

Informe final publicable de proyecto

Desarrollo de un nuevo aceite de soja enriquecido en antioxidantes derivados de la industria olivícola con el fin de prevenir su degradación oxidativa.

Código de proyecto ANII: FMV_3_2020_1_162361

Fecha de cierre de proyecto: 01/01/2024

SÁNCHEZ CALVO, Beatriz (Responsable Técnico - Científico)
SANTOS AMARO, Mellany (Investigador)
VIEITEZ OSORIO, Ignacio (Investigador)
MASTROGIOVANNI RAVECCA, Mauricio (Investigador)
PETINGI OLIVERA, Sofía (Investigador)
RUBBO AMONINI, Homero (Investigador)
TROSTCHANSKY VASCONCELLOS, Andrés Ezequiel (Investigador)
CONDE INNAMORATO, Ana Paula (Investigador)
ELLIS DE LUCA, Ana Claudia (Investigador)
GÁMBARO GARCÍA, Adriana (Investigador)
IBAÑEZ SILVA, Facundo (Investigador)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE MEDICINA (Institución Proponente) \\
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE QUÍMICA \\
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. ESCUELA DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA \\
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA. INIA LAS BRUJAS \\
PROGRAMA DE DESARROLLO DE LAS CIENCIAS BÁSICAS. FUNDACIÓN PARA EL DESARROLLO DE LAS CIENCIAS BÁSICAS

Resumen del proyecto

El aceite de soja es uno de los aceites más consumidos a nivel mundial y desde el punto de vista nutricional, su recomendación e importancia viene dada por su composición rica en ácidos grasos poliinsaturados esenciales de gran relevancia en cascadas de señalización celular relacionadas con el sistema nervioso central, en procesos inflamatorios y en la respuesta inmune. Desde el punto de vista de su estabilidad oxidativa, es un aceite poco estable comparado con otros aceites vegetales, debido al alto contenido de PUFA y el bajo contenido en antioxidantes, haciéndolo más susceptible a su oxidación. Por otra parte, el alperujo, subproducto de la industria olivícola con bajo pH, de ahí su riesgo de contaminación de suelo, pero rico en compuestos fenólicos con función antioxidantes que protegen al aceite de la oxidación y con beneficios para la salud humana. El objetivo de este proyecto es la generación de un nuevo alimento funcional, mediante el enriquecimiento del aceite en polifenoles a partir del alperujo empleando métodos basados en química verde y evaluando la formación de NO₂-FA en condiciones gástricas, moléculas antioxidantes y citoprotectoras importante en diferentes patologías. Como resultados de este proyecto, se ha logrado optimizar el proceso de enriquecer el aceite de soja con compuestos bioactivos procedentes de alperujo de diferentes variedades, pudiéndose extrapolar a nivel industrial y utilizando química verde. Además se logró la mejora de su estabilidad oxidativa, siendo mayor con el alperujo de la variedad Coratina, condición en la que tiene mayor contenido de polifenoles, como también la formación de ácidos grasos nitrados en condiciones gástricas. De la evaluación sensorial no se obtuvieron resultados positivos y aun se debe seguir trabajando en ello.

Ciencias Médicas y de la Salud / Ciencias de la Salud / Nutrición, Dietética / Bioquímica Nutricional

Palabras clave: Aceite soja / Polifenoles del alperujo / Estabilidad oxidativa /

Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.

La demanda mundial de oleaginosos ha venido mostrando una dinámica activa caracterizada por un incremento registrado en la última década. En concreto, el aceite de soja es uno de los aceites más consumidos a nivel mundial y según estimaciones de FAO/OECD, la producción de soja y sus productos seguirán aumentando. La industria sojera en Uruguay, muestra hoy un complejo oleaginoso pujante con plataforma industrial capaz de abastecer las demandas internas de aceites. En la misma línea, en el mercado uruguayo se observa un mayor consumo del aceite de soja por encima de otros aceites vegetales, en gran parte por su valor económico [1] Desde el punto de vista de su composición química, el aceite de soja está compuesto por ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), específicamente de linoleico (omega-6) y linolénico (omega-3) (Base de datos de alimentos BEDCA). Su importancia a nivel de la nutrición y su recomendación por el Ministerio de Salud viene dado por el aporte de esos ácidos grasos esenciales, que no lo podemos sintetizar y deben ser aportados a través de la dieta. Además estos son precursores biosintéticos de araquidónico (serie omega 6), EPA y DHA (serie omega-3) son de gran relevancia en cascadas de señalización celular relacionadas con el sistema nervioso central, en procesos inflamatorios y en la respuesta inmune [2–4]. Más específicamente es de gran importancia sobretodo en primera infancia. En los niños el aporte de grasa es fundamental para un buen crecimiento, una actividad física vigorosa y un óptimo desarrollo intelectual, y por lo tanto debe mantenerse un buen aporte de grasas y aceite. Sobre todo para los niños entre seis meses y dos años las grasas vegetales, como el aceite de soja, son la mejor fuente de grasa para estos grupos por su aporte de ácidos grasos esenciales y su buena digestibilidad [2]. Uno de los grandes inconvenientes de este aceite de gran consumo en la sociedad, viene dada por su baja

