

Estudio de la influencia de las condiciones de procesado en el potencial antioxidante de extractos obtenidos a partir de subproductos de la industria del aceite de oliva

RESUMEN

La industria del aceite de oliva genera una cantidad importante de subproductos, tales como las hojas de olivo y el orujo. Se ha demostrado que estos residuos vegetales son ricos en los mismos compuestos fenólicos que se encuentran presentes en el aceite de oliva. Sin embargo, estos subproductos todavía no han sido explotados a nivel industrial como fuentes de compuestos bioactivos. Para ello, es necesario estudiar exhaustivamente cómo las condiciones procesado (pretratamiento de la materia prima, extracción, etc.) afectan al potencial bioactivo, así como explorar las posibles aplicaciones de estos compuestos en la industria alimentaria. Por lo tanto, el objetivo principal de esta Tesis fue determinar la influencia de las principales etapas de procesado implicadas en la obtención de extractos naturales con alto potencial antioxidante a partir de los subproductos originados en la industria del aceite de oliva.

En primer lugar, se evaluó el efecto de los métodos de congelación y/o secado, empleados en el procesado de la materia prima, sobre el contenido polifenólico y la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos posteriormente. Para ello, se seleccionaron dos subproductos de la elaboración de aceite de oliva: hojas y orujo. Por una parte, las hojas de olivo (frescas, congeladas convencionalmente a $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$ o congeladas en N_2 líquido) fueron secadas por aire caliente a dos temperaturas diferentes, 70 ó $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, o liofilizadas. Por otra parte, el secado del orujo de oliva se llevó a cabo a diferentes temperaturas (de 50 a $150\text{ }^{\circ}\text{C}$), describiendo matemáticamente el proceso mediante modelos difusivos y de Weibull.

En segundo lugar, se abordó la viabilidad de intensificar la extracción de polifenoles de hoja de olivo a través una nueva tecnología, los ultrasonidos de potencia, teniendo en cuenta tanto la composición final de los extractos como la

Resumen

cinética del proceso. Con este fin, se evaluó la influencia de algunos de los principales parámetros del proceso (la potencia eléctrica suministrada, la superficie del emisor y la temperatura). Las cinéticas de extracción fueron matemáticamente descritas con el modelo de Naik.

A continuación, se estudió cómo las condiciones de procesado (secado y extracción) podían influir en la estabilidad de los extractos. Así, por una parte, se obtuvieron extractos a partir de hojas de olivo secadas (aire caliente a 70 y 120 °C y liofilización) y mediante extracción convencional o asistida por ultrasonidos. Estos extractos fueron, posteriormente, sometidos a una digestión *in vitro*. Por otra parte, se obtuvieron diferentes extractos a partir de hojas frescas, secadas por caliente a 120 °C y liofilizadas. Estos extractos fueron conservados en estado líquido, o bien deshidratados (a 120 °C o aplicando vacío a 55 °C) hasta poder obtener un producto en polvo. Todos los extractos (líquidos y polvos) fueron almacenados a 4, 25 y 35 °C durante 4 semanas.

Por último, se exploró la posibilidad de obtener una matriz vegetal deshidratada (manzana) y rica en compuestos fenólicos de hoja de olivo. Para ello, se evaluó la influencia de los pretratamientos de la manzana (escaldado y congelación) y del secado en la retención final de los polifenoles impregnados. Así, cubos de manzana fresca o escaldada fueron inicialmente secados por aire (60 °C) o liofilizados. En este último caso, las muestras fueron previamente congeladas empleando distintos métodos: congelación convencional (-28 °C), congelación rápida o "blast freezing" (-30 °C) y congelación en N₂ líquido (-196 °C). Posteriormente, las manzanas secas fueron impregnadas con el extracto fenólico. Una vez completada la infusión fenólica, las muestras se secaron de nuevo para su estabilización mediante tres métodos diferentes: aire caliente a 60 °C con y sin aplicación de ultrasonidos y liofilización.

El potencial antioxidante de los extractos y la retención de los polifenoles incorporados a la manzana se determinaron a través de la medida del contenido total en compuestos fenólicos y de la capacidad antioxidante, así como de la identificación y cuantificación mediante HPLC-DAD/MS-MS de los principales polifenoles presentes

en la hoja de olivo. Además, en las muestras de manzana, se midió la actividad enzimática de la polifenol oxidasa y peroxidasa y se analizó la microestructura.

