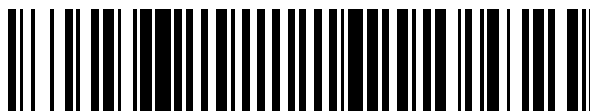


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 402 026**

51 Int. Cl.:

**C02F 1/26** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2007 E 07852160 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.11.2012 EP 2102110**

54 Título: **Recuperación de residuos de aceituna**

30 Prioridad:

**29.12.2006 SE 0602835**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**26.04.2013**

73 Titular/es:

**PHENOLIV AB (100.0%)  
RINNEBÄCKSVÄGER 13  
227 31 LUND, SE**

72 Inventor/es:

**TORNBERG, EVA y  
GALANAKIS, CHARIS**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 402 026 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Recuperación de residuos de aceituna

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a un método para aislamiento de fibras dietéticas y polifenoles valiosos a partir de las aguas residuales de las almazaras, así como al uso de dichos productos aislados como aditivo en otros artículos alimenticios y como producto alimenticio antioxidante, respectivamente.

10

Antecedentes de la invención

Existen tres tecnologías básicas utilizadas en la extracción del aceite de oliva:

15

- Prensado (sistema tradicional o clásico)
- Centrifugación: trifásico (sistema continuo)
- Centrifugación: bifásico (sistema continuo)

20

El proceso de fabricación del sistema centrífugo trifásico produce usualmente: i) aceite de oliva (20%), ii) residuo sólido (30%) y iii) residuo líquido acuoso (50%). El residuo sólido (torta bruta de aceituna) está compuesto de una mixtura de pulpa de aceituna y huesos de aceituna. Las tortas se recogen en plantas centrales de extracción del aceite de semilla donde el aceite de semilla residual se extrae con hexano después de ser secado en secadores rotativos que utilizan aire caliente a 60°C. De este proceso resulta una producción adicional de huesos (torta de aceituna agotada), que se utilizan usualmente como combustible sólido [Niaounakis y Halvadakis, 2004].

25

En el sistema de prensado y el sistema centrífugo continuo trifásico, el residuo, que constituirá el foco de esta exposición, es el 50% de residuo líquido que se conoce como agua residual de la almazara (OMW). La cantidad de OMW producida en el proceso oscila entre 0,55 y 2 l/kg de aceituna, dependiendo del proceso de extracción del aceite. Esencialmente, la composición del OMW es agua (80-83%), compuestos orgánicos, tales como fibras, proteínas, colorantes y taninos (15-18%) y compuestos inorgánicos (principalmente sales de potasio y fosfatos) 2%, aunque varía ampliamente dependiendo de muchos parámetros tales como la variedad de aceituna, el tiempo de la recolección, las condiciones climáticas, el proceso de extracción del aceite, etc.

30

35

El OMW es un líquido ácido (usualmente de pH 4,5 a 5) de color oscuro con fuerte olor de aceite. Lamentablemente, el líquido contiene también sustancias fitotóxicas y antibacterianas tales como fenoles, taninos y colorantes, que impiden la evacuación del mismo. La presencia de tales sustancias hace que el OMW sea no biodegradable y por consiguiente inadecuado para uso ulterior como agua de riego [Niaounakis y Halvadakis, 2004]. Por ello, el OMW es bien conocido como un problema ambiental crítico en el área mediterránea que da cuenta de cerca del 95% de la producción mundial de aceite de oliva. Grecia produce ~ 1.500.000 t de OMW anualmente, siendo el tercer país productor de aceite de oliva en el mundo después de España e Italia. Aunque la evacuación libre en el medio ambiente del OMW no está permitida, se estima que la mayor parte del desecho producido se descarga en los ríos y el suelo.

40

45

A lo largo de los últimos 50 años se han desarrollado esfuerzos para tratamiento del OMW que incluyen procesos físicos, térmicos, físico-químicos y biológicos de recuperación de componentes valiosos. Ninguna de las técnicas de detoxificación sobre una base individual permite resolver por completo el problema de la evacuación del OMW eficazmente y de modo exhaustivamente satisfactorio desde un punto de vista ecológico. En el estado actual de la tecnología del tratamiento del OMW, la industria no ha encontrado interés alguno en respaldar ningún proceso tradicional en gran escala. Esto se debe a los altos costes de inversión y operativos, la brevedad del periodo de producción (3-5 meses) y el pequeño tamaño de las almazaras.

