

“Concentrado Biofenólico del Olivo como sustituto de antioxidantes de síntesis química en alimentación animal”

Rodríguez Márquez, Manuel ^a; Renzi, Laura ^b; Gines, Lorena ^a; Monetta, Pablo ^a

^a Estación Experimental Agropecuaria San Juan - INTA. San Juan - Argentina

^b Instituto Nacional de Tecnología Industrial - INTI. San Juan - Argentina.

rodriguez.manuel@inta.gob.ar

RESUMEN

Los antioxidantes son utilizados en alimentos balanceados para prevenir la oxidación lipídica. Los biofenoles del olivo comprenden un variado grupo entre los cuales el hidroxitirosol se destaca por su actividad antioxidante. Existen iniciativas tendientes a recuperar biofenoles a partir del alperujo, subproducto de la extracción de aceite de oliva, sin embargo, presentan desafíos diferentes en su escalado industrial. El presente trabajo tuvo como objetivo la obtención a escala industrial, caracterización y evaluación funcional de concentrados biofenólicos de alperujo. Utilizando maquinaria de una industria olivícola estándar se obtuvieron fracciones líquidas de lotes de 200 kg de alperujo. Se determinó el contenido de sólidos, fenoles totales e hidroxitirosol. Los productos con alto contenido de hidroxitirosol se obtuvieron en laboratorio por evaporación y por adsorción con resinas. Finalmente, se realizaron ensayos de estabilidad oxidativa en sebo de pollo, uno de los principales ingredientes grasos en alimentos balanceados, en comparación con sebo de pollo sin antioxidantes (testigo) y con antioxidantes de síntesis química. Los resultados indicaron que las fracciones líquidas presentaron cinco veces más hidroxitirosol que el alperujo. Ambos procesos permitieron preservar el hidroxitirosol. La evaluación funcional indicó que ambos productos biofenólicos prolongaron la estabilidad oxidativa del sebo de pollo 700% respecto al testigo y 270% respecto al sebo con antioxidantes de síntesis. Estos resultados demuestran la factibilidad de obtener concentrados biofenólicos del alperujo utilizando maquinaria industrial, y que dichos productos poseen potencial para sustituir antioxidantes de síntesis en alimentos balanceados.

Palabras clave:

Alperujo, hidroxitirosol, alimentos balanceados, subproductos olivícolas

ABSTRACT

Antioxidants are used in animal feed to prevent lipid oxidation. Olive biophenols are a varied group, among which hydroxytyrosol stands out for its antioxidant activity. There are initiatives aimed at recovering biophenols from alperujo, a by-product of olive oil extraction, however, they present difficulties for industrial scaling. The objective of this work was to obtain on an industrial scale, characterization and functional evaluation of biophenolic concentrates from alperujo. Using machinery from a standard olive industry, liquid fractions were obtained from 200 kg of alperujo. The content of solids, total phenols and hydroxytyrosol was determined. Two processes were implemented to increase the concentration of hydroxytyrosol: Evaporation (90°C) and Adsorption with resins. The final products of both processes were obtained in the laboratory and used in oxidative stability tests (110°C) in chicken tallow, the main fatty ingredient of balanced foods, in comparison with chicken tallow without antioxidants (control) and with chemically synthesized antioxidants. The results indicated that the liquid fractions presented five times more hydroxytyrosol than the alperujo. Both concentration processes allowed preserving the hydroxytyrosol, with a higher proportion of solids after the evaporation process. The functional evaluation indicated that both biophenolic products prolonged the oxidative stability of chicken tallow by 700% compared to the control and 270% compared to tallow with synthetic antioxidants. These results demonstrate that biophenolic concentrates can be obtained from alperujo using industrial machinery and that these products have the potential to replace synthetic antioxidants in animal feed.

Key Words

Two-phase olive mill waste, hydroxytyrosol, animal feed, olive by-products

INTRODUCCIÓN

La alimentación animal es una disciplina dedicada a proveer los nutrientes necesarios a los animales, tanto domésticos como de producción, para alcanzar su máxima expresión productiva. Actualmente, el mercado de alimentos animales en Argentina tiene una producción anual estimada de 35 millones de toneladas de alimentos balanceados, con valor de mercado de alrededor de los US\$ 8 mil millones [1].

