

Procesos para la obtención de aditivos alimentarios a partir de residuos de la industria agroalimentaria gallega

MEDINA, I., TORRES, J.L., NÚÑEZ, M.J. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES MARINAS (CSIC, VIGO). DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA. UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS Y AMBIENTALES (CSIC, BARCELONA)



La inmensa producción de residuos que supone la normal actividad del hombre es uno de los principales problemas con los que nos encontramos en la actualidad. Por ello se hace necesaria la búsqueda de procesos que permitan utilizar estos residuos para diversas aplicaciones, con lo cual se podrían obtener además importantes ingresos económicos, ya que esta posibilidad crea nuevas fuentes de riqueza que aportan una mayor rentabilidad al proceso industrial de partida.



Los residuos agroindustriales, cuya eliminación suele suponer un problema de gestión para las empresas productoras, son fuentes especialmente atractivas por su contenido en compuestos de diferente naturaleza, como azúcares, pigmentos, fibra alimentaria, proteína, polifenoles, lignina,.... La extracción de estas distintas sustancias revalorizaría así una fracción de desecho, y originaría compuestos útiles en el campo alimentario, médico, ó en el sector químico. Entre los residuos agroalimentarios abundantes en Galicia destaca sobre todos el bagazo de uva, aunque también tiene cierta importancia el de manzana. Ambos han sido utilizados tradicionalmente como abono, ó enviados a plantas que realizan compostaje a partir de materias vegetales. Pero un análisis previo de los bagazos revela en ambos la presencia de compuestos fenólicos, que se podrían emplear como aditivos antioxidantes una vez fraccionados e identificados.

En la industria agroalimentaria gallega juega un papel primordial la industria vitivinícola. A finales de los años 90 la producción de uva para vinificación se acercaba a 250.000 Tn, la gran mayoría en las provincias de Pontevedra y Orense, provincia esta última donde las empresas de este sector suponen más del 45% de las industrias agrarias. La producción de uva para vinificación origina unas 62.000 Tn anuales de bagazo crudo, cantidad que se reduce tras ser procesada en alcoholera, siendo los bagazos de estas últimas industrias el principal subproducto a revalorizar. A menudo el proceso de destilación no altera en gran medida los polifenoles del bagazo, e incluso en ocasiones tras la destilación se detecta un aumento de la capacidad antioxidante.

En cuanto al bagazo de manzana residuo de la fabricación de sidra, proceso que en Galicia realizan al menos dos empresas (Galicia Manzanera y Sidrería Gallega), la cantidad anual se puede estimar en unas 10.000 Tn anuales, con tendencia al alza, ya que p.e en la provincia de Lugo las plantaciones se han cuadruplicado en los últimos años; esta evolución favorecerá presumiblemente el procesado industrial hacia sidra, y por tanto la cantidad de bagazo generado.

Las técnicas de extracción de distintos compuestos son variadas, abarcando desde la tradicional extracción con disolventes hasta procesos de extracción supercrítica. Si el objetivo es aislar los compues-

tos polifenólicos potencialmente útiles como aditivos antioxidantes en alimentos, los disolventes más utilizados han sido agua, metanol y etanol, pudiendo en ocasiones el rendimiento en estas sustancias con ayuda de enzimas hidrolíticas.

La extracción con fluidos supercríticos (SFE), que se basa en las propiedades físico-químicas que adquieren algunas sustancias cuando se les somete a presiones y temperaturas cercanas a los valores críticos tiene gran importancia en el aislamiento de antioxidantes. Se ha demostrado en ocasiones que la actividad de los antioxidantes obtenidos por CO2 supercrítico es más alta que la de aquellos procedentes de técnicas tradicionales. En el caso de extracción de compuestos polares se puede añadir una baja proporción de un modificador como etanol.

En este artículo se pretende extraer compuestos antioxidantes de naturaleza polifenólica a partir de bagazos de uva y manzana. El primer objetivo es obtener un extracto optimizado en cuanto a su potencia antioxidante y relacionar estos resultados con el contenido en polifeno-

les. Por ello se ha empleado la extracción con disolventes, una técnica de fácil realización y de elección cuando se realiza a nivel de laboratorio en gran número de experimentos que permitan optimizar determinados parámetros.

