & Nutr. Sciforum Electronic Conference Series. 2013; (1).

Castillo Y, Hernández M, Lares M (d). Formulation and evaluation of a powdered drink with antioxidant properties from asai fruit (*Euterpe precatória* Mart). Acta Horticulturae (Enviado Septiembre de 2013)

Del Pozo-Insfran DD, Percival SS, Talcott ST. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. J. Agric. Food Chem. 2006; 54(4):1222–1229.

Dembinska-Kiec A, Mykkanen O, Kiec-Wilk B, Mykkanen H. Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. Br J Nutr. 2008;99(E 1): ES109-ES117.

Fernandez-Panchon MS, Villano D, Troncoso AM, Garcia-Parrilla MC. Antioxidant activity of phenolic compounds: from in vitro results to in vivo evidence. Crit Rev Food Sci Nutr. 2008; 48:649-671.

Goldsmith JR, Jobin J. Think Small: Zebrafish as a Model System of Human Pathology. J Biomed Biotech. 2012;1:1-12

Hogan S, Chung H, Zhang L, Li J, Lee Y, Dai Y, et al. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. Food Chem. 2010; 118(2):208-14.

Howe K, Clark MD, Torroja CF, Torrance J, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. Nature. 2013;496:498-503.

Instituto Nacional de Salud de Venezuela. Tabla de Composición de Alimentos. 2000

Jensen GS, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, et al. *In vitro* and *in vivo* Antioxidant and Anti-inflammatory Capacities of an Antioxidant-Rich Fruit and Berry Juice Blend. Results of a Pilot and Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Crossover Study. J Agric Food Chem. 2008; 56(18):8326-33.

Kang J, Li Z, Wu T, Jensen GS, Schauss AG, Wu X. Antioxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). Food Chem. 2010; 122(3):610-7.

Kang J, Thakali KM, Xie C, Kondo M, Tong Y, Ou B, Jensen G, Medina MB, Schauss AG, Wu X. Bioactivities of Açai (*Euterpe precatória* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. Food Chem.2012; 133:671–677.

- Kimmel CB, Ballard WW, Kimmel SR, Ullmann B, Schilling TF. Stages of embryonic development of the Zebrafish. 1995; 203(3):253-310.
- Lee R, Balick MJ. Palms, people, and health. *Explore*. 2008; 4(1):59–62.
- Lichtenthaler R, Belandrino R, Maia J, Papaianopoulos M, Fabricius H, Marx F. Total antioxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart (Asai). *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2005; 56(1):68–75.
- Matheus ME, De Oliveira-Fernandes SB, Silva-Silveira C, Pinto-Rodrigues V, De Sousa-Menezes F, Dias-Fernandes, P. Inhibitory effects of *Euterpe oleracea* Mart. on nitric oxide production and iNOS expression. *J Ethnopharmacol.* 2006;107: 291–296.
- Mertens-Talcott S, Rios J, Jilma-Stohlawetz P, Pacheco-Palencia LA, Meibohm B, Talcott ST, Derendorf H. Pharmacokinetics of Anthocyanins and Antioxidant Effects after the Consumption of Anthocyanin-Rich Acai Juice and Pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) in Human Healthy Volunteers. 2008; 56:7796–7802.
- Noratto GD, Angel-Morales G, Talcott ST, Mertens-Talcott SU. Polyphenolics from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and red muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) protect human umbilical vascular endothelial cells (HUVEC) from glucose- and lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and target miRNA-126. *J. Agric. Food. Chem.* 2011; 59: 7999–8012.
- Oliveira de Souza M, Silva M, Silva ME, De Paula Oliveira R, Pedrosa ML. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. *Nutrition.* 2010; 26: 804-810.
- OMS. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. [en línea]. 2013. [Citado Enero de 2014]. Disponible en: [[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/94384/1/9789241506236\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/94384/1/9789241506236_eng.pdf)]
- Pacheco-Palencia LA, Duncan CE, Talcott ST. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial acai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chem.* 2009; 115(4):1199-205.
- Pacheco-Palencia LA, Hawken P, Talcott ST. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food Res Int.* 2007; 40(5):620-8.
- Pacheco-Palencia LA, Mertens-Talcott S, Talcott ST. In vitro absorption and antiproliferative activities of monomeric and polymeric anthocyanin fractions from açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chem.* 2010; 119:1071-1078.
- Pacheco-Palencia LA, Talcott ST, Safe S, Mertens-Talcott S. Absorption and biological activity of phytochemical-rich extracts from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and oil in vitro. *J. Agric. Food. Chem.* 2008; 56: 3593-3600.

