

Análisis del proceso de extracción de antioxidantes del hueso de oliva

Valentina Hernandez ¹, Ángela M. Idárraga ¹, Ivonne X. Cerón ¹, Juan M. Romero-García ², Eulogio Castro ²,
Javier A. Dávila ¹, Carlos A. Cardona ¹

¹ Instituto de Biotecnología y Agroindustria, Universidad Nacional de Colombia
sede Manizales, vhernandezp@unal.edu.co, amidarragav@unal.edu.co,
ixcerons@unal.edu.co, jadavilar@unal.edu.co, ccardonaal@unal.edu.co

² Departamento de Ingeniería Química, Ambiental y de los Materiales, Campus
Las Lagunillas, 23071, Jaén, España, jrgarcia@ujaen.es, ecastro@ujaen.es

Recibido: 22-09-2015. Aceptado después de revisión: 27-11-2015

Resumen. El cultivo del olivo se ha extendido mundialmente como consecuencia de los efectos benéficos del consumo de aceite de oliva. En el proceso de producción del aceite de oliva, el hueso de oliva es el principal residuo sólido generado. Las industrias de oliva de mesa también constituyen una de las mayores fuentes de hueso de oliva. Actualmente, dicho residuo es utilizado para producir energía como electricidad y calor mediante combustión directa. Sin embargo, existen otras posibilidades para aprovechar completamente esta fuente renovable y su valorización supondría una mejora económica para los agricultores. Además de su alto contenido de lignocelulósicos, el hueso de oliva se caracteriza también por contener compuestos fenólicos con propiedades antimicóticas y antibacterianas. Es por esta razón, que en este trabajo se propone la extracción de compuestos con actividad antioxidante mediante un proceso con fluidos supercríticos del hueso de oliva. Estas moléculas bioactivas pueden ser utilizadas en las industrias de alimentos, cosméticos, alimentos funcionales y aditivos nutraceuticos. Al realizar el análisis de porcentaje de inhibición con el método de DPPH se encontró una capacidad antioxidante de 5.63 mg trolox equivalente (TE) por g materia seca.

Palabras claves: hueso de oliva, fluidos supercríticos, antioxidantes, DPPH.

Abstract. Olive tree cultivation is spreading worldwide due to the beneficial effects of olive oil consumption. Olive oil production process and table olive industries are the major sources of olive stones. Currently, this by-product is used in direct combustion to produce energy as electricity or heat. However, there are other possibilities for taking full advantage of this renewable source, and its recovery would represent an economic improvement for farmers. The olive stone not only contains primarily lignocellulosic, but also it has revealed the presence of phenolic compounds with antifungal and antibacterial properties. For this reason, in this work the extraction of antioxidant compounds is proposed as a process with supercritical fluids for olive stone. These bioactive molecules can be used in the food industry, cosmetics, functional foods, and nutraceuticals additives. During the analysis of percent inhibition of DPPH method, an antioxidant capacity of 5.63 mg trolox equivalent (TE) per g dry matter was found.

Keywords: olive stone, supercritic fluids, antioxidants, DPPH.

1. Introducción

El hueso de oliva es el principal residuo generado en la industria de extracción de aceite de oliva y de producción de oliva de mesa, el cual está formado principalmente por compuestos lignocelulosicos. Estas industrias son las más representativas en el sector económico agroalimentario de los países del Mediterráneo, siendo España el principal productor mundial de aceite de oliva y olivas de mesa. En la región del Mediterráneo es donde se encuentra la mayor superficie de olivar plantada. Como consecuencia del alto crecimiento de la industria de olivo en los últimos años se ha extendido su cultivo también a países como Estados Unidos, Argentina y Australia, llegando a sumar una superficie mundial de casi 10 millones de hectáreas con una producción anual de olivas superior a

las 18 millones de toneladas (promedio años 2006-2012). Teniendo en cuenta que el hueso de oliva representa entre el 10-30 % (p/p) del fruto [1], existe una producción anual aproximada de 3 millones de toneladas de residuo sólido proveniente de la industria de la oliva.