Los alimentos animales son una combinación de proteínas, carbohidratos, grasas, minerales y vitaminas, y aditivos. Estos últimos incluyen a los antioxidantes, compuestos utilizados como aditivos conservantes de los ingredientes de formulación de alimentos balanceados (ABs) y a los ABs ya elaborados para prevenir la oxidación lipídica, preservando su calidad y extendiendo su vida útil [2]. Si bien en la actualidad se emplean mayoritariamente antioxidantes de síntesis como butilhidroxitolueno (BHT) y el butilhidroxianisol (BHA), se detecta una tendencia mundial orientada al uso de antioxidantes naturales, que además actúan como ingredientes funcionales. Los ingredientes funcionales son sustancias químicas que poseen características beneficiosas para el organismo que los incorpora. Los beneficios pueden ser la promoción de la salud y/o una mejora del rendimiento fisiológico del consumidor [3].

En la actualidad existen diversas iniciativas a nivel mundial para la recuperación de antioxidantes del olivo, no solo por su actividad antioxidante sino también por sus efectos beneficiosos para la salud como propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales, antivirales, antiagregantes plaquetarios, antineurodegenerativos, entre otros [4]. Estos compuestos biofenólicos comprenden un variado grupo de fenoles complejos, como la oleuropeína, y fenoles simples, como el hidroxitirosol (HT), el cual se destaca por su elevada actividad biológica. Luego del proceso de extracción de aceite de oliva, los compuestos fenólicos quedan retenidos en un 98 % en el alperujo, principal subproducto del proceso, que representa el 80 % de la aceituna procesada [5]. Por este motivo, existen a nivel mundial, diversas iniciativas tendientes a recuperar compuestos fenólicos a partir del procesamiento de subproductos olivícolas, sin embargo, la mayoría de las tecnologías propuestas

requieren grandes inversiones para su escalado industrial conservando su condición natural.

El presente trabajo tuvo como objetivo la obtención de un concentrado biofenólico del olivo (CBO) a partir de alperujo procesado a escala industrial mediante un proceso simplificado, su caracterización fisicoquímica y funcional. Este proceso permitiría obtener un producto mínimo viable apto para sustituir a antioxidantes de síntesis química en la formulación de alimentos balanceados, fase crítica de su plan de maduración tecnológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y caracterización de fracción líquida

Los ensayos se realizaron en la planta piloto de extracción de aceite de la Estación Experimental Agropecuaria San Juan del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Se aplicaron tratamientos térmicos (70°C, 60 min) a lotes de 200 kg de alperujo utilizando un termo-amasador (Oleomio 200 Eco) con revestimiento aislante (figura 1). A continuación, se obtuvo la fracción líquida (FL) mediante centrifugación con un decanter de dos fases (Oliomio 200 Eco) expuesto a una fuerza centrífuga relativa de 3500 g. Finalmente, se almacenó en tranques troncocónicos durante 30 días para favorecer la decantación de sólidos suspendidos. Posteriormente se realizó su caracterización por análisis de concentración de sólidos solubles (SS), fenoles solubles totales (FST) e hidroxitirosol (HT).



Figura 1. Vista general de planta industrial. Amasadora con revestimiento aislante y sistema de centrifugación continua de dos fases Oliomio 200 Eco.

Obtención de CBO y EBO

El concentrado biofenólico del olivo (CBO) y el extracto biofenólico del olivo (EBO) se obtuvieron a partir de 250 ml de fracción líquida obtenida previamente, mediante dos métodos distintos.

El **CBO** se logró mediante evaporación en vaso de precipitado utilizando placa calefactora expuesta a 80°C, con agitación constante, hasta reducir el 75 % del volumen inicial.

El **EBO** se obtuvo mediante columnas de adsorción compuestas por buretas de 250 ml, con resina comercial Amberlite® XAD 2 (Sigma Aldrich) eluidas con etanol al 80 % v/v y concentradas en rotavapor (70°C, 120 rpm) hasta reducir el 75 % del volumen inicial.