- Pavan M, Schmidt S, Feng H. Water sorption behavior and thermal analysis of freeze-dried, Refractance Window-dried and hot-air dried açai (*Euterpe oleracea* Martius) juice. *Food Sci. Technol.* 2012; 48:75-81.
- Peña LF, Barrera JA, Hernández MS. Obtención de la pulpa de asai (*Euterpe precatória* Mart) en la amazonía norte colombiana. *Vitae.* 2012; 19: 309-311.
- Pestana C, Lares M, Britto S, Porco A. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene and acute myocardial infarction. A case-control study in Venezuela. *Rev Lat Hipertensión.* 2010; 5(3): 53-57
- Rufino MDSM, Pérez-Jiménez J, Arranz S, Alves RE, de Brito ES, Oliveira MSP, Saura-Calixto F. Açai (*Euterpe oleracea*) 'brs pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. *Food Res Int.* 2011; 44: 2100-2106.
- Sabbe S, Verbeke W, Deliza R, Matta V, Van Damme P. Effect of a health claim and personal characteristics on consumer acceptance of fruit juices with different concentrations of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Appetite.* 2009; 53: 84-92.
- Sanabria N, Sangronis E. Caracterización del asai o manaca (*Euterpe oleracea* Mart.): un fruto del Amazonas. *Arch Latinoam Nutr.* 2007;57:94–99.
- Schauss (a) AG, Wu RL, Ou B, Patel D, Huang D, Kababick JP. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry *Euterpe oleracea* Mart (Asai). *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(22):8598–8603.
- Schauss (b) AG, Wu X, Prior RL., Ou B, Huang D, Owens J, Agarwal A, Jensen GS, Hart AN, Shanbrom E. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(22): 8604–8610.
- Stoner GD, Wang LS, Seguin C, Rocha C, Stoner K, Chiu S, Kinghorn AD. Multiple berry types prevent n-nitrosomethylbenzylamine-induced esophageal cancer in rats. *Pharmaceutical Research.* 2010; 27:1138–1145.
- Udani JK, Singh BB, Singh VJ, Barrett ML. Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. *Nutrition Journal* 2011; 10(45):1-7.
- Vassale C, Botto N, Andreassi MG. Evidence for enhanced 8-isoprostane plasma levels, as an index. *Coron Artery Dis.* 2003;14(3):213-218.



## 6. Consideraciones Finales y Recomendaciones

### 6.1 Conclusiones

La pulpa de asai especie *precatória* propia de la región amazónica colombiana, estandarizada bajo condiciones de procesamiento en planta piloto, se caracteriza por ser un material vegetal inocuo con un alto contenido y capacidad antioxidante, dado por la presencia de polifenoles tipo antocianinas de la clase cianidin 3-glucósido, pero principalmente por su contenido de proantocianinas. Se destaca también su contenido graso, con un predominio del 70% m/v de ácido oléico en su composición, así como su contenido de fibra dietaria (22,9% m/m), especialmente la de tipo insoluble (21,6% m/m). Desde el punto de vista fisicoquímico, se trata de una pulpa newtoniana, de comportamiento ácido, que aporta una baja cantidad de sólidos solubles debido a las dinámicas industriales del despulpado.