Bagazo de uva

El término bagazo es utilizado en Galicia para designar el orujo como residuo de vinificación (el reglamento vitivinícola de la CEE lo define como el residuo resultante del prensado de las uvas frescas, fermentado ó no fermentado). El bagazo está compuesto por raspón, hollejo, pepitas y residuos orgánicos y minerales procedentes de las uvas; se estima que de 100 Kg. de uvas se obtienen unos 20-25 Kg. de bagazo, cantidad que disminuye si lo que se emplea es "bagazo de alcoholera", es decir, el residuo de la posterior destilación para obtener aguardiente, que queda empobrecido particularmente en hollejo. Las proporciones de los distintos componentes del bagazo varían considerablemente con el tipo de uva. Así, p.e la variedad Mencía tiene una propor-

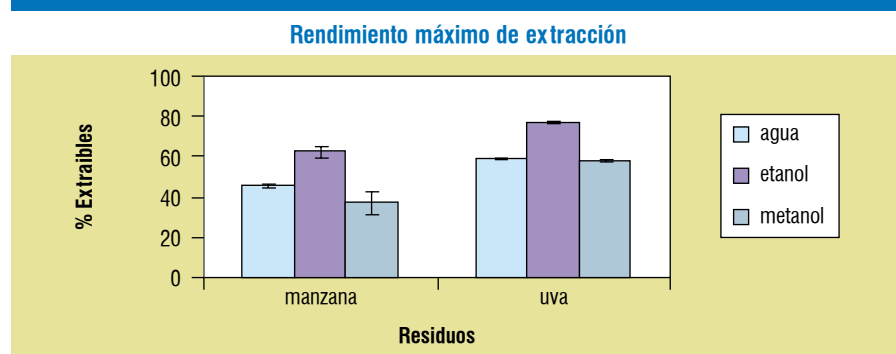
FIGURA 1: DESTILACIÓN DEL BAGAZO DE UVA



FIGURA 2: PRENSADO DE LA MANZANA EN EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE SIDRA



FIGURA 3: EXTRAÍBLES EN LOS DISTINTOS RESIDUOS



ción de raspón 3 veces menor que la variedad Godello, siendo bastante más alta la proporción de hollejo y pepitas.

Los compuestos polifenólicos de la uva se encuentran preferentemente en la piel y en las pepitas; la piel contiene un 7.8% de las catequinas totales de la uva y un 17% de los taninos. En las pepitas el contenido es mucho mayor, pues contienen el 92% de las catequinas y el 80% de los taninos totales de la uva; se deduce que el contenido de estos compuestos en el hollejo es baja. La cantidad y calidad de polifenoles en la uva depende sobre todo de la variedad, clima, terreno y de las prácticas de cultivo.

Bagazo de manzana

El bagazo de manzana proviene principalmente de la industria de sidra y zumos, aunque en este artículo se considerara solo el de sidra, dado que el resultante de la industria de zumos, por el proceso de obtención está muy empobrecido en compuestos antioxidantes. Los desechos de la sidra son ricos en polisacáridos, y se consideran una im-

portante fuente de fibra dietaria; contienen también compuestos polifenólicos, entre otros ácido clorogénico y presentan una cierta proporción de taninos condensados.

Aunque el prensado para obtener el zumo se lleva a cabo en prensas similares a las empleadas con uva, en el caso de la manzana se suele previamente triturar para conseguir una pasta que macera durante cierto tiempo, en el que se oxida y ablanda. Este ablandamiento es debido a las sustancias pécticas de la manzana.

Proceso de extracción

Los bagazos de uva fueron proporcionados por las empresas Vitivinícola del Ribeiro (Leiro, Orense) y Aguardientes de Galicia (Vedra, A Coruña), en tanto que el bagazo de manzana lo proporcionó CIBER (Porriño, Pontevedra). Estos materiales se caracterizaron en cuanto a humedad y contenido en extraíbles (en este caso en agua, metanol y etanol), mostrándose los resultados en la Tabla 1 y la Figura 3.

Como se puede comprobar, el etanol fue el mejor disolvente extractor, y el bagazo de uva el residuo que más extraíbles contiene, con un porcentaje que casi alcanza el 80%, siendo el 60% para manzana. De todas formas, más que los extraíbles interesa cuantificar los polifenoles y su poder antioxidante, lo que se llevará a cabo mediante el método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) y la captación de radicales libres (% Inhibición, DPPH), (Brand-Williams et al, 1995).