estabilidad, que hace la recomendación de su consumo sea en crudo (Guía alimentaria para la población uruguaya. Ministerio de Salud), haciéndolo menos apto para otros tipos de preparaciones en la cocina. Esto se debe justamente al alto contenido de PUFA y el bajo contenido en antioxidantes, haciéndolo más susceptible a su oxidación [5]. Otra industria de oleaginosas que en Uruguay está en ascenso es olivícola, la que genera diferentes subproductos fruto de la extracción del aceite. En concreto el alperujo que se obtiene gracias a la extracción en dos fases del aceite, es un subproducto semisólido que se genera entre 4000-5000 t/año y actualmente su destino final es dispersado en el suelo [6]. Una de las características de este subproducto es el alto contenido de polifenoles con pH ácido y esto hace que sea una problemática para el suelo por fitotoxicidad [7,8]. Dentro de esos polifenoles, el hidroxitirosol y tirosol son los compuestos fenólicos más abundantes en este residuo, que son potentes moléculas antioxidantes y antiinflamatorias con multitud de efectos beneficiosos para la salud entre los que se encuentran disminución de riesgo de enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2, síndrome metabólico, hígado graso no alcohólico, entre otros [9–13]. Por ello actualmente estos compuestos se utilizan para fines farmacológicos o para la industria alimentaria [14,15]. De hecho existen estudios donde se utilizan aceites ricos en fenoles, ya sean que lo contengan de forma natural como el aceite de oliva virgen o añadidos de forma artificial a aceites de semillas, y observaron una disminución de la inflamación postprandial en pacientes obesos comparados con los que utilizaban el aceite de girasol sin aditivos [16]. Para este proyecto se plantea el uso de métodos basados en Química Verde donde se minimiza el uso de solventes y se da énfasis en la optimización de los parámetros fisicoquímicos del sistema de extracción y enriquecimiento de los polifenoles en el aceite de soja. El tratamiento con ondas de ultrasonido de la mezcla aceite-alperujo produce un fenómeno de microagitación y cavitación que incrementa el contacto entre las fases inmiscibles. La utilización de ultrasonidos como método alternativo y más efectivo se usa extensamente en la industria de alimentos y más precisamente en la obtención de polifenoles en oliva y derivados [17–20]. Cabe destacar que multitud de beneficios relacionados con la salud están relacionados con dietas ricas en aceite de oliva debido a su composición química [21]. Además, la dieta Mediterránea también está relacionada con el consumo de verduras ricas en nitrato y nitrito [22–24]. Datos recientes de nuestro grupo de trabajo mostraron la presencia de ácidos grasos nitrados endógenos (NO₂-FA) en las aceitunas frescas y el aceite de oliva virgen extra (EVOO), así como su formación cuando el EVOO está expuesto al medio gástrico [25]. La formación de NO₂-FA está vinculada a las respuestas de señalización citoprotectoras y antiinflamatorias [26]. Además nuestro grupo demostró que los polifenoles del aceite de oliva además de ser moléculas antioxidantes que protegen a los aceites de la oxidación y de tener multitud de beneficios para la salud, promueven la formación de NO₂-FA [27]. Por lo tanto su formación se podría usar como nuevo parámetro de calidad del aceite.

En base a todo ello nos planteamos el desarrollo de un alimento funcional, un aceite de soja con valor agregado debido al enriquecimiento en polifenoles del alperujo basados en química verde, tomando la formación de NO₂-FA en conjunto con otros parámetros fisicoquímicos como indicadores de calidad del aceite. Además impulsa la industria de oleaginosas con el desarrollo de una economía circular.

Como resultados esperados en primer lugar se pretende obtener un nuevo alimento funcional a base de aceite de soja rico en polifenoles procedentes de un subproducto como de la industria oleícola, como es el alperujo y con un gran posible impacto en la salud. Por otro lado, dicho aceite enriquecido en polifenoles aumentará la estabilidad oxidativa del mismo, mejorando así sus propiedades nutricionales. Y por último, al utilizar un subproducto de la industria nacional, se espera minimizar el impacto ambiental. Además desde el punto de vista de la industria de oleaginosas, este proyecto pretende impulsar dos Industrias que están en auge en el país como la de soja y la de oliva. Por una parte, la industria de soja podrá producir un nuevo producto ya que cuenta con plataforma industrial capaz de abastecer las demandas internas de aceites. Por otro lado, la industria olivícola le permitirá un desarrollo sustentable con el uso de un subproducto de la extracción de aceite de oliva. Por ello el impacto de este proyecto se verá reflejado en tres ámbitos

principalmente: Social, económico y ambiental.