El aprovechamiento innovador de la pulpa de asai (*Euterpe precatória* Mart) a través de su inclusión en una bebida en polvo, implicó la elaboración de un ingrediente natural que logro ser una herramienta ideal en pro de la dosificación y protección de los bioactivos contenidos en el material vegetal. El producto desarrollado logró tener características antioxidantes de interés para la salud (Fenoles Totales= 1,10 mg EAG/g y Capacidad Antioxidante ABTS = 924,07  $\mu$ mol TE/100g y DPPH=834,59  $\mu$ mol TE/100g) y, a nivel fisicoquímico y sensorial, mostró propiedades que cumplen con la normatividad vigente con un buen nivel de aceptabilidad por parte de los consumidores.

La evaluación de las características funcionales o de impacto sobre la salud de la bebida desarrollada, permitió en un primer momento establecer la seguridad de la pulpa de asai (*Euterpe precatória* Mart) usada, mediante ensayos modelo animal y posteriormente comprobar en una cohorte de humanos sanos, que el mayor impacto del producto

diseñado se traduce principalmente en la disminución de las cifras de biomarcadores de estrés oxidativo, principalmente el 8-isoprostano (68,34 a 60,90  $\mu\text{mol/mL}$ ), lo cual pone de manifiesto la existencia de una biomodulación metabólica en relación a la toma de la bebida.

## 6.2 Recomendaciones

Evaluar la relación costo beneficio del uso y escalamiento de nuevas tecnologías de secado como la liofilización y el secado por aspersion en las regiones productoras del fruto amazónico asai, considerando las demandas energéticas, especificaciones de los equipos y como punto principal, las pérdidas de los componentes bioactivos del fruto durante el procesamiento.

Estudiar a profundidad la interacción entre la adición de sacarosa a las bebidas y su capacidad antioxidante, profundizando en la validación de métodos químicos de eliminación de radicales o considerando la evaluación del potencial antioxidante del asai mediante métodos que permitan validar su comportamiento de manera más exacta, por ejemplo ensayos *in vitro* en diferentes modelos celulares. Este hecho también puede ser el punto de partida para evaluar y dilucidar los mecanismos que influyen en la digestión, absorción y metabolismo de los polifenoles tipo antocianinas en el cuerpo humano. Así mismo, llevar a cabo estudios de vida útil del ingrediente natural con asai desarrollado en la presente investigación, enfocándose en la prevención del deterioro de sus propiedades antioxidantes y de estabilidad a través del tiempo. Complementado esta perspectiva, será necesario profundizar en el desarrollo del empaque más adecuado para el producto, que ayude a controlar fotodegradación y humedad, entre otras variables.

Realizar estudios de intervención clínica con altas condiciones de rigurosidad. En este sentido, se propone que una vez agotados estos primeros hallazgos de la línea de base, se considere llevar a cabo estudios controlados, aleatorizados y placebo controlados, que involucren un mayor tiempo de exposición a la bebida y un número de participantes más amplio, con el fin de corroborar los efectos metabólicos del consumo del producto en el largo plazo.

## A. Divulgación de los Resultados

- CONGRESO INTERNACIONAL EN INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS (IICTA 2012)- ICTA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Bogotá. Junio de 2012. Comité organizador, Ponente y Asistente.

Título de la ponencia: CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA Y FISICOQUÍMICA DEL FRUTO AMAZÓNICO AÇAÍ (*Euterpe precatoria* Mart)

-V CONGRESO VENEZOLANO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DRA. MERCEDES BARAGAÑO DE MOSQUEDA

Caracas, Venezuela. Mayo de 2013. Ponente y Asistente.

Título de la ponencia: EFECTO DE LAS TEMPERATURAS DE SECADO SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL asai (*Euterpe precatoria* Mart).

-I CONGRESO DE DIABESIDAD - FENADIABETES - AVESO

Caracas, Venezuela. Junio de 2013. Ponente y Asistente.