Un aspecto importante y que a veces se olvida es la optimización del rendimiento de extracción. Lo llevamos a cabo mediante un diseño factorial de experimentos, variando tres parámetros, temperatura, tiempo de extracción y relación líquido/sólido. Sus rangos de variación fueron de 30-90 min, de 25-50°C y L/S entre 1 y 5. En cada experimento utilizamos 10g. de bagazo de manzana y 20 g. de bagazo de uva. En el caso de uva se ensayaron distintas variedades; como resumen se puede decir que en bagazos de prensado las uvas tintas ofrecieron mejores resultados, pero en cuanto a poder antioxidante, los bagazos de alcoholera procedentes de uva blanca se mostraron superiores. En todos los casos, los mejores resultados para actividad antioxidante se obtienen para las mayores temperaturas y las más bajas relaciones líquido-sólido. En uva, el efecto del tiempo fue variable, en tanto que en bagazo de manzana los tiempos largos proporcionaron los mejores resultados. En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en las condiciones óptimas para los dos alcoholes, disolventes que ofrecieron los mejores resultados. Los datos de bagazo de uva presentados corresponden a una mezcla de variedades tintas de bagazos de prensado, procedentes de la zona del Ribeiro. Destaca la alta actividad antioxidante del bagazo de uva, pero también que el % de extraíbles queda muy lejos del máximo obtenible.

En las condiciones óptimas encontradas se procedió a nuevas extracciones empleando una cantidad de materia prima de partida 4 veces mayor, a fin de obtener una cantidad suficiente de extracto para proceder a una primera purificación e identificación de componentes. Se obtiene tras la purificación un extracto acuoso y otro denominado **OW** en el que van las sustancias solubles en agua y acetato de etilo. Realizada una primera identificación por HPLC-Masas, se con-

