

	<p>Universidad de la República - CSIC</p>	
	<p>Formulario de Informe final del Programa de Apoyo a la Investigación Estudiantil Edición 2014</p>	

DATOS DEL PROYECTO
<ul style="list-style-type: none"> • Título del Proyecto: Revalorizar desechos de la industria alimentaria como fuente de compuestos bioactivos frente a enfermedades crónicas
<ul style="list-style-type: none"> • Número ID del proyecto: 98
<ul style="list-style-type: none"> • Área de conocimiento: Tecnología de alimentos, alimentos bioactivos.
<ul style="list-style-type: none"> • Facultad o Servicio: Facultad de química.
<ul style="list-style-type: none"> • Nombre completo de los-as Integrantes del equipo: Yamila Volla Cabrera, Sebastian Moreira Rodriguez.
<ul style="list-style-type: none"> • Correo electrónico del/de la estudiante referente: yamilavollac@gmail.com
<ul style="list-style-type: none"> • Nombre completo del/de la docente orientador-a: Alejandra Medrano
<ul style="list-style-type: none"> • Correo electrónico del/de la docente orientador-a: medranoalejandra@gmail.com

INFORME FINAL

(desde ítem 1 a 7 la extensión máxima POR ÍTEM es de una carilla)

1. **Transcriba los objetivos del proyecto tal cual figuraban en la solicitud financiada**

Objetivo General

- Investigar la actividad antiglicante de sustancias bioactivas extraídas de residuos de la industria de arándanos y correlacionarla con su poder antioxidante.

Objetivos Específicos

- Optimizar las condiciones de extracción de compuestos bioactivos a partir de desechos de la industria de arándanos.
- Identificar, cuantificar y caracterizar los compuestos bioactivos presentes en los extractos.
- Evaluar los extractos frente a su capacidad antioxidante y antiglicante.
- Correlacionar la actividad antioxidante y la composición química con la actividad antiglicante

- 2 **Enumere y describa las principales actividades desarrolladas en el marco de su proyecto.**

- Extracción de compuestos bioactivos

Para la extracción de los compuestos bioactivos se realizó la optimización del proceso, utilizando un modelo factorial teniendo como variables el tipo de solvente (agua, etanol), tiempo de extracción (30 minutos y 60 minutos) y la relación masa residuo:volumen solvente.

- Purificación y caracterización de los compuestos bioactivos

El total de compuestos fenólicos de los extractos se analizaron de acuerdo al método de Folin Ciocalteu modificado por Georgé et al., (2005).

- Evaluación de las propiedades bioactivas in vitro de los extractos

Se sometió a ensayos de capacidad antioxidante in vitro frente al radical ABTS+, comparando la actividad frente a la sustancia de referencia trolox.

La capacidad frente a radicales ABTS+ se midió a través de absorbancia a 734 nm por un ensayo de decoloración. El ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) se oxida con el persulfato de potasio formando el radical ABTS•+. En presencia de antioxidantes, este radical se reduce disminuyendo el color de la reacción. Se realizó según el método descrito por Re et al., (1999).

Se evaluó la actividad antiglicante de los extractos utilizando dos modelos in vitro. Se preparó un primer sistema modelo de glicación constituido por BSA y MGO y otro constituido por MGO e Histonas, en resumen, estas soluciones control se incubaron a 37° C durante 7 días en presencia o ausencia de los extractos y por último se calculó el porcentaje de inhibición de la formación de AGE.

- **Análisis de Resultados**

El análisis de los resultados se realizó durante el transcurso del trabajo experimental mediante análisis de la varianza (ANOVA) y se consideraron diferencias significativas con niveles de significación de 0,05. Cuando se encontraron diferencias significativas se aplicó el ensayo de comparación de medias de Tukey.