Metodología/Diseño del estudio

Con el fin de cumplir con los objetivos, nos planteamos una serie de estrategias metodológicas diferentes, que se detallan a continuación:

- Optimización del enriquecimiento del aceite de soja con el alperujo. En una primera parte del proyecto, se plantea la puesta a punto de los parámetros óptimos para el máximo contenido de polifenoles teniendo en cuenta la estabilidad oxidativa del mismo, la posible extrapolación a la industria minimizando costos, formación en condiciones gástricas de los ácidos grasos nitrados y sin dejar a un lado la evaluación sensorial del mismo. Para ello se plantea el uso de métodos basados en Química Verde donde se minimiza el uso de solventes y se da énfasis en la optimización de los parámetros fisicoquímicos del sistema de extracción y enriquecimiento de los polifenoles en el aceite de soja. Por una parte el aceite de soja utilizado fue proporcionado por COUSA libre de aditivos, es decir, antioxidantes químicos. Por otro lado, el alperujo que se utilizó para el proyecto fue proporcionado por el INIA Las Brujas, de tres variedades contrastantes de olivos: Arbequina, Coratina y Frantoio. Al tratarse de un aceite y una pasta acuosa no miscibles es necesario realizar una extracción líquido-líquido y líquido-sólido optimizada. Estos métodos se realizarán a escala de laboratorio pero la metodología es escalable. Método 1: Mezcla y extracción líquido-líquido y líquido-sólido en batch. Parámetros a evaluar y optimizar: relación masa/masa (aceite/alperujo), humedad del alperujo, tiempo de mezclado, temperatura y velocidad de agitación. Método 2: Similares condiciones a método 1 pero se sustituye agitación por tratamiento de ultrasonido. El tratamiento con ondas de ultrasonido de la mezcla aceite-alperujo produce un fenómeno de micro agitación y cavitación que incrementa el contacto entre las fases inmiscibles. De esta forma se incrementa la disolución de compuestos fenólicos que migran del alperujo al aceite, concentrándose en este. La utilización de ultrasonidos como método alternativo y más efectivo se usa extensamente en la industria de alimentos y más precisamente en la obtención de polifenoles en oliva y derivados [17–20]. En ambos métodos se tendrá en cuenta también las condiciones de conservación del alperujo desde su obtención en la almazara hasta la extracción de los polifenoles (temperatura y tiempo). Al aceite resultante se le aplicará centrifugación para separar sólidos, agua y aceite enriquecido. Posteriormente se aplicará una filtración para eliminar posible turbidez y obtener un aceite apto para la industria alimentaria.

- Determinación y caracterización de polifenoles de los aceites de soja enriquecidos. Para poder validar la optimización de los parámetros de enriquecimiento, se cuantificará los fenoles totales mediante el método Folin-Ciocalteu que describe Gutfinger, T. 1981 para aceites [28] con algunas modificaciones. Esta técnica se basa en la reducción en medio alcalino de la mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico de color amarillo que componen el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC) con los compuestos fenólicos presentes en la muestra, existiendo una transferencia de electrones para formar un complejo de color azul intenso de óxidos de wolframio y molibdeno que permiten ser detectables en un espectrofotómetro ultravioleta-visible (UV-VIS) a una longitud de onda entre los 620 y 765nm, siendo la longitud de onda de máxima absorción de 765nm [29]. Una vez optimizado los parámetros, en el aceite resultante se caracterizará el perfil de polifenoles presentes en el. Se lleva a cabo mediante HPLC, utilizando los diferentes estándares que están presente en el aceite de oliva [30]. Dicha caracterización se realizará tanto en el aceite resultante como en el aceite de oliva del que proviene el alperujo.

- Determinación de pigmentos. Al igual que los polifenoles, estos compuestos, que también son compuestos bioactivos, serán medidos como indicadores de la optimización de los parámetros de enriquecimiento. La clorofila y los carotenoides fueron determinadas a partir de la máxima absorción de una solución del aceite en ciclohexano, a 670 y a 470 nm respectivamente. Los coeficientes de absorción utilizados fueron el de la feofitina "a" para la clorofila, y la luteína para los carotenoides. Los resultados se expresaron en mg por

kilogramo de aceite [31].