FIGURA 4

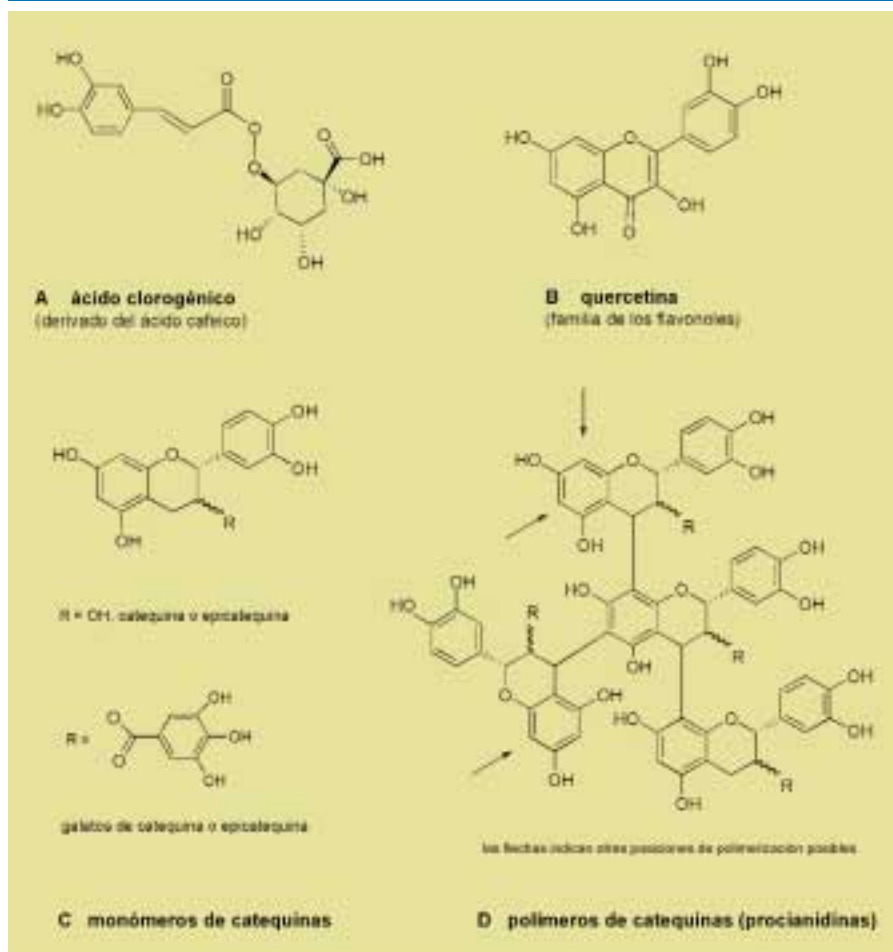
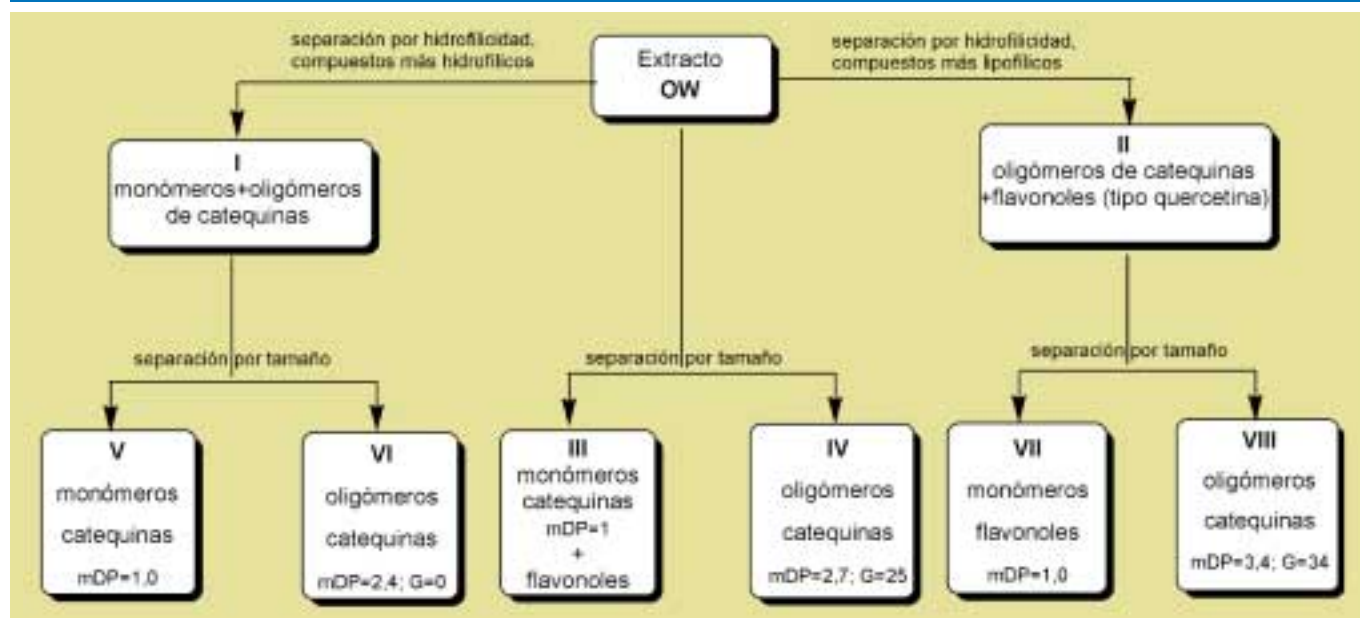


FIGURA 5: ESQUEMA DEL FRACCIONAMIENTO DE EXTRACTO POLIFENÓLICO DE BAGAZO DE UVA



cluye que los polifenoles mayoritarios en los bagazos de uva y manzana son:

Bagazo de Uva: derivados de ácido gálico, quercetina, catequina y resveratrol.

Bagazo de manzana: derivados de ácido clorogénico, p-cumárico, quercetina y luteolina.

Dado que todos estos compuestos pueden tener importantes y diversas aplicaciones, se impone el fraccionamiento a fin de identificar las distintas fracciones y proceder a su aplicación como aditivos alimentarios por separado, para seleccionar las más adecuadas.

Fraccionamiento

Todos, o la gran mayoría de los componentes de los extractos polifenólicos son posibles antioxidantes porque son capaces de captar y desactivar los llamados radicales libres, que, como se ha comen-

tado, están en el origen del deterioro de la mayoría de alimentos. Sin embargo, no todos los componentes de los extractos son igualmente eficaces porque hay que tener en cuenta que para actuar como tales, los antioxidantes han de llegar al lugar del alimento donde se producen las oxidaciones o donde se acumulan los radicales. Dado que la mayoría de los alimentos son sistemas complicados, en los que el agua, los lípidos y las proteínas forman estructuras muy ordenadas, la eficacia de un antioxidante, además de su capacidad intrínseca de captar radicales, dependerá de su capacidad de distribuirse por el alimento y llegar a su lugar de acción. Un factor muy importante relacionado con la efectividad de un antioxidante es su tendencia a disolverse preferentemente en agua (hidrofilicidad), en aceite (lipofilicidad), o en ambos (amfilicidad).