Este residuo tiene una aplicación potencial como biocombustible para producción de electricidad y calor. Sin embargo, también es considerado materia prima para la obtención de otro tipo de productos de alto valor agregado. Por ejemplo, el hueso de olivo contiene extractos con alta capacidad antioxidante (aproximadamente 5.5% en base seca), conteniendo principalmente hidroxitirosol y tirosol [2]. Por un lado, el hidroxitirosol es capaz de inhibir o retardar la velocidad de crecimiento de un amplio rango de bacterias y hongos [3]. Es por esta razón que estos compuestos tienen aplicación en las industrias alimenticia, cosmética, de alimentos funcionales y nutraceutica [4], entre otros. La extracción de polifenoles del hueso de olivo ofrece un doble beneficio, el de recuperar productos bioactivos con capacidad antioxidante y de alto valor agregado, mejorando la viabilidad económica del proceso y el de reducir la toxicidad de los subsecuentes pre-hidrolizados, incrementando el rendimiento de la hidrólisis enzimática o de las etapas de fermentación.

Teniendo en cuenta las variables que afectan la capacidad antioxidante de las moléculas bioactivas, como lo son la luz y la temperatura, la tecnología de extracción con fluidos supercríticos es una metodología atractiva para la conservación de las propiedades antioxidantes del hueso de olivo. El fluido supercrítico con mayor uso es el dióxido de carbono, cuyas condiciones supercríticas son de fácil alcance (32°C y 71 bar) y permaneciendo en el rango de temperatura que no afectan las propiedades antioxidantes de las moléculas, donde se ha comprobado en trabajos de otros autores que la capacidad antioxidante se ve afectada a temperaturas por encima de los 55°C [5]. El dióxido de carbono en condiciones supercríticas puede ser aprovechado como fluido de extracción ya que este tiene un comportamiento de líquido expandido y gas denso, teniendo el comportamiento de ambos estados de la materia especialmente de selectividad y difusividad [6].

Es así que en este trabajo se realizó la extracción de compuestos con capacidad antioxidante con dióxido de carbono en condiciones supercríticas, teniendo como objetivo obtener un extracto con alta capacidad antioxidante a partir de un residuo de las plantaciones de olivar.

2. Materiales y métodos

2.1 Materia prima

El hueso de olivo utilizado en este trabajo fue suministrado por la fábrica “S. C. A. Unión Oleícola Cambil” ubicada en Jaén, España. El hueso fue separado del orujo de oliva, con un separador de tamices de 6 mm, que es el tamaño estándar en este proceso, lavado con agua para liberarlo de cualquier residuo de la fruta. Fue secado al aire libre y finalmente en un horno se termina el secado a 50°C por 24 h. La composición de la materia prima fue determinada de acuerdo con los métodos analíticos para biomasa del NREL (National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, USA).

2.2 Reactivos

Etanol al 60%, suministrado por Sigma-Aldrich, fue utilizado como co-solvente para recolectar el extracto. Dióxido de Carbono (con una pureza de más de 99.9%)

proporcionado por Oxígenos de Colombia S.A. fue utilizado como agente de arrastre. Los reactivos fueron utilizados sin ninguna purificación adicional

2.3 Descripción del proceso

El objetivo en la extracción con fluidos supercríticos es sacar provecho de las condiciones del solvente elegido en condiciones por encima de su punto crítico. En este trabajo se usó dióxido de carbono, el cual en condiciones supercríticas se considera un gas denso, este tiene la capacidad de difundirse fácilmente en la matriz sólida arrastrando los componente de interés, obteniendo así compuestos purificados dependiendo de las condiciones de trabajo con las que se realice la extracción. Es entonces la modificación de la densidad del fluido dependiendo de la presión una de las mayores ventajas del proceso de extracción supercrítica [7]. El diagrama general de un proceso de extracción supercrítica se presenta en la Figura 1.

En el proceso de extracción supercrítica, el dióxido de carbono inicialmente se enfría a una temperatura inferior a los -14°C para que este gas se licúe y esté en fase líquida antes de ingresar al sistema de compresión con el objeto de evitar la cavitación. Luego, el CO_2 presurizado a presiones mayores de 73 bar es calentado hasta la temperatura crítica (31°C) o una temperatura superior, dicha condición se mantiene durante todo el proceso de extracción. El CO_2 a condiciones supercríticas, se difunde a través de la materia prima dentro del tanque de extracción arrastrando los componentes de interés. Una vez realizada la extracción, el solvente junto con el extracto se dirige hacia el tanque recolector, en donde se logra la separación por descompresión hasta 1 atm, finalmente obteniendo en el tanque un extracto precipitado [8]-[10].