50

55

Como se ha expuesto anteriormente, el OMW contiene 15 a 18% de compuestos orgánicos. Estos compuestos orgánicos contienen esencialmente fibras que se desprenden durante el sistema centrífugo continuo trifásico. La mayoría de las fibras se encuentran en el material de la pared celular (CWM). La estructura, tipo, tamaño y forma de las paredes celulares difieren y están ligadas estrechamente a la función de la célula en un tejido vegetal. Generalmente, como regla empírica, se considera que 30% de la pared celular es celulosa, 30% pectina y 30% hemicelulosa. Junto con el 10% restante (el polímero no-polisacárido lignina y algunas proteínas) están implicados en la creación de la red un tanto intrincada que construye la pared celular.

60

La pectina es un polisacárido natural que forma soluciones coloidales espesas en agua. La misma puede añadirse a alimentos procesados para crear textura. Medicinalmente, el compuesto ha sido muy utilizado en productos antidiarreicos, sirviendo como agente de conformación de las heces. La misma parece reducir también los niveles de lipoproteínas en la sangre. La pectina de cítricos (CLMP) es representativa de la pectina típica comercial pobre en metoxilo, utilizada como aditivo alimentario. La CLMP tiene un contenido elevado de ácido galacturónico y niveles bajos de acetilación y azúcares neutros. Aunque las cortezas de limón y naranja se encuentran entre las fuentes

65

más ricas del compuesto, conteniendo hasta 30% de este polisacárido, se encuentra también pectina en las raíces y frutos de la mayoría de las plantas, tales como las aceitunas, que se sabe contienen aproximadamente un tercio de polisacárido pectínico rico en arabinosa. Una pectina de aceituna (OLMP) se extrajo del orujo de aceituna (residuo producido por la tecnología de separación bifásica) y se caracterizaba por un contenido menor de ácido galacturónico, mayor grado de acetilación, menor disponibilidad de grupos carboxílicos libres debido al mayor grado de esterificación metílica, menor peso molecular y mayor contenido de azúcares neutros, principalmente arabinosa (véase Tabla 1).

Tabla 1: Características físico-químicas de las muestras de pectina [Cardoso et al., 2003].

	CLMP	OLMP
Grado de esterificación metílica	34,8 %	43,2%
Grado de acetilación	<1 %	11 %
Contenido de ácido galacturónico	88,7 %	44,1%
Azúcares neutros totales	4,8 %	38,8 %
Cenizas	1,7 %	1,1 %
Calcio	2,5 mg/g	0,33 mg/g
Viscosidad intrínseca (pH 7, 0,1 mol/l NaCl)	2,62 dl/g	1,04 dl/g
Peso molecular medio (viscosimétrico) ( $M_v$ )	$5,13 \times 10^4$	$1,45 \times 10^4$
Base, peso seco (en caso aplicable)		

10

Otro compuesto valioso presente en las aceitunas son los polifenoles. Los polifenoles son un grupo de sustancias químicas encontradas en las plantas, caracterizado por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Los polifenoles son responsables de la coloración de algunas plantas - por ejemplo el color de las hojas en otoño. Las investigaciones indican que una clase de polifenoles tiene características antioxidantes con posibles beneficios para la salud. Estos antioxidantes polifenólicos pueden reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular y cáncer, y se ha propuesto que estas sustancias retardan la aparición del Alzheimer. GB 241536 describe un método para extracción de polifenoles del OMW utilizando enzimas o etanol durante el calentamiento. El mismo comprende filtración y concentración del extracto, y opcionalmente un paso de desgrasado. No se hace descripción alguna de la recuperación de fibras dietéticas, y el paso de extracción utiliza únicamente etanol. Cardoso et al., 2003, dan a conocer la extracción de pectina a partir del orujo fresco.