El tamaño y la flexibilidad del antioxidante son características relacionadas con las anteriores. En la Figura 4 se muestra la estructura de algunos de los componentes mayoritarios de los extractos de manzana y uva. Por ejemplo, si nos fijamos en la Figura 4, apartados C y D, aunque las unidades constituyentes son las mismas (catequina o epicatequina), a efectos de eficacia antioxidante no es lo mismo que éstas estén en forma monomérica (C) u oligomérica (pequeños polímeros) (D), como se verá más adelante. Además, el hecho de que los monómeros o polímeros pueden contener unidades de galato (Figura 4) también tiene su importancia.

Existen técnicas cromatográficas, (separación por paso a través de una columna rellena con un polímero que discrimina unos componentes de otros) que nos han permitido obtener fracciones

FIGURA 6: APARATO PARA EL FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO POLIFENÓLICO



que contienen polifenoles con componentes de diferente tamaño e hidrofiliidad. Esto se consiguió mediante el empleo de dos rellenos distintos, uno que separa mayoritariamente por hidrofiliidad y otro que separa mayoritariamente por tamaño. En la Figura 5 se muestra el esquema utilizado para obtener, a partir del extracto **OW** de bagazo de uva, fracciones que posteriormente fueron evaluadas como antioxidantes alimentarios. Mediante una método puesto a punto en nuestros laboratorios (Torres and Selga 2003) se han calculado los tamaños medios (mDP) y los porcentajes de grupos galato (G) en las fracciones.

Mediante el esquema de fraccionamiento de la Figura 5 se obtuvo un colección de fracciones que contenían mayoritariamente catequinas, flavonoles (similares a la quercetina, Figura 4B) o mezclas de ambos tipos. A su vez, las catequinas se separaron según su tamaño medio, entre 1 (Figura 4C) y 4 (Figura 4D) unidades constituyentes aproximadamente.

Los extractos naturales como aditivos alimentarios

Una de las principales alteraciones de los alimentos durante su tratamiento y conservación es la rancidez, que se manifiesta en la aparición de aromas y gustos desagradables, y conlleva a su rechazo por parte del consumidor. Estas alteraciones se relacionan con el deterioro oxidativo de las grasas o lípidos de los alimentos. Cuanto mayor sea el grado de insaturación de



los lípidos, es decir a mayor concentración de ácidos grasos insaturados, los alimentos serán más susceptibles a sufrir las reacciones de oxidación y por tanto a desarrollar con mayor velocidad la rancidez. El caso paradigmático son los aceites y grasas de los pescados. Los lípidos del pescado se caracterizan por su elevada concentración en ácidos grasos poliinsaturados (familia n-3). Estos componentes tienen asociado un papel beneficioso en la prevención de enfermedades coronarias o la arterioesclerosis y confieren al músculo de

pescado un elevado valor nutritivo como alimento, pero a su vez lo convierten en un sustrato muy susceptible a sufrir procesos deteriorativos.

La oxidación de grasas y aceites ha sido objeto de numerosos estudios y uno de los procedimientos más eficaces en la prevención de la oxidación de los alimentos grasos es la utilización de antioxidantes. Se trata de sustancias que son capaces de inhibir o retardar el desarrollo de la oxidación bien porque actúan impidiendo que ésta se inicie o bien impidiendo que ésta se propague.

Los antioxidantes más empleados han sido los sintéticos como el butilhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT), que poseen alta estabilidad, bajo coste y una buena eficacia antioxidante. Aunque el empleo de antioxidantes alimentarios sintéticos está permitido, las normativas internacionales tienden a restringir su empleo, y en concreto, la UE prohíbe su utilización en alimentos infantiles y aceites envasados. Su uso está regulado y restringido en numerosos países, y su utilización en alimentos está decreciendo. Debido a la oposición al empleo de antioxidantes sintéticos en la alimentación, las investigaciones se han dirigido a encontrar productos de origen natural con actividad antioxidante.