3. **Indique si se han efectuado todas las etapas planteadas en el cronograma de ejecución del proyecto. En caso de que su cronograma haya sufrido alteraciones o no se haya podido cumplir con todas las etapas definidas en el cronograma, aclare los motivos de tal situación.**

El cronograma sufrió alteraciones debido a las demoras en la cosecha de arándanos, pero igual se pudo cumplir con todas las etapas planteadas al inicio.

4. **Indique los principales resultados obtenidos. Aclare hasta qué punto coinciden - o no - con los resultados esperados por parte del equipo.**

Obtención de extractos acuosos y alcohólicos

Los extractos se prepararon en una relación solvente:arándanos 100:13, utilizando agua a 50° C durante (30 y 60) min y etanol 95% a temperatura ambiente por 30 y 60'.

Determinación de compuestos fenólicos.

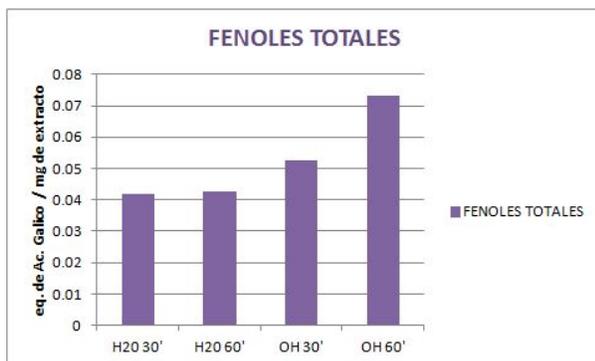


Figura 1. Contenido de fenoles totales de los sistemas estudiados

Se determinaron los compuestos fenólicos como eq de Acido Gálico de los distintos extractos de arándanos. No encontrándose diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) entre los 4 sistemas de extracción utilizados. Fig 1.

Determinación de capacidad antioxidante

Se midió la capacidad antioxidante global de los extractos de arándanos in vitro frente al radical ABTS+ según el método descrito Re et al. (1999).

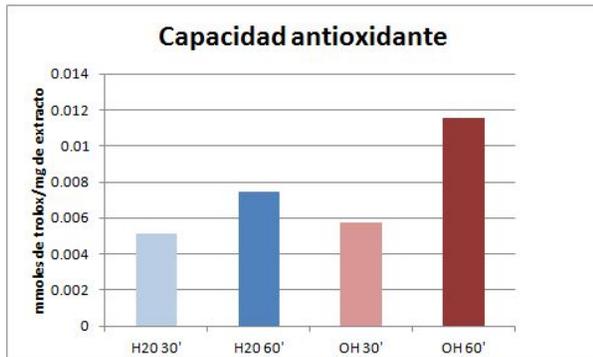


Figura 2. Capacidad antioxidante frente a radicales ABTS de los sistemas estudiados

Se observaron diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) entre todos los extractos, resultando una mayor capacidad antioxidante los extractos obtenidos a partir del solvente alcohólico con un tiempo de extracción de 60 minutos. Comparando para cada uno de los solvente encontramos diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) observando una mayor extracción siempre a los 60 minutos. Fig 2.

Determinación de la capacidad antiglicante.

Tabla 1. IC50 frente al % de inhibición de formación de AGEs en el sistema BSA-MGO

SISTEMA BSA-MGO-EXTRACTO	IC50
H2O 60'	5.61
OH 30'	2.19
OH 60'	0.54

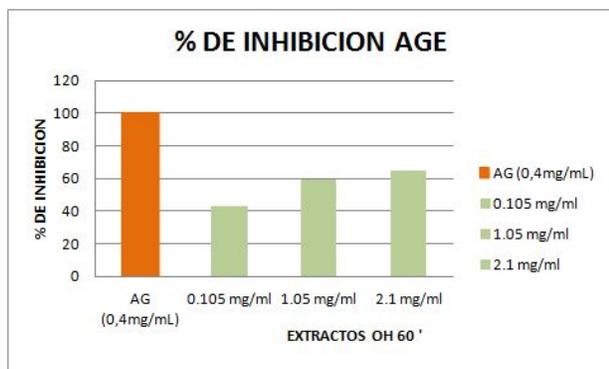


Figura 3. % Inhibición de AGE de 3 concentraciones del extracto alcohólico 60 minutos comparado con Aminoguanidina como estándar de la inhibición.