Ambos productos se caracterizaron en función de sus características organolépticas (color, olor y sabor) y de la determinación de pH, sólidos totales (ST), sólidos solubles (SS), fenoles solubles totales (FST) y fenoles solubles individuales: hidroxitirosol (HT).

Determinaciones analíticas

La determinación de pH se realizó utilizando un pH-metro (Hanna HI 8424, Portugal) sobre una suspensión 1:5 v/v.

Los ST se calcularon según el método descrito por Martínez y colaboradores (2021) [8].

Los SS se midieron con refractómetro (Atago, modelo 3880, Japón) y se expresaron en grados brix (°Brix).

La determinación de FST se realizó de acuerdo al método colorimétrico descrito por Singleton y Rossi (1965) [6], con reactivo de Folin-Ciocalteu y medido en lector de micro placas (Biotek 800TS, Vermont, U.S.A.) a 630 nm. Los resultados se expresaron como mg de ácido cafeico/L de muestra.

Los fenoles solubles individuales de interés se cuantificaron mediante cromatografía líquida de alta resolución HPLC-DAD (Shimadzu Prominence LC), utilizando columna marca Teknokroma®, modelo Mediterránea Sea C18 (5µm de tamaño de partícula, 250 x 4,6 mm de diámetro interior). Los análisis se realizaron siguiendo el método descrito por Fernández-Bolaños y colaboradores (2002) [7].

Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

Ensayos de estabilidad oxidativa

Se realizaron ensayos de estabilidad oxidativa acelerada a 110 °C según el método Rancimat descrito por Gutiérrez (1989) [9], utilizando un equipo Methrohm CH9100.

Se seleccionó sebo de pollo como matriz de ensayo por ser el principal ingrediente graso en la alimentación animal [10]. Esta matriz fue ensayada sin antioxidantes agregados, con BHT (200 ppm), con CBO (200 ppm de HT) y con EBO (200 ppm de HT). Los ensayos se realizaron por duplicado.

Ficha técnica de producto CBO

A partir de los resultados obtenidos, se elaboró una ficha técnica del producto CBO con el objetivo de ser utilizada en las siguientes fases de la ejecución del plan de maduración tecnológica.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo con media y desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la fracción líquida obtenida

La composición química de la fracción líquida obtenida por el tratamiento industrial de alperujo se detalla en la tabla 1. Se observa que presentó niveles de sólidos solubles, fenoles totales y perfil de compuestos fenólicos similares a los reportados previamente por Rodríguez y colaboradores (2023) [11], confirmando que la aplicación de tratamientos térmicos favorece la hidrólisis de compuestos fenólicos complejos e incrementa la solubilización de fenoles simples hidrosolubles. Respecto del alperujo original (sin tratamiento), los FST y el HT se vieron incrementados en 40 % y 385 %, respectivamente.

Tabla 1. Composición química de AL y de FL

Muestra/ Determinación	AL	FL
FST (ppm)	3121 ± 142,2	4334 ± 111,9
HT (ppm)	127 ± 54,4	615 ± 19,0
SS (°Brix)	N/A	6 ± 0,5
ST (mg/L)	N/A	24 ± 2,3

N/A No aplica. Se exponen valores medios ± desviación estándar.

Caracterización del CBO y del EBO

La composición química del CBO y EBO se detalla en la tabla 2. Se puede observar que ambos productos presentaron niveles de FTS y HT considerablemente superiores a los observados en la FL inicial y comparables entre sí, lo que sugiere que ambos métodos permitieron preservar a los fenoles presentes inicialmente. En concordancia con el proceso de obtención de cada uno de ellos, el CBO conserva todos los componentes presentes en la fracción líquida, presentando una concentración más elevada de SS y ST, mientras que el EBO fue purificado en el proceso cromatográfico, razón por la que la concentración de ambos parámetros se redujo notablemente.