15

20

WO 01/45574 describe un método para preparación de una composición antioxidante a partir de OMW. Sin embargo, no se hace mención alguna de la recuperación de fibras.

25

El propósito de la técnica presentada en esta patente es presentar un procedimiento relativamente simple y de bajo coste para extraer fibras dietéticas solubles y polifenoles valiosos del OMW que pueden utilizarse como aditivos en otros artículos alimenticios.

### 30 *Sumario de la presente invención*

El objeto de la presente invención es aislar polifenoles de acción antioxidante así como fibras dietéticas, tales como pectinas a partir de material residual de las aceitunas.

35

En particular, la presente invención se refiere a un proceso para aislamiento de fibras dietéticas solubles y polifenoles valiosos a partir de las aguas residuales de las almazaras, en donde dichas aguas residuales se desgrasan eliminando la grasa por centrifugación y se concentran por evacuación del contenido de agua. La mixtura remanente se extrae utilizando etanol con un ácido orgánico y las fibras dietéticas se separan de los polifenoles por precipitación de las fibras dietéticas en etanol. Las fibras dietéticas solubles se separan ulteriormente de las fibras dietéticas insolubles por redisolución de las fibras dietéticas precipitadas en agua, con lo cual las fibras dietéticas insolubles precipitan dejando las fibras dietéticas solubles en solución.

40

En una realización preferida de la invención, el OMW desgrasado se concentra entre 55 y 65°C.

45

En una realización preferida de la invención, la concentración de etanol en la extracción es hasta 7% (v/v).

En una realización adicional preferida de la invención, la concentración del ácido orgánico utilizado es hasta 3% en peso de la solución de extracción.

En otra realización preferida de la invención, el ácido orgánico utilizado está presente en una cantidad de al menos 0,5% en peso de la solución de extracción.

5 En una realización adicional preferida de la invención, el ácido orgánico utilizado se selecciona del grupo constituido por ácido cítrico, ácido tartárico, ácido malónico, ácido maleico, ácido málico, ácido oxálico, ácido adípico, y ácido fumárico.

10 En una realización preferida de la invención, la concentración de etanol utilizada para la extracción de los polifenoles es al menos 85% (v/v).

En una realización preferida de la invención, los polifenoles extraídos se separan de las fibras dietéticas por filtración.

15 En una realización preferida de la invención, el líquido extraído rico en etanol que contiene los polifenoles se diluye para dar un líquido que contiene 15-40% de etanol.

En una realización preferida de la invención, el líquido diluido rico en etanol que contiene los polifenoles se clarifica por filtración.

20 En una realización preferida de la invención, las fibras dietéticas precipitadas se redisuelven en agua a 1-4% p/v.

En otra realización preferida de la invención, las fibras dietéticas solubles se separan de las fibras dietéticas insolubles por centrifugación.

25 En una realización preferida de la invención, las fibras solubles de la invención se concentran por evaporación.

En una realización preferida de la invención, el líquido aislado rico en polifenoles se utiliza para producir una dosis administrable una vez al día de polifenoles de acción antioxidante.

30 En una realización preferida de la invención, la solución de fibras solubles evaporada se utiliza como aditivo y/o como sustitutivo de la grasa en otros artículos alimenticios.

*Breve descripción de los dibujos*

35 La Figura 1 muestra una vista esquemática del proceso de aislamiento para polifenoles y fibras dietéticas solubles a partir de agua residual de almazara (OMW).

La Figura 2 muestra el desprendimiento de metanol en función del tiempo a diferentes temperaturas de calentamiento del OMW.

40

*Descripción detallada de la presente invención*

Procedimiento de extracción de fibras dietéticas solubles y polifenoles valiosos a partir de residuos de almazara (OMW).

45

Lo que sigue, con inclusión de la Figura 1, reseña un método para aislamiento a la vez de fibras dietéticas solubles y de polifenoles valiosos a partir de agua residuales de almazara (OMW) en el mismo proceso. El OMW se recoge de una industria almazarera y un contenido típico del OMW se da a continuación en la Tabla 2a.