- Determinación de la formación de ácidos grasos nitrados. La formación de ácidos grasos nitrados se analiza en condiciones gástricas. El aceite se incubó durante 1 hora a 37 ° C en jugo gástrico sintético (HCl 79 mM y NaCl 34 mM) con NaNO₂ bajo agitación continua [25]. La fracción lipídica se extrae con hexano y se seca al vacío. Se le realiza una digestión enzimática con lipasa pancreática y fosfolipasa A2 para liberar los ácidos grasos del glicerol. Tras la incubación, los lípidos se extraen por el método Bligh y Dyer [32], se secan al vacío y se disuelven en cloroformo. Los ácidos grasos nitrados libres se obtienen mediante extracción en fase sólida y su determinación y cuantificación se realiza mediante espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-ESI-MS / MS) usando un triple cuadrupolo (QTRAP4500, ABSciex) en modo MRM [33,34]
- Valoración de la estabilidad oxidativa. Para este objetivo se utilizarán diferentes metodologías para evaluar la estabilidad oxidativa de este nuevo aceite. El Rancimat es un método de medida de estabilidad oxidativa de aceites y grasas en condiciones aceleradas, basado en la inducción de la oxidación de la muestra por exposición a elevadas temperaturas y flujo de aire. De esta manera permite estimar el tiempo de estabilidad oxidativa, siendo este el momento a partir del cual la muestra ha superado el tiempo en el que permanece estable, y siendo por tanto indicativo de una pérdida de calidad. Es por tanto una herramienta fundamental en la valoración tecnológica y de garantía de seguridad de aceites, permitiendo además la evaluación y optimización de estrategias de estabilización de aceites mediante los compuestos antioxidantes. Índice de peróxidos (AOAC Official Method 965.33), nos proporciona información sobre el grado de oxidación primaria de un aceite. En las primeras etapas de la rancidez oxidativa se producen diversos peróxidos que modifican las propiedades sensoriales del aceite, por lo que la prueba del índice de peróxido sólo es representativa en las primeras etapas de la oxidación de grasas. La técnica se fundamenta en la reacción del grupo peróxido con yoduro de potasio, formando un alcohol y yodo elemental. Método p-anisidina (AOCS Official Methods Cd 18-90), mide los aldehídos, derivados de la oxidación secundaria de la matriz de grasa. Estos reaccionan con la p-anisidina determinando una variación en la absorbancia, medida a 366 nm. La prueba de valor de anisidina se utiliza para evaluar la oxidación secundaria del aceite o la grasa, que es principalmente atribuible a aldehídos y cetonas, y es un indicador del deterioro excesivo del aceite en el proceso de fritura.
- Evaluación sensorial. Los aspectos sensoriales de los aceites tienen gran repercusión sobre su aceptabilidad por los consumidores. Algunos fenoles son responsables de la percepción del amargor; en cambio otros compuestos fenólicos pueden dar lugar a la percepción de la pungencia, la astringencia y el sabor metálico. Previo al panel de cata se realizará un test que se lleva a cabo según Gutiérrez et. al, [35] que encontraron una correlación lineal entre la absorción a 225 nm (test K225) y el sabor amargo del aceite. Aceites que superan valores de K225 del orden de 0.360 abs, corresponden a aceites bastante amargos que son rechazados por la mayoría de consumidores y serán descartados antes de llevarlos al panel de cata. El análisis sensorial vendrá dado por el laboratorio de Evaluación Sensorial de aceite de oliva de la Facultad de Química, certificado por el COI (Consejo Oleícola Internacional), en la última etapa del desarrollo del proyecto.

Resultados, análisis y discusión

El desarrollo del proyecto se realizó en varias etapas. En primer lugar se optimizó los parámetros de enriquecimiento con el alperujo de Arbequina, al ser la variedad más abundante en la producción nacional, para posteriormente utilizar otros diferentes alperujos procedentes de las variedades Coratina y Frantoio. Para esta primera etapa como variables se tuvo en cuenta la temperatura (entre 30 y 60 °C), tiempo de maceración (entre 60 y 180 min) y relación aceite/alperujo (entre 1 y 5). El contenido de polifenoles de los aceites resultantes varía entre 45 y 75 mg/kg de aceite, siendo equiparable con lo que puede presentar un