Tabla 2. Composición química de EBO y CBO

Parámetro	CBO	EBO
FST (ppm)	11800 ± 287,4	9400 ± 358,8
HT (ppm)	2030 ± 56,5	1660 ± 29,7
SS (°Brix)	20,0 ± 0,3	9,8 ± 0,3
ST (mg/L)	163 ± 17,6	60 ± 6,6

Se exponen valores medios ± desviación estándar

Estabilidad oxidativa de sebo de pollo

La figura 2 muestra los resultados obtenidos en los ensayos de estabilidad oxidativa acelerada en sebo de pollo. Las líneas rojas indican el tiempo de inducción de cada tratamiento, es decir, el tiempo requerido para desencadenar el proceso de oxidación lipídica. Se puede observar que el sebo de pollo sin antioxidantes agregados presentó un tiempo de inducción medio (t_i) de 1,82 h, con agregado de 200 ppm de BHT el t_i fue de 5,64 h, con 200 ppm de EBO el t_i fue de 15,10 h y con agregado de 200 ppm CBO el t_i fue de 15,38 h.

Se observa que el agregado de EBO y CBO presentaron tiempos de inducción entre 660-680 % superiores al testigo sin antioxidantes y 270-280 % superiores al sebo con BHT.

En conjunto, el análisis de resultados permite concluir que ambos productos EBO y CBO mostraron capacidad para retardar la oxidación lipídica en sebo de pollo y podrían presentarse como un sustituto del BHT. Finalmente, considerando que el proceso diseñado para la obtención del CBO contempla la mayor simplicidad posible y un nivel de complejidad tecnológica similar al de una empresa típica de elaboración de aceite de oliva, por razones estratégicas productivas, económicas, comerciales y ambientales se considera avanzar en el plan de maduración tecnológica de este producto antioxidante [12].

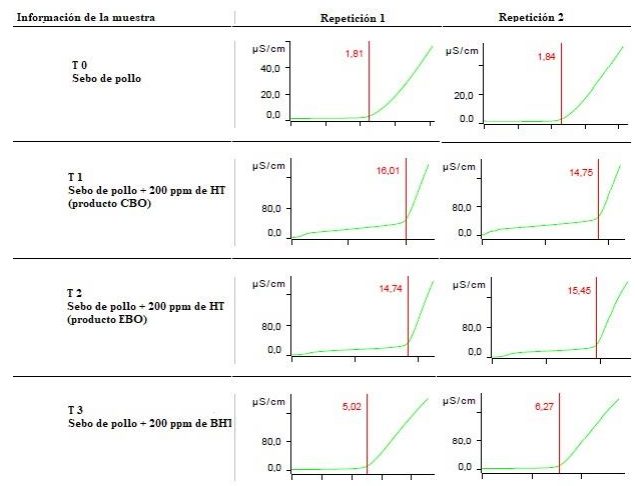


Figura 2. Resultados de los análisis de estabilidad oxidativa acelerada sobre sebo de pollo sin antioxidantes y con el agregado de CBO, EBO y BHT. Resultados expuestos como tiempo de inducción en horas.

Ficha técnica de CBO

La figura 3 muestra la ficha técnica del producto CBO desarrollada para avanzar en el proceso de maduración tecnológica de este producto.

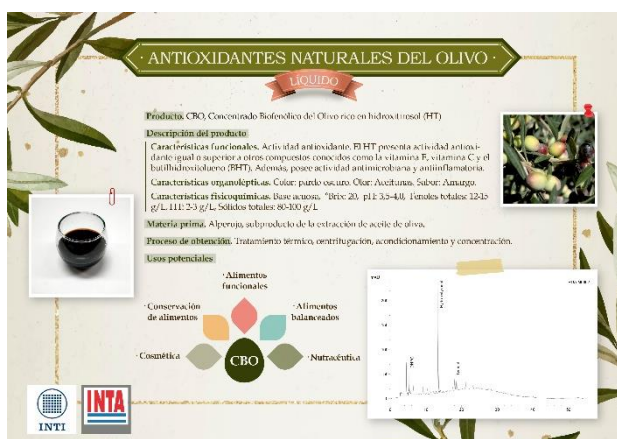


Figura 3. Ficha técnica CBO elaborada para avanzar en el proceso de maduración tecnológica de este producto.