Tabla 2. IC50 frente al % de inhibición de formación de AGEs en el sistema His-MGO

SISTEMA HISTONA-MGO-EXTRACTO	IC50
H2O 30'	23.74
H2O 60'	2.90
OH 30'	43.46
OH 60'	25.68

Se determinó la capacidad antiglicante mediante el IC50 de los extractos a partir de dos sistemas modelo in vitro. Existen diferencias significativas ($\alpha \leq 0,05$) en el poder inhibidor de los distintos extractos en ambos sistemas (BSA e HISTONA). Para el sistema BSA-MGO encontramos un poder inhibidor mayor significativamente ($\alpha \leq 0,05$) en el extracto alcohólico 60 minutos. Tabla 1. No así en el sistema HISTONA-MGO, el extracto acuoso 60 minutos presenta un IC50 menor al resto de los extractos. Tabla 2. Comparando el extracto alcohólico con un tiempo de extracción de 60 minutos con el patrón de Aminoguanidina se puede observar su potencial aplicación en la industria alimentaria Fig 3.

Correlación capacidad antioxidante, fenoles totales capacidad antiglicante.

Se encontró una correlación positiva entre el contenido de compuestos fenólicos, poder antioxidante y antiglicante de los sistemas en estudio. Los extractos de arándanos obtenidos a partir de solvente alcohólico durante más tiempo obtuvieron

los mayores niveles de fenoles totales, mayor capacidad antioxidante y mayor poder de inhibición frente a los compuestos AGE excepto para el sistema HISTONA-MGO.

5. **Indique si los resultados parciales o finales del proyecto fueron difundidos a través de alguna actividad (charlas, seminarios, talleres, prensa, edición de materiales impresos, etc.).**

Este trabajo será difundido en la presentación del PAIE.

6. **En caso de haber enfrentado dificultades en el desarrollo del proyecto de investigación, realice una breve descripción de las mismas.**

No se presentaron dificultades desde el punto de vista del trabajo de laboratorio o del tratamiento de datos.

7. **En base a su experiencia de trabajo en equipo en el marco de este Programa, le solicitamos que realice sugerencias o comentarios para ser tomados en cuenta en futuras ediciones del mismo.**

A criterio de este grupo de trabajo las pautas estuvieron bien especificadas desde el comienzo por el equipo de CSIC.

8. **Resumen publicable** de no más de 250 palabras que sea accesible para un público amplio, y en un lenguaje dirigido a no especialistas en la temática de la investigación. En este resumen se debe dar cuenta de los objetivos del proyecto, los pasos seguidos para cumplirlos y los principales resultados alcanzados.

El resumen debe contener la siguiente información:

título del proyecto

servicio

nombre de los integrantes del equipo

nombre del docente orientador

Resumen publicable:

Revalorizar desechos de la industria alimentaria como fuente de compuestos bioactivos frente a enfermedades crónicas

Yamila Volla, Sebastian Moreira, Analia Rodriguez, Alejandra Medrano

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Química, Montevideo, Uruguay.
2015

La modernización de nuestra sociedad ha traído consigo profundos cambios en el estilo de vida, lo que deriva en un incremento progresivo de enfermedades crónicas tales como diabetes, siendo la dieta uno de los factores que puede ser clave en la iniciación de esta enfermedad. Por la frecuencia de estas enfermedades existe urgencia en encontrar soluciones a las mismas.

Uno de los mecanismos bioquímicos protagónicos en complicaciones cardiovasculares diabéticas es la glicación, es decir la formación de compuestos múltiples conocidos como “productos de glicación avanzada” (AGE); se ha demostrado que exhiben diversas actividades biológicas deletéreas. Por lo tanto, el descubrimiento e investigación de los inhibidores de AGE ofrecerían un enfoque terapéutico potencial para la prevención de la diabetes.