aceite de oliva de la variedad Arbequina de forma natural. Además de la transferencia de polifenoles del alperujo, se transfieren otros componentes bioactivos como clorofilas y carotenoides que pueden afectar a la estabilidad oxidativa y son de importancia para la salud. Teniendo en cuenta estos valores de compuestos bioactivos, se realizaron graficas de relación de contenido de estos en función de las variables anteriormente descritas para obtener los parámetros óptimos de enriquecimiento. Con respecto a la temperatura, el contenido de polifenoles aumentaba en función de esta. En el caso del tiempo de incubación, no existían diferencias significativas en el contenido de polifenoles. Por último, con respecto a la relación aceite y alperujo, la relación optima es una intermedia entre el aceite y el alperujo. A pesar de que los polifenoles variaban en función de estos parámetros, el contenido de pigmentos no variaba de forma significativa entre las diferentes condiciones. Teniendo en cuenta las condiciones con mayor contenido de polifenoles, se pasó a la determinación de la estabilidad oxidativa mediante rancimat. Con ello se observó que el punto de inducción disminuía en todas las condiciones con respecto al control (PI 10,62h) y aún más a temperaturas de 60°C. Lo que podía estar pasando por una parte es que las clorofilas en altas concentraciones y en presencia de la luz, pueden actuar como pro-oxidantes disminuyendo así la estabilidad oxidativa [36], y por otro lado que la temperatura, a pesar de favorecer la extracción en el alperujo de los polifenoles a 60°C, podría provocar un efecto adverso con respecto a la estabilidad del aceite. Además, al tener el alperujo un 80% de humedad, el agua podría favorecer la oxidación del aceite. Por todo ello, en la segunda etapa se realizaron experimentos tomando en cuenta los parámetros con mejores resultados, como también se realizaron en ausencia de la luz y teniendo en cuenta diferentes condiciones de humedad del alperujo (entre 80% y 10%). Esta eliminación de humedad se realizó mediante secado del mismo en horno a 40°C. Como resultados se obtuvo en primer lugar, que la luz influía favoreciendo la oxidación lipídica del aceite, de este modo en ausencia de luz la estabilidad oxidativa en esas condiciones aumentaba de forma significativa. Por otro lado, a medida que disminuía la humedad del subproducto, disminuía la estabilidad oxidativa, que se correlacionaba positivamente con el incremento de clorofilas y carotenoides. Esto indica que la pérdida de humedad favorecía la transferencia de estos compuestos al aceite, afectando a la oxidación de los ácidos grasos del aceite. Por ello debe existir un balance entre el contenido de polifenoles como también el de estos pigmentos para obtener un aceite más estable.

En la tercera etapa con los parámetros óptimos obtenidos de las etapas anteriores, se realizó experimentos con alperujo procedente de otras variedades como son Coratina y Frantoio que difieren en el contenido de polifenoles, siendo mayor en Coratina, luego en Frantoio y por último en Arbequina [37, 38]. Los resultados obtenidos en esta etapa muestran que la transferencia de polifenoles al aceite de soja fue mayor con el alperujo de Coratina, con valores de 143,03 mg de polifenoles/Kg de aceite, lo cual se relaciona positivamente con la estabilidad oxidativa del aceite resultante (PI 18,67), siendo mayor que en el aceite sin aditivos (PI 10,6 h) y que el del aceite comercial con aditivos sintéticos (PI 12,55h). Todo ello indica que el uso de subproductos con un mayor contenido de polifenoles, se obtendrá mayor estabilidad oxidativa en el aceite resultante. Cuando analizamos el perfil de polifenoles, se observa en primer lugar que el contenido varía en función del aceite de oliva que se obtiene, es decir, polifenoles como el tirosol, con funciones beneficiosas para la salud [39, 40], se ven aumentados de forma significativa en los aceites enriquecidos como también la vanilina. Sin embargo, la oleuropeína, molécula clave en la prevención de enfermedades no transmisibles, como disminuir el riesgo de enfermedad cardiovascular, diabetes, entre otras [41], está aumentado en los aceites de oliva. En segundo lugar, dentro de los aceites obtenidos, el enriquecido con alperujo de Coratina tiene mayor contenido en hidrotirosol, de gran relevancia contra el síndrome metabólico [42, 43]. Esto puede ser debido a la naturaleza química de los mismo, ya que en el alperujo al ser más acuoso que el aceite, es rico en polifenoles más polares como el tirosol.

En la cuarta etapa, en dichos aceites se sometieron a condiciones gástricas in vitro en presencia de nitrito con el fin de favorecer la formación de especies nitradas procedente de los ácidos grasos insaturados del

aceite, las cuales está vinculada a las respuestas de señalización citoprotectoras y antiinflamatorias [26]. Además nuestro grupo demostró que los polifenoles del aceite de oliva además de ser moléculas antioxidantes que protegen a los aceites de la oxidación y de tener multitud de beneficios para la salud, promueven la formación de NO₂-FA [27]. Estos resultados muestran que dentro de los aceites enriquecidos, el que contiene polifenoles del alperujo de Coratina tiene mayor formación de los ácidos nitrados, sin embargo los valores son mucho menores que los obtenidos con los aceites de olivas de referencia.