50 Tabla 2a. Un contenido típico de OMW (Niaounakis M. & Halvadakis, C. P. (2004))

Parámetro	Unidad	Valor
Fenoles totales	mg/l	3.000-24.000
Materia orgánica	g/l	40-165
Minerales	g/l	5-14
Sólidos	%p/p	5,5-17,6
pH		4,5-6

55 Como se puede ver por la Tabla 2a, el contenido varía ampliamente dependiendo de los parámetros que se han expuesto anteriormente. Así, el contenido de la muestra específica utilizada para describir la invención de esta memoria se da a continuación en la Tabla 2b:

Tabla 2b. Caracterización de la muestra de OMW

Parámetro	Unidad	Valor
Fenoles totales	mg/l	6012±769
COD	mg/l	139063±21302
Grasas	% p/p	0,89±0,06
Grasas	% dmb	8,42±0,56
Sólidos totales sin grasas	% p/p	8,77±0,10
Contenido de agua	% p/p	90,35±0,04

5 El primer paso consiste en reducir el contenido de grasa de la muestra de OMW en un 44%, desde 8,42% hasta 4,7% DS (sustancia seca) por un paso de centrifugación a 3000 g durante 30 min.

10 En segundo lugar, el contenido de agua del OMW tiene que reducirse. Esto puede realizarse preferiblemente bajo suministro de aire por un evaporador rotativo a temperatura comprendida entre 50 y 80°C, preferiblemente entre 55 y 65°C y más preferiblemente a 60°C durante 30 a 180 min, más preferiblemente entre 60 min y 180 min y de modo muy preferible durante aproximadamente 120 min. Como se ha expuesto anteriormente, la pectina de la aceituna, cuando se compara con la pectina comercial de cítricos, se caracteriza por un contenido menor de ácido galacturónico, mayor grado de acetilación, y menor disponibilidad de grupos carboxílicos libres debido al mayor grado de esterificación metílica (Tabla 1). El propósito de la concentración a la elevada temperatura de 60°C durante aproximadamente 2 horas es activar la metil-esterasa pectínica (PME) del residuo e hidrolizar parcialmente la pectina rica en metoxi y rica en acetilo del agua residual de las aceitunas. Un estudio exhaustivo de la temperatura óptima de desactivación se presenta a continuación. La muestra concentrada (grado de concentración 3,6 veces) se enfría a la temperatura ambiente y se pesa.

20 La extracción de las fibras de la suspensión espesa parcialmente desgrasada y concentrada del OMW se realiza a continuación por adición de etanol hasta una concentración final no mayor que 7% (v/v), con preferencia aproximadamente 5% (v/v) y entre 0,5 y 3% (p/v), preferiblemente 1% (p/v) de ácido cítrico en la suspensión espesa. La extracción se realiza por agitación continua con el alcohol y el ácido cítrico a una temperatura comprendida entre 60 y 80°C, preferiblemente a 60°C, durante 25 min por calentamiento del recipiente de extracción en un baño de agua.

25 Con objeto de separar las fibras dietéticas de los pequeños mono- y disacáridos y los polifenoles, la mixtura de extracción se dispersa en etanol a una concentración final de 85% (v/v) y se mantiene a la temperatura ambiente durante 1 hora. Se produce la precipitación de las fibras dietéticas (solubles e insolubles en agua) y la mixtura se enfría a la temperatura ambiente, después de lo cual se filtra a través de un filtro de vidrio G3, aislándose un líquido residual rico en etanol y el precipitado, denominado Residuo Insoluble en Alcohol (AIR). El líquido filtrado tenía un bello color amarillento y un olor frutal atractivo de aceitunas, que era evidente cuando se diluía hasta dar un líquido con 15 a 40% de etanol.