Los arándanos son una de las frutas más consumidas en el mundo, en Uruguay la producción tuvo un crecimiento en los últimos años, por lo que estudiar su efecto sobre las enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes es de sumo interés. Para hacer este estudio, se hicieron extractos del arándano procesado en dos tiempos distintos (30 y 60 minutos) y con dos solventes distintos (agua y etanol), ambos amigables con el medio ambiente. Los resultados obtenidos concuerdan con bibliografía en el alto contenido de compuestos fenólicos de estas bayas. A su vez presentan una alta capacidad antioxidante frente a radicales ABTS, encontrándose una correlación directa entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante y antiglicante.

El extracto de arándanos obtenido a partir de solventes alcohólicos y a mayor tiempo de extracción fue el que presentó en general mejores propiedades (mayor cantidad de antiglicantes y compuestos fenólicos y mejor capacidad antiglicante).

Comparando dicho extracto con un agente antiglicante de referencia (aminoguanidina) se encontró un excelente potencial inhibitorio por lo que se deja abierta la investigación para continuar estudiando su incorporación en alimentos.

Referencias bibliográficas

Becker Pertuzatti Paula, Teixeira Barcia Milene, Rodrigues Daniele, Nogueira da Cruz Pollyanna, (2014). Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian Blueberries. *Food Chemistry*, (164) 81–88.

Benakmoum Amar, Abbeddou Souheila, Ammouche Ali, Kefalas Panagiotis, Gerasopoulos Dimitrios, (2008). Valorisation of low quality edible oil with tomato peel waste. *Food Chemistry*, (110) 684-690.

Fernández-López J., Fernández-Ginés J.M., Aleson-Carbonell L., Sendra E., Sayas-Barberá E., Pérez-Alvarez J.A., (2004). Application of functional citrus by products to meat products. *Trends in Food Science & Technology*, (15) 176-185.

Galanakis Charis M., (2011). Olive fruit dietary fiber: components, recovery and applications. *Trends in Food Science & Technology*, (22) 175-184.

Georgé S., Brat P., Alter P., Amiot M., (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derivates Products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, (53) 1370-1373.

Gugliucci, A. Glicación de proteínas: rol protagónico de la hiperglicemia en las complicaciones crónica de la diabetes mellitus (2000) *Revista Medica Uruguay* 16, 58-75

Gugliucci A., Markowicz D., Schulze J., Ferreira M., (2009). Caffeic and chlorogenic acids in *Ilex paraguariensis* extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins. *Fitoterapia*, (80) 339 - 344.

Halliwell Barry, Gutteridge John M.C., Aruoma Okezie I., (1987). The deoxyribose method: A simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry*, (165)215-219.

Harsha P.S.C. Sri, Lavelli V. , Scarafoni A., (2014). Protective ability of phenolics from white grape vinification by-products against structural damage of bovine serum albumin induced by glycation. *Food Chemistry* (156) 220–226.

Ignat Ioana, Volf Irina, Popa Valentin I., (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, (126) 1821-1835.

Madureira A.R., Tavares T., Gomes A.M.P., Pintado M.E., Malcata F.X., (2010). Invited review: Physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins. *Journal of Dairy Science*, (93) 437-455.

Moure Andrés, Franco Daniel, Sineiro Jorge, Domínguez Herminia Núñez, Maríya José, Lema Juan M., (2001). Antioxidant activity of extracts from *Gevuina avellana* and *Rosa rubiginosa* defatted seeds. *Food Research International*, (34) 103-109.

Papanicolaou C., Kotis T., Foscolos A., Goodarzi F., (2004). Coals of Greece: a review of properties, uses and future perspectives. *International Journal of Coal Geology*, (58)147-16.