Por último y con respecto a la valoración sensorial, en primer lugar se les realizó a aquellos aceites resultantes un test que correlaciona de forma lineal la absorción a 225 nm (test K225) con el sabor amargo del aceite. Aceites que superan valores de K225 del orden de 0.360 abs, corresponden a aceites bastante amargos que son rechazados por la mayoría de consumidores. En nuestros aceites todos los valores de K225 estuvieron por debajo de ese valor de absorbancia (entre 0.180 y 0.322). En segundo lugar las muestras fueron analizadas por 10 integrantes del Panel de Cata de Aceite de Oliva Virgen del Laboratorio de Evaluación Sensorial, Cytal, Facultad de Química, el cual cuenta con la homologación en forma ininterrumpida desde el año 2013 por parte del Consejo Oleícola Internacional (COI). Para dicho análisis se cumplió con la norma COI / T.20/Doc. Nº 15/Rev. 10, 2018 y las demás normas del COI. Cabe mencionar que si bien tres muestras eran de aceite de oliva virgen, los aceites de referencia de los cuales en su proceso de elaboración se obtuvo el alperujo, las muestras (A, B y C); las otras tres (D, E y F) NO eran aceites de oliva vírgenes según la definición del COI ya que eran aceite de soja enriquecido con alperujo, a pesar de ello, se evaluaron de la misma forma (utilizando la Ficha de cata de Aceite de Oliva Vírgenes del COI, la cual consiste en una escala no estructurada de 10 cm.) para ver si las muestras D, E y F al ser enriquecidas con compuestos fenólicos, unos de los compuestos responsables de dichos atributos positivos, éste le aportaba sus atributos positivos como son el frutado, el amargo y el picante al aceite de soja. Las muestras eran las siguientes:

- Muestra A: AOV extraído de la variedad Arbequina con un IM 2.1
- Muestra B: AOV extraído de la variedad Frantoio con un IM 2.0
- Muestra C: AOV extraído de la variedad Coratina con un IM 1.8
- Muestra D: aceite de soja enriquecido con alperujo de variedad Arbequina
- Muestra E: aceite de soja enriquecido con alperujo de variedad Frantoio
- Muestra F: aceite de soja enriquecido con alperujo de variedad Coratina

Las muestras A, B y C pertenecían a la categoría Virgen por presentar los defectos: atrojado, moho, rancio y basto, siendo Coratina la que los presentaba en menor intensidad. Como atributos positivos también fue Coratina la que los presentó en mayor intensidad siendo estos el frutado de 3, el amargo de 3 y el picante de 5.

Muestras D, E y F: el perfil de defectos encontrados en dichas muestras fueron similares en descriptores e intensidades, a los de las muestras A, B y C y con respecto a los atributos positivos, no se encontró frutado de oliva en ninguna muestra, y el amargo y el picante en intensidad de 1.5 para ambos, sólo en la variedad Coratina.

Conclusiones y recomendaciones

Como conclusiones generales del proyecto se obtuvieron:

- En primer lugar optimización de las diferentes variables de estudio en el proceso de enriquecimiento del aceite de soja a partir de alperujo procedente de la obtención de aceite de oliva, con posible extrapolación a nivel industrial sin la utilización de solventes orgánicos, con química verde.
- Incremento de los compuestos bioactivos en el aceite de soja siendo mayor con la utilización del alperujo procedente de la obtención de aceite de oliva variedad Coratina.
- Se obtuvieron diferencias en el perfil de polifenoles de los aceites resultantes con respecto a los aceites

de oliva, siendo mayoritarios los más polares como el tirosol.

- Los polifenoles, antioxidantes naturales, aumentan la estabilidad oxidativa en los aceites resultantes en comparación con el aceite de soja sin y con aditivos químicos.
- La formación de ácidos grasos nitrados es mayor en las condiciones con el alperujo de Coratina, pero mucho menor que en los aceites de oliva de referencia.
- Con respecto a la evaluación sensorial y los atributos positivos relacionados con el aceite de oliva, frutado, amargo y picante, no se encuentran dichos atributos positivos excepto el amargo y picante en el aceite enriquecido con el alperujo de Coratina. A pesar de ello, se observan defectos sensoriales.

Como recomendaciones para continuar este proyecto, a pesar de obtener buenos resultados en la composición nutricional y estabilidad oxidativa del aceite resultante, se debe continuar investigando sobre cómo mejorar los atributos positivos relacionados con la evaluación sensorial, ya que esto impacta en la aceptabilidad del mismo por parte del consumidor.

Por otro lado en una segunda instancia, sería interesante realizar experimentos sobre el efecto beneficioso para la salud de su consumo mediante en un modelo animal sobre enfermedades no transmisibles, ya que los polifenoles que se transfieren en mayor medida tienen efectos importantes sobre ello.

Y por último y no menor, es importante la realización de una prueba piloto a nivel industrial para conocer la aplicabilidad en planta.

