

## Effect of a new rich in bioactive compounds beverage for energetic metabolism modulation in overweight adults Efecto de una nueva bebida rica en compuestos bioactivos para modular el metabolismo energético en adultos con sobrepeso

V. Agulló<sup>1\*</sup>, C. García-Viguera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fitoquímica y Alimentos Saludables, Dpto Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC. Campus Universitario de Espinardo 25, Murcia.

\*vicenteagullo@gmail.com

### **Abstract**

In recent decades, a positive relationship has been demonstrated between the consumption of sugary drinks and the risk of obesity, diabetes and cardiovascular diseases. To reduce the sugar content of foods while maintaining a pleasant taste, new options have been proposed using sweeteners, although it is questioned whether these additives contribute to a higher caloric intake or if they produce negative long-term effects. In addition, to promote the consumption of fruits and vegetables, new formulations that increase the shelf life of fresh fruits, preserve nutrients and reduce the energy content of fruit juices are being developed. The research will begin with the development of citrus-based and maqui-based beverages, rich in bioactive (poly) phenolic compounds, which include different non-nutritive sweeteners, both natural (stevia) and artificial (sucralose). The project will cover everything from food technological development to nutrition and disease prevention. The effects of these drinks on the underlying mechanisms in postprandial hyperglycemia will be analyzed and metabolites in circulation will be determined responsible for the observed evidence by intervention studies with healthy overweight volunteers.

**Keywords:** Juice; Bioavailability; Biomarker; Sweetener.

### **Resumen**

En las últimas décadas se ha demostrado una relación positiva entre el consumo de bebidas azucaradas y el riesgo de obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares. Para reducir el contenido en azúcares de los alimentos manteniendo un sabor agradable, se han propuesto nuevas opciones usando edulcorantes, aunque se cuestiona si dichos aditivos contribuyen a una mayor ingesta calórica o si producen efectos negativos a largo plazo. Además, para fomentar el consumo de frutas y hortalizas se están desarrollando nuevas formulaciones que aumenten la vida útil de las frutas frescas, preserven los nutrientes y reduzcan el contenido energético de los zumos de frutas. La investigación comenzará con el desarrollo de bebidas a base cítricos y maqui, ricas en compuestos bioactivos (poli) fenólicos, que incluyan diferentes edulcorantes no nutritivos tanto de tipo natural (stevia) como artificial (sucralosa). El proyecto abarcará desde el desarrollo tecnológico alimentario hasta la nutrición y prevención de enfermedades ya que, realizando estudios de intervención con voluntarios sanos con sobrepeso, se analizarán los efectos de estas bebidas en los mecanismos subyacentes en la hiperglicemia postprandial y se determinarán los metabolitos en circulación responsables de la evidencia observada.

**Palabras clave:** Zumo; Biodisponibilidad; Biomarcador; Edulcorante.

## 1. INTRODUCCIÓN

Grandes estudios epidemiológicos han demostrado una relación positiva entre el consumo de bebidas azucaradas y el riesgo de obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares y el síndrome metabólico [1, 2]. Este tipo de bebidas, elaboradas generalmente con sacarosa y jarabe de fructosa, son fuentes de azúcares rápidamente absorbibles que producen un aumento rápido en plasma de la glucosa y la insulina tras su ingesta, lo que contribuye a producir resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa.

Paralelamente a la búsqueda de alternativas saludables al alto consumo de bebidas azucaradas, existe una necesidad importante de aumentar el consumo de frutas y verduras en la población y desarrollar nuevas formulaciones que aumenten la vida útil de las frutas frescas, preserven los nutrientes o reduzcan el contenido energético de los zumos de frutas. En este sentido, el limón, con su agradable aroma y su alto valor nutritivo es una apuesta importante en la elaboración de bebidas no alcohólicas. Otro ingrediente novedoso y de atractivas propiedades es el maqui (*Aristotelia chilensis*), una fuente natural especialmente rica en antocianos (derivados de cianidina y delphinidina) y también contiene ácidos hidroxicinámicos (clorogénico) [3]. Se ha observado que los antocianos mejoran la hiperglicemia y la sensibilidad a la insulina vía activación de rutas de señalización celular [4].