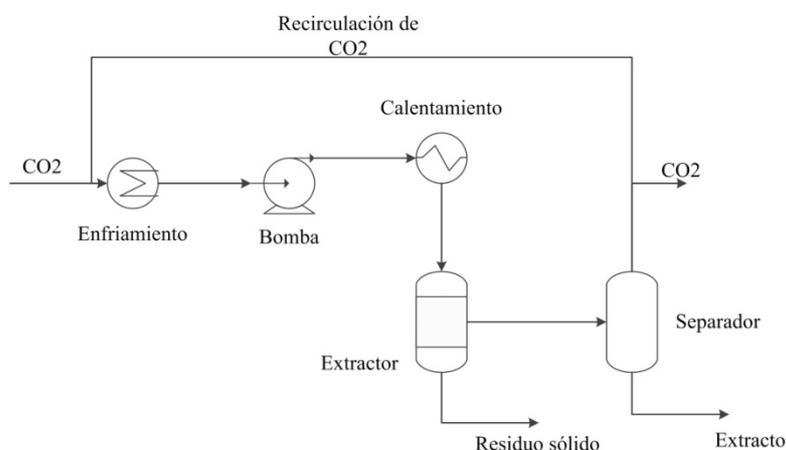
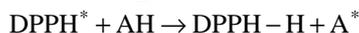


Figura 1. Diagrama de flujo simplificado de un proceso de extracción con CO_2 supercrítico.

El equipo utilizado experimentalmente tiene las siguientes características: El extractor tiene una capacidad de 122 ml y soporta una presión máxima de 350 bar. La temperatura puede variar desde 292.15 a 373.15 K, y la velocidad de flujo del fluido supercrítico de 0.5 a 5 ml/min. Las condiciones de extracción realizada en este trabajo fueron 318.15 K y 250 bar. Las mezclas de extracto-etanol obtenidas fueron cuantificadas utilizando espectrometría UV.

2.4 Métodos de análisis

Los antioxidantes son sustancias cuya acción consiste en inhibir la tasa de oxidación de los radicales libres. El método más utilizado para determinar la capacidad antioxidante es el método del DPPH [11], [12]. Este método evalúa la habilidad de un componente de inactivar radicales por su reacción con el radical estable 2,2 – difenil – 1 – picril hidrazil (DPPH) en una solución de metanol. La reducción del DPPH se sigue monitoreando la disminución en su absorbancia a una longitud de onda característica durante la reacción:



El electrón desapareado del radical libre DPPH* presenta una fuerte absorción a un máximo de 515 nm con un color púrpura. El color pasa de púrpura a amarillo cuando la absorptividad molar del radical DPPH* a 515 nm pasa de 9600 a 1640 cuando el electrón desapareado del radical DPPH* está pareado con un hidrógeno de un radical libre de un antioxidante para formar DPPH – H. La decoloración resultante es estequiométrica con respecto al número de electrones capturados [12].

2.5 Simulación del proceso

Se utilizó el paquete comercial Aspen Plus v8.2 (Aspen Technology, Inc. USA) para simular el proceso de extracción de antioxidantes a partir de hueso de olivo, con el objetivo de generar los balances de materia y energía para calcular los requerimientos de materia prima, consumibles y servicios. El modelo termodinámico NRTL (Non-Random Two-Liquid) fue utilizado para calcular los coeficientes de actividad de la fase líquida y la ecuación de estado de Hayden-O'Connell fue utilizada para la descripción de la fase de vapor.

El paquete comercial Aspen Economic Analyzer V8.0 (Aspen Technologies, Inc., USA) fue utilizado para calcular los costos de capital y operación del proceso. Este análisis fue estimado para un periodo de 10 años, utilizando el método de la línea recta para calcular la depreciación del capital.

3. Resultados y discusión

3.1 Materia prima

El hueso de olivo mostrado en la Figura 2 fue caracterizado logrando obtener la composición en humedad, celulosa, hemicelulosa, lignina, extractivos y cenizas, dicha caracterización se encuentra consignada en la Tabla 1.