Título del póster: asai (*Euterpe precatoria* Mart) FRUTO DEL AMAZONAS Y SU POSIBLE IMPACTO EN LA SALUD METABÓLICA.

-THIRD INTERNATIONAL CONFERENCE ON POSTHARVEST AND QUALITY MANAGEMENT OF HORTICULTURAL PRODUCTS OF INTEREST IN THE TROPICS- INTERNATIONAL SOCIETY HORTICULTURAL SCIENCE

Puerto España, Trinidad y Tobago. Julio de 2013. Ponente y Asistente.

Título de la ponencia: FORMULATION AND EVALUATION OF A POWDERED DRINK WITH ANTIOXIDANT PROPERTIES FROM asai FRUIT (*Euterpe precatoria* Mart)

- LATIN AMERICAN SYMPOSIUM OF FOOD SCIENCE. FOOD SCIENCE IMPACT ON NUTRITION AND HEALTH.

SLACA 2013.

Campinas, Brasil. Noviembre de 2013. Ponente y Asistente

Título de la ponencia: EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DE UNA BEBIDA EN POLVO DE asai (*Euterpe precatoria* Mart.) Y SU IMPACTO SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN MODELO IN VIVO

#### **PUBLICACIONES:**

- Caracterización bromatológica y fisicoquímica del fruto amazónico asai (*Euterpe precatoria* Mart). Yuri Milena Castillo, Mary Lares, María Soledad Hernández. Revista Vitae. Vol. 19, N°1, Pág. 309-311. Junio de 2012 – Medellín, Colombia. ISSN: 0121-4004.
- Componentes bioactivos del asai (*Euterpe oleracea* Mart y *Euterpe precatoria* Mart) y su efecto sobre la salud. Yuri Milena Castillo Quiroga. María Soledad Hernández Gómez. Mary lares. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. Vol. 32, N° 1. Enero de 2013 – Caracas, Venezuela. ISSN: 0798-0264.
- Bioactive compounds of asai palm fruit and their impact on health. Yuri M. Castillo, Mary Lares, Rafael H. Gutiérrez, María S. Hernández, J. Pablo Fernández-Trujillo. Proceedings of the F. Bioact. Process. Qual. & Nutr. Sciforum Electronic Conference Series. Volumen 1. 2013
- Efecto de las temperaturas de secado sobre capacidad antioxidante del asai (*Euterpe precatoria* Mart). Castillo Y, Hernández S, Lares M. Revista del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Central de Venezuela. Mayo 2013 (*In press*).

- 
- Formulation and evaluation of a powdered drink with antioxidant properties from asai fruit (*Euterpe precatoria* Mart). Yuri M. Castillo, María S. Hernández, Mary Lares. Acta Horticulturae. En proceso de publicación. Enviado
  
  - Evaluación toxicológica de una bebida en polvo de asai (*Euterpe precatoria* Mart.) y su impacto sobre biomarcadores de estrés oxidativo en modelo in vivo. Yuri M. Castillo, María S. Hernández, Mary Lares. En proceso de publicación. Memorias SLACA 2013.