35 La cantidad de polifenoles (expresados como Fenoles Totales) se midió a tres concentraciones diferentes de alcohol, a saber 85% (v/v), 40% (v/v), y 25% (v/v), respectivamente, después de dilución apropiada con agua. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3 a continuación. Estos extractos etanólicos son tan ricos en polifenoles como los aceites de oliva virgen extra, que se sabe contienen hasta 1000 ppm de fenoles totales (Montedoro et al., 1992). Se sabe que los polifenoles son buenos antioxidantes y por consiguiente pueden venderse como aditivo sano y de sabor agradable para bebidas. En una realización de la invención, el extracto rico en polifenoles puede concentrarse por tecnología de membranas o evaporadores rotativos. En una realización de la invención, el extracto diluido rico en polifenoles puede clarificarse por filtración.

Tabla 3

Conc. de etanol después de dilución, %	Cantidad de Fenoles Extraídos totales, ppm
85	1254
40	750
25	501

45 La cantidad de fibra expresada como AIR, el Residuo Insoluble en Alcohol, que se obtiene después de evacuación de los mono-, disacáridos y polifenoles del extracto obtenido de este modo era 6,3% basada en la muestra de OMW inicial, que representa aproximadamente 72% de los sólidos disponibles sin incluir la grasa (véase la Tabla 2b). El

contenido de Fenoles Totales en el AIR puede determinarse, y en este ejemplo era 300 mg por 100 g de AIR (3000 ppm). El contenido de Fibras Totales se calculó como la suma de polisacáridos distintos de almidón y residuo exento de cenizas insoluble en ácido (lignina Klason) y daba cuenta del 37,6% (p/v) del AIR. Se determinó que los residuos de polisacáridos distintos de almidón eran 5,1%, mientras que la fracción de "lignina Klason", que incluía lignina natural, taninos y productos de la reacción de Maillard (Theander et al., 1995) daba cuenta del 32,5%.

Con objeto de aislar las fibras solubles (pectinas), el Residuo Insoluble en Alcohol (AIR) obtenido en el paso 2 anterior se disolvió (1-4% p/v) en agua y se agitó, utilizando agitación magnética de la solución durante una noche a 10°C. En una realización alternativa de la invención, las fibras dietéticas precipitadas se redisuelven en una solución básica débil (solución de hidróxido de sodio o dihidróxido de calcio 0,1 a 0,5 N) hasta un valor de pH 6, al cual la base desesterifica la pectina y se aumenta el valor de pH para optimizar la pectina para uso en productos cárnicos. Con objeto de separar las fibras solubles de las insolubles, la mixtura de extracción se centrifugó durante 20 min con 3000 g a 20°C. Alternativamente, la solución puede filtrarse.

Esta separación proporcionó un sobrenadante tomado como fibras de pectina solubles (63,8% (p/p) del extracto) y el precipitado como fibra insoluble (36,2% (p/p)), respectivamente. En este ejemplo, se monitorizó el valor de pH, observándose que era 5,30 en este punto. Se calculó que el grado de esterificación metílica (DM) del material de pectina soluble era 59%.

Se aísla una solución de pectina de aceituna fuertemente concentrada a partir del sobrenadante obtenido durante la centrifugación, o alternativamente a partir del filtrado en el paso de filtración anterior. El sobrenadante que contiene las fibras solubles de AIR se separa del pellet y se concentra ~ 2-3 veces utilizando un evaporador rotativo (60°C) y aire comprimido. La solución concentrada puede concentrarse ulteriormente por calentamiento a 80°C durante al menos 1 hora. La solución resultante de fibra soluble del OMW tenía una concentración final de pectina de 7,2% (p/p) y se dejó reposar durante 48 horas a 5°C para formar un gel.

El contenido de cenizas de estas fibras solubles del AIR era relativamente alto, y ascendía a 44% basado en materia seca. Por tanto, la concentración de pectina en la solución es aproximadamente 4%. Una vía para eliminar las cenizas de la solución de fibras solubles y concentrar ulteriormente la muestra consiste en utilizar filtración a través de membranas o cualquier otra técnica adecuada de filtración y aislamiento.