Los bagazos de uva y manzana han resultado ser una fuente de obtención de compuestos con una elevada actividad antioxidante in-vitro. Es preciso comprobar si esa actividad in-vitro se mantiene

FIGURA 7: FORMACIÓN DE PRODUCTOS DE OXIDACIÓN EN ACEITES DE PESCADO TRATADOS CON EXTRACTO DE MANZANAS

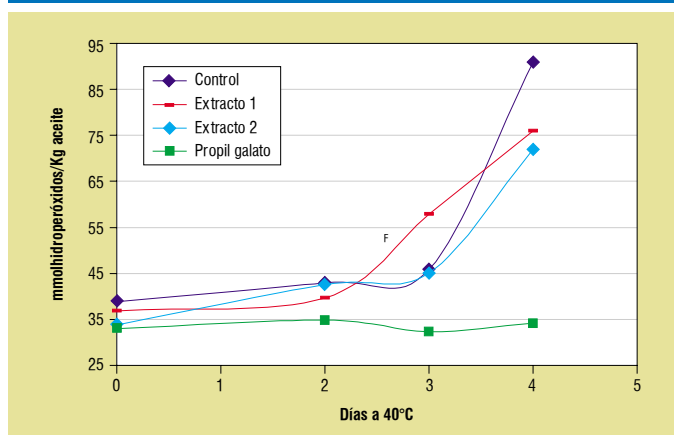
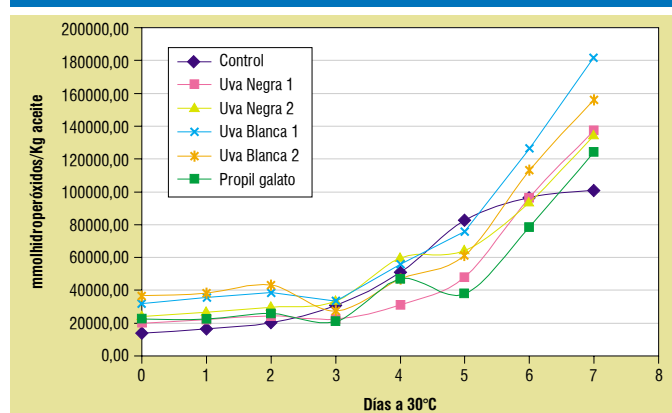


FIGURA 8: FORMACIÓN DE PRODUCTOS DE OXIDACIÓN EN EMULSIONES DE ACEITES DE PESCADO EN AGUA TRATADAS CON DIFERENTES EXTRACTOS DE UVAS





en los alimentos y por tanto, si los extractos y compuestos obtenidos son capaces de estabilizar la calidad de los alimentos al inhibir la oxidación de sus grasas. Como ejemplos representativos para ensayar la eficacia de los extractos y fracciones procedentes del bagazo se eligieron sistemas modelo basados en aceites de pescado y emulsiones de aceite de pescado en agua que simulan perfectamente a alimentos como sopas, mayonesas o salsas.

En las Figuras 7 y 8 se puede ver la efectividad de los extractos procedentes de bagazos de uvas y manzanas extraídos en metanol y descritos en la Tabla 2, para ralentizar la formación de los productos de oxidación en aceites de pescado y emulsiones de aceites de pescado en agua.

Los resultados indicaron que los extractos totales obtenidos mediante extrac-

ción sólido-líquido de bagazo de manzana fueron ligeramente eficaces en la inhibición de la oxidación de los aceites y muy eficaces en la inhibición de la oxidación de las emulsiones. Por el contrario, los extractos procedentes de bagazo de uvas no son eficaces en aceites y muy poco eficaces en emulsiones, incluso los extractos procedentes de uvas blancas han mostrado en ambos sistemas actividades pro-oxidantes.

Sin embargo, cuando los extractos totales son fraccionados según el esquema descrito en la Figura 5 y se emplean los compuestos aislados, la situación cambia totalmente. En la Tabla 3 puede verse el porcentaje de inhibición en la formación de productos de oxidación en aceites y emulsiones de aceites en agua tratados con los compuestos flavonoides aislados

a partir de las fracciones totales. Los resultados indicaron que mientras los extractos brutos procedentes del bagazo de uva, sin purificar y con una elevada concentración de compuestos glicosilados, no eran eficaces, las fracciones purificadas sí fueron capaces de retardar la rancidez oxidativa en aceites y emulsiones. El grado de polimerización o el número de grupos galato no influyó en la eficacia encontrada en los aceites donde el papel primordial parece ser la concentración molar. Sin embargo, el grado de polimerización y de la galoización, así como la anfifilicidad fueron determinantes en la eficacia antioxidante encontrada en emulsiones.