## Bibliografía

- Del Pozo-Insfran DD, Percival SS, Talcott ST. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(4):1222–1229.
- Della P. Secado de alimentos por métodos combinados: Deshidratación osmótica y secado por microondas y aire caliente. [Tesis de Maestría en Tecnología de los Alimentos]. Buenos Aires: Universidad tecnológica Nacional. Escuela de Posgrado, Facultad regional Buenos Aires. 2010.
- Departamento Nacional de Planeación. Bases del Plan Nacional de Desarrollo (PND) 2010-2014 “Prosperidad para todos”. 2011.
- El-Sebaili SAA, Aboul-Enein MR, Ramadan I, El-Gohary HG. Empirical correlations for drying kinetics of some fruits and vegetables. *Energy.* 2002; 27 (9): 845-859.
- Espinoza J. Aplicación de un proceso de secado asistido infrarrojo para la deshidratación del fruto de Murtilla (*Ugni molinae* Turcz.). [Tesis para optar al título de ingeniero en alimentos]. Santiago de Chile: Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. 2011.
- Fennema OR. Química de alimentos. Zaragoza: Acribia; 2000.
- Gironés-Vilaplana A, Baenas N, Villaño D, Speisky H, García-Viguera C, Moreno D. Evaluation of Latin-American fruits rich in phytochemicals with biological effects. *J Funct Foods.* 2014;7(1): 599-608.
- GNPD. Global New Products Database [en línea]. 2013. [Citado Enero de 2014]. Disponible en: [<http://foodanddrink.mintel.com/>]
- Hogan S, Chung H, Zhang L, Li J, Lee Y, Dai Y, et al. Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin-rich extract from açai. *Food Chem.* 2010; 118(2):208-14.
- Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF). Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia, 2010. Bogotá, Colombia, 2010.
- Jensen GS, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, et al. *In vitro* and *in vivo* Antioxidant and Anti-inflammatory Capacities of an Antioxidant-Rich Fruit and Berry Juice Blend. Results of a Pilot and Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Crossover Study. *J Agric Food Chem.* 2008; 56(18):8326-33.

- Kang J, Li Z, Wu T, Jensen GS, Schauss AG, Wu X. Antioxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chem.* 2010; 122(3):610-7.
- Kang J, Thakali KM, Xie C, Kondo M, Tong Y, Ou B, Jensen G, Medina MB, Schauss AG, Wu X. Bioactivities of Açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. *Food Chem.* 2012; 133:671–677.
- Lichtenthaler R, Belandrino R, Maia J, Papaianopoulos M, Fabricius H, Marx, F. Total antioxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart (Asai). *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2005; 56(1):68–75.
- Matheus ME, De Oliveira-Fernandes SB, Silva-Silveira C, Pinto-Rodrigues V, De Sousa-Menezes F, Dias-Fernandes, P. Inhibitory effects of *Euterpe oleracea* Mart. on nitric oxide production and iNOS expression. *J Ethnopharmacol.* 2006;107: 291–296.
- OMS. Noncommunicable diseases country profiles [en línea]. 2011. [Citado Enero de 2014]. Disponible en: [[http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241502283\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241502283_eng.pdf)]
- Pacheco-Palencia LA, Duncan CE, Talcott ST. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial asai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chem.* 2009; 115(4):1199-205.
- Pacheco-Palencia LA, Hawken P, Talcott ST. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of asai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food Res Int.* 2007; 40(5):620-8.
- Pacheco-Palencia LA, Mertens-Talcott S, Talcott ST. *In vitro* absorption and antiproliferative activities of monomeric and polymeric anthocyanin fractions from açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.). *Food Chem.* 2010; 119:1071-1078.
- Rufino MDSM, Pérez-Jiménez J, Arranz S, Alves RE, De Brito ES, Oliveira MSP, et al. Açai (*Euterpe oleracea*) 'BRS Pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. *Food Res Int.* 2011; 44(7):2100-6.
- Sanabria N, Sangronis E. Caracterización del asai o manaca (*Euterpe oleracea* Mart.): un fruto del Amazonas. *Arch Latinoam Nutr.* 2007;57:94–99.
- Schauss (a) AG, Wu RL, Ou B, Patel D, Huang D, Kababick JP. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry *Euterpe oleracea* Mart (Asai). *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(22):8598–8603.
- Schauss (b) AG, Wu X, Prior RL., Ou B, Huang D, Owens J, Agarwal A, Jensen GS, Hart AN, Shanbrom E. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54(22): 8604–8610.
- SENA. Estudio de caracterización del sector de alimentos y bebidas en Colombia, 2013.

---

Udani JK, Singh BB, Singh VJ, Barrett ML. Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) berry preparation on metabolic parameters in a healthy overweight population: A pilot study. *Nutrition Journal* 2011;10(45):1-7.