CONCLUSIONES

En conjunto, los resultados indican que es posible obtener un producto concentrado fenólico natural (CBO) a partir del alperujo con elevada capacidad antioxidante y con gran potencial para la sustitución de antioxidantes de síntesis. Por otra parte, se logró diseñar un proceso de obtención de este producto con la mayor simplicidad posible y con un nivel de complejidad tecnológica similar al de una empresa típica de elaboración de aceite de oliva.

Por razones estratégicas productivas, económicas, comerciales y ambientales se considera avanzar en el plan de maduración tecnológica de este producto antioxidante por combinar la mejor opción entre desempeño funcional del mismo con un proceso de obtención que minimizará la inversión y operación a escala productiva. En ese sentido, las barreras de adopción del desarrollo por parte del sector olivícola se reducirían a su mínima expresión, agregando a su vez un alto impacto ambiental positivo en la recuperación del agua de proceso en la misma finca.

En conclusión, el desarrollo de producto CBO podría representar una oportunidad de negocio interesante para el sector olivícola, a considerar en el marco de estrategias de economía circular, mientras que las empresas de nutrición animal tendrían disponible un aditivo natural con propiedades nutracéuticas que les permitirá acceder a nuevos mercados. Ambos aspectos generarán una sinergia positiva en el desarrollo sustentable de la industria nacional.

REFERENCIAS

- [1] Della Vecchia, N. (2024). “Cifras y tendencias del mercado de alimentos para mascotas en Argentina”. Forbes Argentina. <https://www.forbesargentina.com/negocios/el-aumento-precios-pone-jaque-negocio-streaming-argentina-n52381>
- [2] Castro, G. (2023). “Estrategias nutricionales para reducir el uso de agentes antimicrobianos en la producción animal”. *Revista Agroindustria-CAENA*, 159, 12-14. <https://www.caena.com.ar/#!/-revista-agroindustria/>
- [3] Nunes, M.A., Pimentel, F.B., Costa, A.S.G., Alves, R.C., y Oliveira, M.B.P.P. (2016). Olive byproducts for functional and food applications: challenging opportunities to face environmental constraints. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 35, 139–148.
- [4] Fernández-Prior, Á, Bermúdez-Oria, A., Millán-Linares, M.D.C., Fernández-Bolaños, J., Espejo-Calvo, J.A., Rodríguez-Gutiérrez, G. (2021). Anti-inflammatory and antioxidant activity of hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenylglycol purified from table olive effluents. *Foods*. 10. <https://doi.org/10.3390/foods10020227>
- [5] Roig, A., Cayuela, M.L., y Sánchez-Monedero, M.A. (2006). An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management*. 26 (9), 960-969.
- [6] Singleton VL, Rossi JA. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, (3) 144-158.
- [7] Fernández-Bolaños, J., Rodríguez, G., Rodríguez, R., Heredia, A., Guillén, R., y Jiménez, A. (2002). Production in large quantities of highly purified hydroxytyrosol from liquid-solid waste of two-phase olive oil processing or “alperujo”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6804-6811.
- [8] Martínez, L. E., Rizzo, P. F., Bres, P. A., Riera, N. I., Beily, M. E., y Young, B. J. (2021). Compendio de

métodos analíticos para la caracterización de residuos, compost y efluentes de origen agropecuario y agroindustrial. *Ediciones INTA*.

[9] Gutiérrez, F. (1989). Determinación de la estabilidad oxidativa de aceites de oliva vírgenes. Comparación entre el método del oxígeno activo (OMA) y el método Rancimat. *Grasas y Aceites*, 40 (1-5).

[10] Renzi, L., Monetta, P. (2023). Sondeo de mercado de alimentos balanceados para el extracto biofenólico proveniente del alperujo. *IV Simposio de Residuos. Mendoza, Argentina*.

[11] Rodríguez M, Cornejo V, Rodríguez-Gutiérrez G, Monetta P. (2023). Optimization of low thermal treatments to increase hydrophilic phenols in the Alperujo liquid fraction. *Grasas Aceites 74 (1), e491*. <https://doi.org/10.3989/gya.0227221>

[12] Monetta, P., Renzi, L., Beccaría, J. (2023). Estudio de prefactibilidad de una Biorrefinería de Alperujo para la cuenca olivícola argentina. *IV Simposio de Residuos. Mendoza, Argentina*.