Los resultados experimentales pusieron de manifiesto que tanto el método de secado como el de congelación influyeron significativamente ($p < 0.05$) en la concentración de los principales polifenoles identificados en los extractos de hoja de olivo. Así, el secado a la mayor temperatura ensayada (120 °C) resultó ser el mejor tratamiento para obtener extractos con alta capacidad antioxidante y alto contenido fenólico. La influencia de las condiciones de secado fue menos relevante cuando se empleó como fuente de compuestos fenólicos el orujo de oliva. En este caso, el potencial antioxidante de los extractos tan sólo se vio ligeramente afectado por la temperatura de secado. Sin embargo, no sólo la temperatura más alta evaluada (150 °C) sino también tiempos largos de secado, que supusieron un sobrecalentamiento de la muestra, dieron lugar a un aumento significativo ($p < 0.05$) del potencial antioxidante de los extractos de orujo de oliva. En comparación, las hojas de olivo pueden considerarse una fuente más prometedora que el orujo de oliva para la obtención de extractos naturales ricos en compuestos fenólicos.

La aplicación de ultrasonidos resultó ser una alternativa no térmica muy interesante para acelerar la extracción de antioxidantes de hojas de olivo. Con la combinación adecuada de las variables del proceso, la aplicación de ultrasonidos redujo el tiempo de extracción de 24 h necesarias en extracción convencional a 15 min, sin modificar la composición de los extractos y su potencial antioxidante. Aun así, es importante remarcar que no todas las variables estudiadas tuvieron la misma influencia en el proceso de extracción. La potencia eléctrica suministrada y la superficie del emisor fueron factores clave en la mejora del rendimiento de la extracción, mientras que la influencia de la temperatura no fue clara en el rango de temperaturas evaluado.

En cuanto a la estabilidad del extracto, las condiciones de procesado empleadas para la obtención de extractos de hoja de olivo no tuvieron una influencia significativa en su bioaccesibilidad. En todos los casos, la digestión redujo significativamente ($p < 0.05$) el contenido fenólico. La oleuropeína y el verbascósido

Resumen

prácticamente desaparecieron al final de la digestión *in vitro*. Por el contrario, la luteolina-7-O-glucósido mostró una buena estabilidad (bioaccesibilidad del 43 %).

A diferencia de lo observado durante la digestión *in vitro*, las condiciones de procesado si afectaron a la estabilidad del extracto durante su almacenamiento. Así, el secado de las hojas de olivo no sólo determinó la composición inicial de los extractos sino también la evolución del potencial bioactivo. Independientemente del método utilizado, la estabilización de los extractos por deshidratación sólo redujo la capacidad antioxidante y el contenido total en compuestos fenólicos en torno a un 10 %. Además, las condiciones de almacenamiento (temperatura y forma del extracto: líquido o polvo) no mostraron ningún efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el potencial antioxidante durante los 28 días de almacenamiento.

Combinando las etapas de secado-impregnación-secado, fue posible desarrollar un producto deshidratado (manzana), estable y rico en compuestos fenólicos naturales (de hojas de olivo o extractos de té). No obstante, cabe destacar que el secado de la manzana fresca jugó un papel más importante en la retención de los polifenoles de hoja de olivo infundidos que el secado final de la manzana impregnada. En consecuencia, la estructura y la actividad enzimática oxidativa de las muestras obtenidas tras el secado de la manzana fresca fueron clave para la retención de compuestos fenólicos en el producto final.

En términos generales, las hojas de olivo pueden considerarse como una fuente potencial de compuestos fenólicos naturales. No obstante, el secado y la congelación durante el procesado de la materia prima son factores decisivos para la obtención de extractos naturales con alto potencial antioxidante. Además, la aplicación de ultrasonidos de potencia durante la extracción puede resultar una alternativa no térmica muy interesante de cara a acortar el tiempo de procesado. La estabilidad de los polifenoles de la hoja de olivo, durante el almacenamiento y la digestión *in vitro*, dependió claramente del compuesto individual considerado. Finalmente, el empleo del extracto de hoja de olivo como medio para enriquecer alimentos sólidos requiere del uso de matrices sólidas porosas y libres de enzimas oxidativas.