El módulo elástico de los geles obtenidos estaba comprendido en la región de 30 Pa, que se midió utilizando un reómetro de esfuerzo constante y Tests Oscilatorios de Barrido de Esfuerzos (esfuerzo de cizallamiento desde 0 a 100 Pa y frecuencia de 1 Hz). Cardoso et al., 2003, han medido el módulo elástico de la gelificación mediada por calcio de un extracto pectínico de orujo de aceituna y encontraron valores en el mismo intervalo, a saber, desde 10 a 100 Pa.

Esta susceptibilidad de gelificación de las fibras solubles a partir de OMW puede aprovecharse como aditivo y/o sustitutivo de grasa en otros artículos alimenticios.

La temperatura óptima para la activación de la pectina metilesterasa (PME) del residuo para hidrolizar parcialmente los geles pectínicos ricos en metoxi y ricos en acetyl-pectina producidos a partir de la pectina rica en metoxi requiere condiciones ácidas (pH próximo a 3) y un contenido elevado de sólidos solubles (65%) a fin de producir una gelatina satisfactoria. Por otra parte, los geles pectínicos producidos a partir de pectina baja en DM se producen en un intervalo amplio de pH con o sin adición de azúcar en presencia de pequeñas porciones de calcio (El-Nawawi y Heikal, 1995). El grado de esterificación metílica puede controlarse por la actividad de PME (Anthon y Barrett, 2006). Es sabido que el precalentamiento de las hortalizas por encima de 50°C, en un denominado escaldado a temperatura baja, activa la PME (Van Buren et al., 1960).

La Figura 2 muestra el desprendimiento de metanol en función del tiempo a temperaturas de calentamiento diferentes del OMW: 50 (Δ), 55 (●), 60 (x), 65 (▲), 70 (■) y 80 (◆) °C. El desprendimiento de metanol da una indicación de la posible des-esterificación de la pectina y se mide como sigue: resumidamente, se ponen 100 μl de muestra (diluida 1:25 en agua destilada) en tubos de plástico de 2 ml con tapón roscado y se añaden 180 μl de tampón de citrato (100 mM, pH = 6,5). Subsiguientemente, se añaden 20 μl de alcohol-oxidasa diluida (0,01 unidades/μl en tampón de citrato) y se añaden 100 μl de agua a fin de alcanzar un volumen final de 400 μl. Los tubos se mezclan suavemente y se incuban a 30°C durante 10 min. A continuación, se añaden a cada tubo 400 μl de solución Purpald (5 mg/ml en NaOH 0,5 N, preparada menos de 1 hora antes), y las muestras se tapan y se agitan vorticialmente de modo energético para asegurar su oxigenación. Los tubos se dejan en un baño de agua a 30°C durante 30 min. Se retiran luego las muestras del baño de agua y se añaden 1,2 ml de agua destilada hasta un volumen final de 2,0 ml. Se determina luego la absorbancia a 550 nm contra una curva estándar de metanol (entre 0 y 200 μmol/100 ml). Se prepara una muestra en blanco con agua destilada, tampón de citrato y alcohol-oxidasa diluida.

El calentamiento del OMW desde 50 a 60°C condujo a una acumulación de metanol, que indicaba la posible des-esterificación de la pectina. En este intervalo de temperatura, la tasa de des-esterificación aumenta sustancialmente

con la temperatura creciente. Además, son adecuadas 2 horas de tratamiento térmico a 60°C para la activación de la PME endógena en las muestras de OMW. Una determinación del grado de metilación de la pectina del OMW pudo establecer que la liberación de metanol se origina por la desesterificación de la pectina. La acumulación de metanol era más bien baja y no significativa para calentamiento por encima de 65°C. Una posible desactivación de la PME ocurre después de tratamiento durante 1 hora y 30 minutos a 65-70 y 80°C, respectivamente (Figura 2). Por tanto, un posible tratamiento térmico a 60°C durante 3 horas podría acrecentar tanto la desesterificación de la pectina como la solubilización de la pectina.

Las mezclas de OMW tratadas térmicamente se procesaron luego para la recuperación del residuo insoluble en alcohol como se describe a continuación. Una parte alícuota de la muestra de OMW tratada térmicamente (como se ha indicado arriba) se dispersó en etanol hasta una concentración final de 85% (v/v). Cada mezcla se agitó a 4°C durante 1 hora, se filtró y se extrajo dos veces con cloroformo/metanol (2:1, v/v, 3 veces el peso fresco inicial) durante 30 min bajo agitación continua.