Figura 2. Hueso de olivo.

Tabla 1. Composición fisicoquímica del hueso de olivo.

Componente	%
Celulosa	20.10
Hemicelulosa	29.92
Lignina	38.87
Extractos	10.54
Cenizas	0.57
Total	100

Contenido de humedad: 7.71%

Conociendo la caracterización detallada del hueso de olivo, es posible tener una tentativa de los productos a obtener a partir de este material, específicamente para este trabajo, el contenido de extractivos para los que en su composición tienen moléculas con capacidad antioxidante.

3.2 Extracción con fluidos supercríticos

El proceso de extracción considera la liquefacción, presurización y ajuste de temperatura del dióxido de carbono por encima de las condiciones críticas. Posteriormente, este fluido en condiciones supercríticas fluye a través de la matriz sólida arrastrando los compuestos de interés. La extracción con dióxido de carbono supercrítico fue modelada empleando las ecuaciones de estado Peng Robinson y Redlich-Kwong que describen la fase líquido y vapor a temperaturas moderadas y presiones elevadas. El dióxido de carbono fue utilizado como agente de extracción en el proceso supercrítico del hueso de oliva. La extracción fue llevada a cabo a 200 bar y 45°C, utilizando 19 g aproximadamente de materia prima y 100 ml de etanol al 60% en volumen, como co-solvente, durante 45 minutos. El extracto obtenido se caracterizó en cuanto a su capacidad de inhibición de radicales libres con el método de DPPH, teniendo como resultado un extracto con una capacidad antioxidante de $5.63 \text{ mg}_{TE}/\text{g}_{\text{hueso seco}}$. Al ser comparado con las hojas de olivo que presentan una capacidad de $12.7 \text{ mg}_{TE}/\text{g}_{\text{hojas seco}}$, se tiene una capacidad de casi la mitad que representa un valor agregado para la utilización integral del hueso de olivo, representando una nueva posibilidad de uso para dicho residuo sólido.

3.3 Simulación

Para efectos de simulación, 100 kg/h de hueso de oliva han sido considerados como materia prima. En la Figura 3 se presenta la distribución de costos del proceso de extracción de hueso de olivo con CO₂ supercrítico utilizando etanol como co-solvente. De acuerdo con los resultados, el factor económico que más afecta el proceso de extracción con fluidos supercríticos es la materia prima, debido al alto consumo de dióxido de carbono y co-solvente.

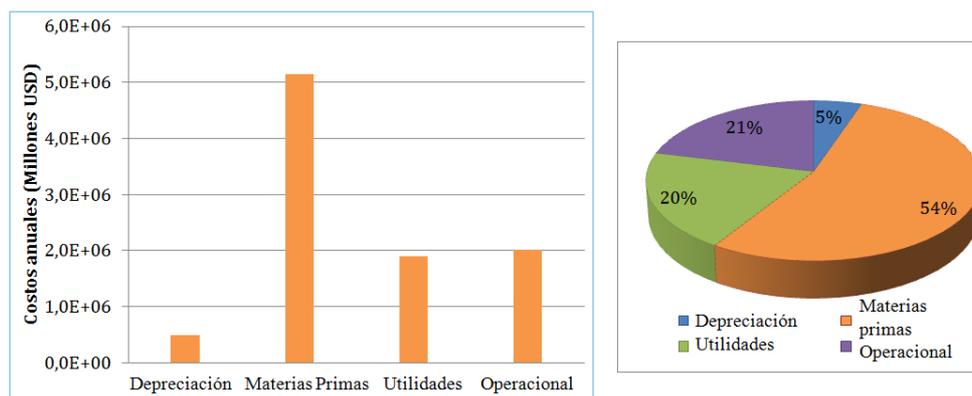


Figura 3. Distribución de costos del proceso de extracción de antioxidantes del hueso de oliva.

Los costos operacionales y de utilidades son una parte mayoritaria de los gastos en la obtención de antioxidantes a partir del hueso de olivo, ambos rubros suman alrededor de 41% de los costos de producción, entre los gastos que generan dichas cifras está el costo de subenfriamiento del dióxido de carbono, el uso de altas presiones en el proceso y el uso de equipos de alto riesgo. La depreciación encontrada se ve relacionada hacia el uso de equipos de uso continuo y de alto desgaste, que en este proceso se ve representado en el uso de compresores y equipos que resistan altas presiones.