Picariello Gianluca, Amigo-Benavent Miryam, Del Castillo Maria Dolores, Ferranti Pasquale, (2013). Structural characterization of the N-glycosylation of individual soybean α -conglycinin subunits. *Journal of Chromatography A*, (1313) 96-102

Isidro Hermosín-Gutiérrez c, Robert Smith d, Helena Teixeira Godoy a Ramkissoon JS., Mahomoodally MF., Ahmed N., Subratty AH., (2013). Antioxidant and anti-

glycation activities correlates with phenolic composition of tropical medicinal herbs. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 561- 569.

Re Roberta, Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., (1998). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. International antioxidant research centre, London, UK.

Schieber A., Stintzing F.C., Carle R., (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds — recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, (12) 401-41.

Upadhyay A., Chompoo J., Araki N., Tawata S., (2012). Antioxidant, antimicrobial, and AGEs inhibitions by pineapple stem waste. *J Food Sci* 77, 115.

Villa-Rodriguez J.A., Siddiqui Md. Wasim, Dávila-Aviña J.E., GonzálezAguilar G.A., (2011). Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International* (44) 1866-1874

Viuda-Martos Manuel, Ruiz-Navajas Yolanda, Fernández-López Juana, Sendra Esther, Sayas-Barberá Estrella, Pérez-Álvarez José A., (2011). Antioxidant properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) bagasses obtained as co-product in the juice extraction. *Food Research International*, (44) 1217-1223.

Xiaofang Peng, Zongping Zheng, Ka-Wing Chenga, Fang Shanb, Gui-Xing Renc, Feng Chen, Mingfu Wang, (2008). Inhibitory effect of mung bean extract and its constituents vitexina and isovitexin on the formation of advanced glycation endproducts. *Food Chemistry* (106) 475–481.

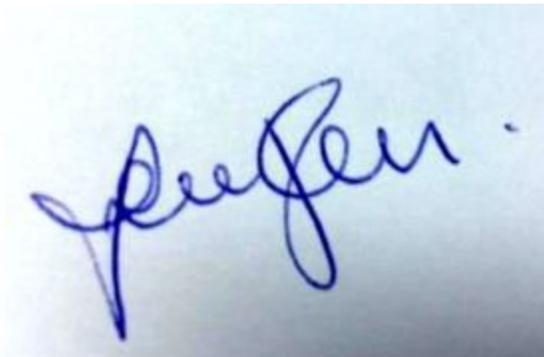
9) En la siguiente tabla ingrese la información solicitada en relación a los **equipos y la bibliografía adquiridos con fondos del PAIE**. Recuerde que debe entregar todos los ítems adquiridos en los dos rubros antes mencionados, para que éstos formen parte del acervo de su institución y puedan ser utilizados por equipos financiados en posteriores ediciones de este programa.

EQUIPOS		
cantidad	ítem - descripción	
	No se adquirio equipos	

BIBLIOGRA FÍA		
cantidad	autor(es), título, editorial, año	
	No se adquirió bibliografía	

Desde el 1/12/2015 y hasta el 15/12/2015 se deberá entregar a los Ayudantes I+D de los Servicios lo siguiente:

- **Un CD con el informe final en formato .odt o .pdf. Y con el póster en su versión digital en formato .jpg o .pdf**
- **Equipos y bibliografía adquiridos con fondos del PAIE (declarados en la lista conformada en el ítem 8 de este documento)**



.....
FIRMA DEL ESTUDIANTE RESPONSABLE

Se solicita al **docente orientador** que brinde una **opinión general acerca del desempeño de su equipo de estudiantes** durante el transcurso de la investigación y que evalúe en forma breve los **resultados** expuestos a través de este informe y el contenido de su **resumen publicable**. (máx 200 palabras)

Comentarios del docente orientador:

El grupo se desempeño de forma muy satisfactoria durante todas las etapas del trabajo practico. Los resultados obtenidos fueron satisfactorios y reflejan el potencial de los extractos de arandanos como compuesto funcional.



.....
FIRMA DEL DOCENTE ORIENTADOR