

Valoració de la influència de les condicions de processament en el potencial antioxidant d'extractes obtinguts de subproductes de la indústria de l'oli d'oliva

RESUM

La indústria de l'oli d'oliva genera un nombre important de subproductes, com ara les fulles d'olivera i la pinyolada. S'ha demostrat que aquests residus vegetals són rics en els mateixos compostos fenòlics que l'oli d'oliva. No obstant això, els subproductes de l'oli d'oliva no s'han explotat encara a escala industrial, per exemple com a fonts de compostos bioactius. Per aquest motiu, cal estudiar exhaustivament com les condicions de processament (pretractament de la matèria primera, extracció, etc.) afecten el potencial bioactiu d'aquests subproductes i, al mateix temps, explorar-ne noves aplicacions en la indústria alimentària. Per tant, l'objectiu principal d'aquesta tesi va ser determinar la influència de les principals etapes de processament implicades en l'obtenció d'extractes naturals amb alt potencial antioxidant procedents de subproductes de la indústria de l'oli d'oliva.

En primer lloc, es va estudiar l'efecte de la congelació i/o els mètodes d'assecatge aplicats a subproductes de l'oli d'oliva sobre el contingut fenòlic i la capacitat antioxidant dels extractes obtinguts subsegüentment. Amb aquesta finalitat, es van prendre en consideració dos subproductes: les fulles d'olivera i la pinyolada. D'una banda, unes fulles d'olivera (fresques, congelades convencionalment a $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$ o congelades en N_2 líquid) van ser assecades amb aire calent a dues temperatures diferents, 70 o $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, o liofilitzades. D'altra banda, l'assecatge de la pinyolada va ser analitzat a diferents temperatures (de 50 a $150\text{ }^{\circ}\text{C}$) i descrit matemàticament amb els models de difusió i Weibull.

En segon lloc, es va avaluar, tenint en compte la composició dels extractes i la cinètica del procés d'extracció, la viabilitat d'intensificar l'extracció de polifenols de fulla d'olivera utilitzant una tecnologia nova, ultrasons de potència. Amb aquest objectiu es va avaluar també la influència d'alguns dels principals paràmetres del

Resum

procés (l'energia elèctrica subministrada, la superfície de l'emissor i la temperatura). La cinètica d'extracció va ser descrita matemàticament pel model de Naik.

En tercer lloc, es va avaluar com les condicions de processament (assecatge i extracció) poden influir en l'estabilitat dels extractes. Així, d'una banda, extractes obtinguts de fulles d'olivera assecades (aire calent a 70 i 120 °C i liofilització) i amb extracció convencional o assistida per ultrasons van ser sotmesos a una digestió *in vitro*. D'altra banda, fulles d'olivera fresques, assecades a 120 °C i liofilitzades, van ser usades per a obtenir extractes diferents. Una part d'aquests extractes va ser mantinguda en estat líquid i l'altra va ser deshidratada a 120 °C o aplicant-hi buit a 55 °C fins a aconseguir un producte en pols. Tots els extractes (líquids i en pols) van ser emmagatzemats a 4, 25 i 35 °C durant 4 setmanes.

Finalment, es va explorar la possibilitat d'obtenir una matriu vegetal deshidratada (poma) i rica en compostos fenòlics de fulla d'olivera considerant la influència del pretractament de la poma (escaldament i congelació) i de l'assecatge sobre la retenció final dels fenòlics introduïts en la poma. Daus escaldats i frescos de poma van ser primerament assecats amb aire (60 °C) o liofilitzats. En el segon cas, les mostres van ser congelades prèviament utilitzant diferents mètodes de congelació: convencional (-28 °C), congelació ràpida o *blast freezer* (-30 °C) i N₂ líquid (-196 °C). A continuació, les pomes assecades van ser impregnades amb extracte fenòlic. Una vegada es va completar la infusió polifenòlica, les mostres van ser assecades perquè s'estabilitzaren, emprant tres mètodes diferents: liofilització i assecatge amb aire calent a 60 °C, amb i sense aplicació d'ultrasons.

El potencial antioxidant dels extractes i la retenció dels polifenols impregnats dins la poma es van avaluar determinant el contingut fenòlic total i la capacitat antioxidant, així com identificant i quantificant els principals polifenols de la fulla d'olivera per HPLC-DAD/MS-MS. A més, es va analitzar a les mostres de poma l'activitat enzimàtica de la polifenoloxidasas i la peroxidasa i la microestructura.