En los estudios sobre eficacia de nuevos antioxidantes de origen natural, es recomendable comparar la efectividad

**TABLA 1:
HUMEDAD DE LAS
MATERIAS PRIMAS**

Residuo	% Humedad
Uva	64,00 ± 1,44
Manzana	85,00 ± 0,10

**TABLA 2: CARACTERÍSTICAS DE LOS EXTRACTOS
DE BAGAZOS DE UVA Y MANZANA**

Residuo	% Extraíbles	% Polifenoles	Activ. antioxidante
Bagazo de Uva (Etanol)	33,6	0,20	79,4
Bagazo de Uva (Metanol)	33,4	0,35	93,0
B. Manzana (Etanol)	33,6	0,19	72,7
B. Manzana (Metanol)	20,2	0,22	70,0



obtenida con las nuevas moléculas frente a un antioxidante sintético. En este caso se eligió el propil galato por su similitud molecular a los compuestos obtenidos a partir de los bagazos. Tanto en los aceites de pescado como en las emulsiones de aceites de pescado en agua, se han identificado fracciones aisladas a partir de los extractos totales con eficacia comparable a la obtenida con el propil galato, incluso siendo empleadas a concentraciones molares inferiores a la del propil galato (Tabla 3).

Las fracciones que lograron los mejores resultados en la inhibición de la oxidación de las emulsiones se están empleando actualmente con éxito para ralentizar la rancidez de pescados grasos como jurel o caballa, almacenados congelados, en los que se está consiguiendo un aumento significativo del periodo de vida útil.

La conclusión o resultado más relevante de este trabajo es que es posible obtener y diseñar sistemas de INGREDIENTES basados en POLIFENOLES NATURALES para prevenir el desarrollo de la rancidez en productos alimenticios elaborados con aceites de pescado y músculo de pescado graso. Para que sean una

realidad nuestros grupos de investigación están actualmente probando su eficacia (actividad, compatibilidad organoléptica), su seguridad (biomedicina, toxicología) y su viabilidad económica (tecnología de extracción y purificación).

Agradecimientos

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia y Tecnología (PPQ2000-0688-C05) y a la Xunta de Galicia (PGIDT00 AGR20901PR, incentivos al Proyecto PPQ 2000-0688-C05 y proyecto PGIDIT02AL 40201PR) la financiación concedida.

Referencias

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Ber-set, C (1995) "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity" *Lebensm.-Wiss.technol.* 28:5-30.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A (1965). "Colorimetry of total phenols with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents" *Am.J.Enol.Vitic.* 16:44-158.
- Torres J. L. and A. Selga (2003). "Procyanidin size and composition by thiolysis with cysteamine hydrochloride and chromatography." *Chromatographia* 57: 441-445. ■

TABLA 3: PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LA FORMACIÓN DE COMPUESTOS DE OXIDACIÓN EN ACEITES DE PESCADO Y EMULSIONES DE ACEITES DE PESCADO EN AGUA MEDIANTE LA ADICIÓN DE FRACCIONES PURIFICADAS A PARTIR DE BAGAZO DE UVA (MEDIA ± SD)

Antioxidantes Fenólicos	Hidroperóxidos Día 5 Aceites	Hidroperóxidos Día 7 Emulsiones
Control	0,0 ± 0,3	0,7 ± 0,5
Extracto OW	30,6 ± 0,2	70,7 ± 2,1
Fracción I	43,5 ± 5,6	53,9 ± 2,8
Fracción IV	20,2 ± 2,3	63,7 ± 1,6
Fracción V	61,6 ± 2,3	49,9 ± 3,4
Fracción VI	44,7 ± 3,9	12,9 ± 1,5
Fracción VII	43,2 ± 4,1	11,6 ± 4,9
Fracción VIII	15,3 ± 0,7	30,7 ± 9,7
Propil galato	69,3 ± 1,7	69,5 ± 5,5