4. Conclusiones

Es posible el uso de hueso de olivo para un proceso diferente a la producción de energía mediante la combustión. Es viable el uso de este residuo para otros fines como el de obtención de biomoléculas con capacidad antioxidante, las que son de alto interés en la industria alimenticia, cosmética y química.

De acuerdo con los resultados que se obtuvieron en este trabajo, se comprueba que el hueso de olivo es una materia prima de donde se pueden obtener productos con valor agregado.

Los solventes (dióxido de carbono y etanol) utilizados para la extracción son la fuente de mayor gasto económico de acuerdo al análisis económico realizado con el software *Economic analyzer* del paquete de Aspen plus.

Agradecimientos

Los autores expresan su gratitud a la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, a la Dirección de Investigación y Extensión, de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, a los proyectos de Investigación Diseño de Biorefinerías Sostenibles (código 157) y Procesos Químicos, Catalíticos y Biotecnológicos (código 16081) de la Dirección de Investigaciones de Manizales (DIMA), al Departamento Administrativo de Ciencia Tecnología e Innovación COLCIENCIAS, a la Escuela Internacional de Doctorados en Agroalimentación, a la Universidad de Jaén y al Proyecto Excelencia AGR-6103 de la Junta de Andalucía por financiar este trabajo.

Referencias

- [1] A. Garrido Fernandez, M. Fernandez-Diez, and M. Adams, *TABLE OLIVES: Production and Processing*. Springer Science & Business Media, 1997.
- [2] P. Adapa, L. Tabil, and G. Schoenau, «Grinding performance and physical properties of non-treated and steam exploded barley, canola, oat and wheat straw», *Biomass and Bioenergy*, vol. 35, no. 1, pp. 549–561, 2011.
- [3] A. Pattiya, S. Sukkasi, and V. Goodwin, «Fast pyrolysis of sugarcane and cassava residues in a free-fall reactor», *Energy*, vol. 44, no. 1, pp. 1067–1077, 2012.
- [4] D. Mansur, T. Tago, T. Masuda, and H. Abimanyu, «Conversion of cacao pod husks by pyrolysis and catalytic reaction to produce useful chemicals», *Biomass and Bioenergy*, vol. 66, pp. 275–285, 2014.
- [5] a. Navarrete, M. Herrero, A. Martín, M. J. Cocero, and E. Ibáñez, «Valorization of solid wastes from essential oil industry», *J. Food Eng.*, vol. 104, no. 2, pp. 196–201, May 2011.
- [6] E. Reverchon, R. Adami, S. Cardea, and G. Della Porta, «Supercritical fluids processing of polymers for pharmaceutical and medical applications», *J. Supercrit. Fluids*, vol. 47, no. 3, pp. 484–492, 2009.
- [7] J. L. Martínez, *Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds*. 2008.
- [8] I. X. Cerón, J. C. Higueta, and C. a. Cardona, «Design and analysis of antioxidant compounds from Andes Berry fruits (*Rubus glaucus* Benth) using an enhanced-fluidity liquid extraction process with CO₂ and ethanol», *J. Supercrit. Fluids*, vol. 62, pp. 96–101, Feb. 2012.
- [9] J. Moncada, C. a. Cardona, and Y. a. Pisarenko, «Solubility of some phenolic acids contained in citrus seeds in supercritical carbon dioxide: Comparison of mixing rules, influence of multicomponent mixture and model validation», *Theor. Found. Chem. Eng.*, vol. 47, no. 4, pp. 381–387, Aug. 2013.
- [10] I. X. Cerón, R. T. L. Ng, M. El-Halwagi, and C. a. Cardona, «Process synthesis for antioxidant polyphenolic compounds production from *Matisia cordata* Bonpl. (zapote) pulp», *J. Food Eng.*, vol. 134, pp. 5–15, 2014.
- [11] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, «Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity», *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, Jan. 1995.
- [12] R. Bortolomeazzi, N. Sebastianutto, R. Toniolo, and A. Pizzariello, «Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential», *Food Chem.*, vol. 100, no. 4, pp. 1481–1489, 2007.