Con el fin de reducir el contenido en azúcares hay una tendencia a buscar otras opciones a través de edulcorantes añadidos, aunque existe cierta polémica en relación a ellos ya que parece ser que contribuyen a una mayor ingesta calórica y a la obesidad [5]. Por ello emplearemos edulcorantes de tipo natural (stevia) y artificial (sucralosa), en comparación con una bebida tradicionalmente elaborada con fructosa/sacarosa.

Por lo tanto, el objetivo principal del presente proyecto es estudiar la influencia de diversos edulcorantes, empleados en la elaboración de una nueva bebida, rica en compuestos bioactivos (polifenoles y vitaminas), en el metabolismo energético de adultos con sobrepeso, así como determinar cuáles son los posibles metabolitos en circulación responsables de la evidencia observada, evaluando su bioaccesibilidad y biodisponibilidad.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Formulación de la bebida

Se elaborará una bebida funcional que incluya limón y bayas de maqui (*Aristotelia chilensis*), que proporcione un valor añadido en base a su contenido en compuestos polifenólicos, principalmente flavanonas y flavonas (limón) y antocianos (maqui). La bebida se desarrollará a escala de laboratorio en el CEBAS-CSIC y escala semi-industrial en la planta piloto disponible en la Universidad Miguel Hernández de Elche, con la ayuda del equipo de trabajo, de la misma.

Sobre las mezclas realizadas se elaborarán distintas bebidas adicionando los endulzantes objeto de estudio: fructosa/sacarosa (nutritivo, comúnmente empleado), sucralosa (no nutritivo artificial) y stevia (no nutritivo natural).

La cantidad de endulzante a adicionar se establecerá realizando ensayos de estabilidad de producto y de calidad organoléptica (panel de catadores CEBAS y UMH), de acuerdo con la legislación europea y española y reglamentos técnico-sanitarios que recogen los máximos niveles permitidos para su uso como ingredientes o aditivos en bebidas no alcohólicas.

### 2.2 Evaluación de la calidad nutricional, seguridad microbiológica y potencial actividad biológica de las bebidas

Las mezclas obtenidas se almacenarán en viales con atmósfera de nitrógeno tras eliminar el aire, a temperatura ambiente en oscuridad a 4° C y a 25° C durante 60 días. Se llevarán a cabo

diversos análisis cada 7 días durante los primeros 21 días y cada 15 días durante el resto del experimento, por los equipos de investigación y trabajo del CEBAS-CSIC y UPCT (Unidad Asociada).

Como índices de calidad de las bebidas se evaluará el pH, la acidez valorable (AV) y los sólidos solubles totales (SST) [6]. Estos factores pueden servir para establecer el marco en el que se producen los distintos cambios fisicoquímicos que se llevan a cabo como consecuencia del almacenamiento.

Se determinará el contenido de ácido ascórbico (AA) y dehidroascórbico (DHAA) siguiendo protocolos previos de González-Molina y col. [7], empleando un sistema HPLC-UV (Merck). Se llevará a cabo la caracterización fitoquímica de las bebidas diseñadas mediante técnicas de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas HPLC-DAD-ESI/MS [3]. Se realizará la medida de color como parámetro de calidad organoléptica, mediante el sistema C.I.E.L\*a\*b\* (Comision Internationale de l'Eclairage), midiendo características de luminosidad, tono e intensidad de color.

El análisis de las propiedades biológicas antioxidantes y sobre enzimas del metabolismo lipídico y glucídico contribuirá a establecer el posible potencial beneficioso de las bebidas en la población adulta en sobrepeso. La capacidad antioxidante se determinará mediante los métodos DPPH y ORAC [8, 9].

La evaluación de la seguridad alimentaria de las bebidas se llevará a cabo mediante las determinaciones microbiológicas de ausencia de patógenos.

### 2.3 Escalado de la producción de bebidas a nivel piloto o preindustrial y estudios de vida útil durante almacenamiento

Una vez seleccionadas las mezclas más adecuadas para los tres tipos de bebida (con fructosa/sacarosa control negativo, sucralosa o stevia), se realizará el escalado de las bebidas a nivel preindustrial para poder suministrar a los voluntarios las raciones diarias de bebidas durante el tiempo que duren los estudios de intervención. Este proceso se realizará en la Planta Piloto de la UMH en colaboración con CEBAS-CSIC.