Referencias bibliográficas

- [1] Horta R, Jung A, Garbarino P. La industria oleaginosa en Uruguay desde un enfoque estratégico. Univ. Católica del Uruguay. Inst. Compet., Universidad Católica del Uruguay. Instituto de Competitividad; 2017.
- [2] Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura F. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana Consulta de expertos. 2010.
- [3] Valenzuela B. R, Morales I. G, González A. M, Morales P. J, Sanhueza C. J, Valenzuela B. A. Ácidos Grasos Poliinsaturados De Cadena Larga y Enfermedad Cardiovascular. *Rev Chil Nutr* 2014;41:319–27.
- [4] Catalán JS, Agüero SD, García JT. Los ácidos grasos dietarios y su relación con la salud. *Nutr Hosp* 2015;32:1362–75.
- [5] Naz S, Sheikh H, Siddiqi R, Sayeed SA. Oxidative stability of olive, corn and soybean oil under different conditions. *Food Chem* 2004;88:253–9.
- [6] Albuquerque JA, González J, García D, Cegarra J. Agrochemical characterisation of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresour Technol* 2004;91:195–200.
- [7] Tortosa G, Albuquerque JA, Ait-Baddi G, Cegarra J. The production of commercial organic amendments and fertilisers by composting of two-phase olive mill waste (“alperujo”). *J Clean Prod* 2012;26:48–55.
- [8] Ruiz-Méndez M V., Romero C, Medina E, García A, De Castro A, Brenes M. Acidification of Alperujo paste prevents off-odors during their storage in open air. *JAOCs, J Am Oil Chem Soc* 2013;90:401–6.
- [9] Abenavoli L, Milanovič M, Milić N, Lizza F, Abenavoli L, Milanovič M, et al. Olive oil antioxidants and non-alcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2019;13:739–49.
- [10] Rodríguez-Morató J, Xicota L, Fitó M, Farré M, Dierssen M, De La Torre R. Potential role of olive oil phenolic compounds in the prevention of neurodegenerative diseases. *Molecules* 2015;20:4655–80.
- [11] Marcelino G, Hiane PA, Freitas K de C, Santana LF, Pott A, Donadon JR, et al. Effects of olive oil and its minor components on cardiovascular diseases, inflammation, and gut microbiota. *Nutrients* 2019;11:4–6.
- [12] Peyrol J, Riva C, Amiot MJ. Hydroxytyrosol in the prevention of the metabolic syndrome and related disorders. *Nutrients* 2017;9:1–18.
- [13] Vlavcheski F, Young M, Tsiani E. Antidiabetic effects of hydroxytyrosol: In vitro and in vivo evidence. *Antioxidants* 2019;8:1–20.
- [14] Ramos-Comerzana A. Potencial Biofarmacéutico de los residuos de la industria oleícola. *Ars Pharm* 2000;41:129–36.
- [15] Fernández-Bolaños J, Rodríguez G, Rodríguez R, Heredia A, Guillén R, Jiménez A. Production in large quantities of highly purified hydroxytyrosol from liquid-solid waste of two-phase olive oil processing or “alperujo.” *J Agric Food Chem* 2002;50:6804–11.
- [16] Perez-Herrera A, Delgado-Lista J, Torres-Sanchez LA, Rangel-Zuñiga OA, Camargo A, Moreno-Navarrete JM, et al. The postprandial inflammatory response after ingestion of heated oils in obese persons is reduced by the presence of phenol compounds. *Mol Nutr Food Res* 2012;56:510–4.
- [17] Pérez-Serradilla JA, Priego-Capote F, Luque De Castro MD. Simultaneous ultrasound-assisted emulsification-extraction of polar and nonpolar compounds from solid plant samples. *Anal Chem* 2007;79:6767–74.
- [18] Jerman Klen T, Mozetič B, Vodopivec B. Ultrasonic extraction of phenols from olive mill wastewater: Comparison with conventional methods. *J Agric Food Chem* 2011;59:12725–31.
- [19] Wang Z, Wang C, Zhang C, Li W. Ultrasound-assisted enzyme catalyzed hydrolysis of olive waste and