Els resultats experimentals van destacar que tant el mètode d'assecatge com el de congelació van influir significativament ($p < 0,05$) en la concentració dels principals polifenols identificats en els extractes de fulla d'olivera. L'assecatge a la temperatura

més alta que es va provar (120 °C) va resultar la millor condició de processament per a obtenir extractes amb una alta capacitat antioxidant i un alt contingut fenòlic. Aquest efecte de les condicions d'assecatge va ser menys rellevant quan s'usà la pinyolada com a font fenòlica. El potencial antioxidant dels extractes tan sols es va veure lleugerament influït per la temperatura d'assecatge. No obstant això, no sols la temperatura més alta provada (150 °C) va augmentar significativament ($p < 0,05$) el potencial antioxidant del extractes de pinyolada; els temps llargs d'assecatge, els quals van significar un sobreescalfament de la mostra, també van contribuir positivament a incrementar-ne el potencial antioxidant. En comparació, les fulles d'olivera van resultar ser una font més prometedora que la pinyolada per a obtenir-ne extractes naturals rics en compostos fenòlics.

L'aplicació d'ultrasons va ser una manera rellevant i no tèrmica d'accelerar l'extracció d'antioxidants de les fulles d'olivera. Així, amb la combinació adequada de les variables del procés, l'extracció assistida per ultrasons va escurçar el temps d'extracció, de les 24 h requerides en l'extracció convencional a 15 min, sense modificar la composició de l'extracte ni el potencial antioxidant. No obstant això, és important remarcar que no totes les variables van tenir la mateixa influència en el procés d'extracció. Tant l'energia elèctrica subministrada com la superfície de l'emissor van ser factors determinants en la millora de l'extracció, mentre que la influència de la temperatura no va ser clara en el rang de valors estudiat.

Quant a l'estabilitat de l'extracte, les condicions de processament utilitzades per a l'obtenció dels extractes de fulla d'olivera no van tenir una influència significativa en la bioaccessibilitat. En tots els casos, la digestió va reduir significativament ($p < 0,05$) el contingut fenòlic. L'oleuropeïna i el verbascòsid pràcticament van desaparèixer al final de la simulació *in vitro*. Per contra, la luteolina-7-O-glucòsid va mostrar una bona estabilitat davant les condicions de la digestió *in vitro* (43 % de bioaccessibilitat).

A diferència del que s'ha observat durant la digestió *in vitro*, les condicions de processament van afectar l'estabilitat de l'extracte durant l'emmagatzematge. Així, l'assecatge de fulles d'olivera va influir no sols en la composició inicial dels extractes,

Resum

sinó també en l'evolució del potencial bioactiu d'aquests. Independentment del mètode utilitzat, l'estabilització dels extractes per mitjà de la deshidratació només va reduir la capacitat antioxidant i el contingut fenòlic total al voltant d'un 10 %. A més, les condicions d'emmagatzematge (temperatura i forma de l'extracte: líquid o pols) no van mostrar cap efecte significatiu ($p < 0,05$) en el potencial antioxidant dels extractes durant els 28 dies d'emmagatzematge.

Combinant etapes d'assecatge-impregnació-assecatge fou possible obtenir un producte assecat estable (poma) i ric en compostos fenòlics naturals (de fulles d'olivera o te). No obstant això, cal destacar que l'assecatge de la poma fresca va ser més important i determinant en la retenció dels polifenols de fulla d'olivera que no l'assecatge de la poma impregnada. Així, l'estructura i l'activitat enzimàtica oxidativa de mostres obtingudes després de l'assecatge de la poma fresca van tenir un paper clau en la retenció dels compostos fenòlics en el producte final.

En termes generals, les fulles d'olivera es poden considerar com una font potencial de compostos fenòlics naturals. No obstant això, l'aplicació d'assecatge i congelació durant el processament de la matèria primera són factors decisius per a l'obtenció d'extractes naturals amb un alt potencial antioxidant. A més, l'aplicació d'ultrasons de potència durant l'extracció resultà ser una forma no tèrmica de millorar el procés, tot reduint-ne el temps d'extracció. L'estabilitat dels polifenols d'olivera durant l'emmagatzematge i la digestió *in vitro* va dependre del compost individual considerat. Finalment, la utilització d'extractes de fulla d'olivera per a desenvolupar aliments sòlids enriquits requereix l'ús de matrius sòlides poroses i lliures d'enzims oxidatius.