Se llevará a cabo un análisis de la calidad nutricional de las bebidas desarrolladas, incluyendo la acidez titulable, pH y sólidos solubles totales que se medirán como índices de calidad de las bebidas, igual al realizado a escala laboratorio. Igualmente se medirán las alteraciones del color para asegurar su calidad organoléptica. Se realizarán estudios de vida útil de las bebidas a escala piloto durante 70 días [6].

### 2.4 Estudios de intervención en agudo y crónico en adultos con sobrepeso

Se pondrá a punto el método de determinación de marcadores de ingesta provenientes de antocianos y otros compuestos fenólicos para evaluarlos efectos bilógicos de las bebidas basado en la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.

Una vez seleccionados los voluntarios se llevará a cabo la toma de muestras de orina y sangre a diferentes tiempos antes y después del consumo de la bebida y durante diferentes periodos de tiempo según el tipo de intervención.

Con las muestras de orina y plasma se estimará la influencia de los diversos ingredientes endulzantes empleados en la biodisponibilidad, usando marcadores de ingesta (metabolitos generados a partir de los compuestos polifenólicos ingeridos) y marcadores de respuesta (marcadores de procesos inflamatorios, de estrés oxidativo, homeostasis glicémica y lipídica y marcadores de respuesta hormonal).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez realizados todos los análisis anteriormente comentados se espera obtener una bebida segura, con una aceptabilidad organoléptica elevada a la par que nutritiva y un alto poder antioxidante, que pueda reemplazar a las bebidas con azúcares añadidos gracias a sus efectos beneficiosos en la prevención de la hiperglicemia postprandial. Además, se espera obtener resultados concluyentes respecto a la interacción de la bebida con las principales rutas implicadas en el control del metabolismo lipídico y glicémico, el estrés oxidativo e inflamatorio y la regulación hormonal en población adulta en sobrepeso.

### 4. CONCLUSIONES

Las posibles conclusiones, que se esperan obtener, estarán relacionadas con la identificación de marcadores de ingesta de compuestos polifenólicos, los efectos reales de los diferentes edulcorantes sobre el metabolismo de la inflamación, así como la formulación de un zumo con efectos beneficiosos para la salud.

### 5. AGRADECIMIENTOS

Colaboración y asesoramiento técnico a escala semi-industrial de la Dra Martí (UMH) y financiación del proyecto coordinado AGL2016-75332-C2-1-R y AGL2016-75332-C2-2.

### 6. REFERENCIAS

- [1] Hu, F.B., V.S. Malik, 2010. Sugar-sweetened beverages and risk of obesity and type 2 diabetes: epidemiologic evidence. *Physiol. Behav.* 100: 47-54.
- [2] Popkin B.M., 2012. Sugary beverages represent a threat to global health. *Trends Endocrinol. Metab.* 23(12):591-303.
- [3] Gironés-Vilaplana A., Baenas N., Villaño D., Speisky H., Garcia-Viguera C., Moreno D.A. 2014. Evaluation of Latin-American fruits rich in phytochemicals with biological effects. *J Func Foods.* 7: 599-608.
- [4] Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M., Mykkänen H., Poutanen K., 2010. Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. *Int. J. Mol. Sci.* 11(4): 1365-1402.
- [5] Suez J., Korem T., Zeevi D., Zilberman-Schapira G., Thaiss C.A., Maza O., Israeli D., Zmora N., Gilad S., Weinberger A., Kuperman Y., Harmelin A., Kolodkin-Gal I., Shapiro H., Halpern Z., Segal E., Elinav E., 2014. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature.* 514(7521): 181-186.
- [6] Mena P., Martí N., Saura D., Valero M., García-Viguera C. 2013. Combinatory effect of thermal treatment and blending on the quality of pomegranate juices. *Food Bioproc. Tech.* 6: 3186-3199.
- [7] Gonzalez-Molina E., Domínguez-Perles R., Moreno D. A., García-Viguera C. 2010. Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. *NJ Pharm. Biomed. Anal.* 51: 327-345.
- [8] Villaño D., Fernandez-Pachon M.S., Moya, M.L. 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta.* 71(1): 230-245.
- [9] Ou B., Hampsch-Woodill M., Prior R.L. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* 49(10): 4619-4626.