- recovery of antioxidant phenolic compounds. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2017;44:224–34.
- [20] Goldsmith CD, Vuong Q V, Stathopoulos CE, Roach PD, Scarlett CJ. Ultrasound increases the aqueous extraction of phenolic compounds with high antioxidant activity from olive pomace. *LWT* 2018;89:284–90.
- [21] Gorzynyk-Debicka M, Przychodzen P, Cappello F, Kuban-Jankowska A, Marino Gammazza A, Knap N, et al. Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *Int J Mol Sci* 2018;19.
- [22] Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:156.
- [23] Rocha BS, Gago B, Barbosa RM, Lundberg JO, Radi R, Laranjinha J. Intragastric nitration by dietary nitrite: implications for modulation of protein and lipid signaling. *Free Radic Biol Med* 2012;52:693–8.
- [24] Nadtochiy SM, Redman EK. Mediterranean diet and cardioprotection: the role of nitrite, polyunsaturated fatty acids, and polyphenols. *Nutrition* 2011;27:733–44.
- [25] Fazzari M, Trostchansky A, Schopfer FJ, Salvatore SR, Sanchez-Calvo B, Vitturi D, et al. Olives and olive oil are sources of electrophilic fatty acid nitroalkenes. *PLoS One* 2014;9:e84884.
- [26] Schopfer FJ, Khoo NKH. Nitro-Fatty Acid Logistics: Formation, Biodistribution, Signaling, and Pharmacology. *Trends Endocrinol Metab* 2019;30:505–19.
- [27] Sanchez-Calvo B, Mastrogiovanni M, Santos M, Petingi S, Conde-innamorato P, Arias-sibillotte M, et al. Detection of Nitro-Conjugated Linoleic Acid and Nitro-oleic Acid in Virgin Olive Oil under Gastric Conditions: Relationship to Cultivar, Fruit Ripening, and Polyphenol Content. *Food Sci Tec.* 2022; Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 1981;58:966–8.
- [29] Singleton VL, Rossi JAJ. Colorimetry to total phenolics with phosphomolybdic acid reagents. *Am J Enol Vinic* 1965;16:144–58.
- [30] Gasperotti M, Masuero D, Guella G, Mattivi F, Vrhovsek U. Development of a targeted method for twenty-three metabolites related to polyphenol gut microbial metabolism in biological samples, using SPE and UHPLC-ESI-MS/MS. *Talanta* 2014;128:221–30.
- [31] Minguez-Mosquera, M. I.; Gandul-Rojas, B.; Garrido- Fernandez, J.; Gallardo-Guerrero, L. Pigments Present in Virgin Olive
- [32] Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 1959;37:911–7.
- [33] Bonacci G, Baker PR, Salvatore SR, Shores D, Khoo NK, Koenitzer JR, et al. Conjugated linoleic acid is a preferential substrate for fatty acid nitration. *J Biol Chem* 2012;287:44071–82.
- [34] Trostchansky A, Mastrogiovanni M, Miquel E, Rodriguez-Bottero S, Martinez-Palma L, Cassina P, et al. Profile of Arachidonic Acid-Derived Inflammatory Markers and Its Modulation by Nitro-Oleic Acid in an Inherited Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Mol Neurosci* 2018;11:131.
- [35] Gutiérrez F, Perdiguero S, Gutiérrez R, Olías JM. Evaluation of bitter taste in virgin olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 1992;69:394–5.
- [36] Lee J, Choe E. Effects of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine on the photooxidation of canola oil. *J Food Sci.* 2009 Aug;74(6):C481–6.
- [37] Uceda MP, Giménez A, Beltrán, G. M. Variedades de olivo y aceituna. Tipos de Aceite. In A. Fernández-Gutiérrez & AS-C (Eds. ., editor. *El aceite de oliva virgen: Tesoro de Andalucía*. Málaga, Spain: Fundación Unicaja.; 2010. p. 109–37.
- [38] López-Huertas E, Lozano-Sánchez J, Segura-Carretero A. Olive oil varieties and ripening stages containing the antioxidants hydroxytyrosol and derivatives in compliance with EFSA health claim. *Food Chem [Internet]*. 2021;342(September):128291.
- [39] Carluccio MA, Siculella L, Ancora MA, Massaro M, Scoditti E, Storelli C, et al. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arter Thromb Vasc Biol [Internet]*. 2003/03/05. 2003;23(4):622–9.

- [40] Rodríguez-Morató J, Xicota L, Fitó M, Farré M, Dierssen M, De La Torre R. Potential role of olive oil phenolic compounds in the prevention of neurodegenerative diseases. *Molecules*. 2015;20(3):4655–80.
- [41] Nediani C, Ruzzolini J, Romani A, Calorini L. Oleuropein, a bioactive compound from *olea europaea* L., as a potential preventive and therapeutic agent in non-communicable diseases. *Antioxidants*. 2019;8(12).
- [42] Marcelino G, Hiane PA, Freitas K de C, Santana LF, Pott A, Donadon JR, et al. Effects of olive oil and its minor components on cardiovascular diseases, inflammation, and gut microbiota. *Nutrients*. 2019;11(8):4–6
- [43] Peyrol J, Riva C, Amiot MJ. Hydroxytyrosol in the prevention of the metabolic syndrome and related disorders. *Nutrients*. 2017;9(3):1–18.

Licenciamiento

Reconocimiento-NoComercial-SinObrasDerivadas 4.0 Internacional. (CC BY-NC-ND)