La Tabla 4 muestra la cantidad del AIR recuperado, el contenido de ácido galacturónico del AIR, el contenido de ácido galacturónico de la fracción de AIR soluble en agua, así como el grado de metilación correspondiente de la pectina soluble en agua.

Tabla 4. Características del AIR recuperado a partir de muestras de OMW tratadas durante 3 horas a temperaturas diferentes.

Muestra de OMW	AIR (p/p)	GalA** (p/p)	GalA soluble en agua*** (p/p)	DM de la pectina soluble en agua (%)
Bruta	2,7±0,1	4,9±0,2	6,2±0,2	78±2
50 °C	2,8±0,1	5,0±0,1	7,6±0,2	73±1
55 °C	2,7±0,1	4,9±0,1	8,2±0,1	62±2
60 °C	2,7±0,1	4,8±0,1	8,7±0,2	59±2
65 °C	2,8±0,1	5,0±0,1	7,8±0,2	64±1
70 °C	2,8±0,1	4,8±0,2	7,6±0,1	65±1
80 °C	2,7±0,1	4,8±0,1	7,3±0,1	71±1

\* AIR se expresa como porcentaje de la muestra de OMW inicial.  
 \*\* GALA se expresa como porcentaje de AIR.  
 \*\*\* GalA se expresa como porcentaje del AIR soluble en agua.

La cantidad recuperada de AIR, así como el contenido de ácido galacturónico, no se veían afectados por los diferentes tratamientos térmicos aplicados. El grado de metilación de la pectina soluble en agua disminuía significativamente desde 78 a 59%, para 50 a 60°C. El GalA de la pectina soluble en agua aumentaba desde 6,2 a 8,7%, para 50 a 60°C. Los resultados indican la activación de PME a 60°C, con un aumento subsiguiente en la solubilización del material pectínico, así como una disminución en DM del material pectínico recuperado.

## REFERENCIAS

- Anthon G.E. and Barrett D.M. (2006). "Characterization of the temperature activation of pectin methylesterase in green beans and tomatoes". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 204-211.
- Cardoso S.M., M.A. Coimbra and Lopez da Silva J.A. (2003). "Temperature dependence of the formation and melting of pectin-Ca<sup>2+</sup> networks: a rheological study". *Food Hydrocolloids*, 17: 801-807.
- Cardoso S.M., M.A. Coimbra and Lopez da Silva J.A. (2003). "Calcium-mediated gelation of an olive pomace pectic polysaccharide arabinan side chains". *Carbohydrate Polymers*, 52: 125-133.
- El-Nawawi S.A. and Heikalb Y.A. (1995). "Factors affecting the production of low-ester pectin gels". *Carbohydrate Polymers*, 26: 189-193.
- Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M. and Miniati, E. (1992). "Simple and hydrolysable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1571-1576.
- Niaounakis M. and C.P. Halvadakis (2004). *Olive-Mill waste management. Literature Review and Patent Survey*, Typothito - George Dardanos.
- Theander, O.P., Aman, E., Westerlund, R., and Petterson, D. (1995). "Total Dietary Fiber determined as neutral sugar residues, uronic acid residues and Klason lignin (The Uppsala Method): Collaborative Study". *Journal of AOAC International*, 78: 1030-1044.
- Van Buren, J.P., J.C. Moyer, D. Wilson, W.B. Robinson and Hand D.B. (1960). "Influence of blanching conditions on sloughing, splitting, and firmness of canned snap beans". *Food Technology*, 14: 233-236.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Proceso para aislamiento de fibras dietéticas solubles y polifenoles valiosos a partir de aguas residuales de almazara, **caracterizado por** los pasos siguientes:
- el agua residual de la almazara se
- 10 (a) desgrasa por evacuación de la grasa por centrifugación y;
- (b) se concentra por evacuación del contenido de agua y;
- (c) se extrae utilizando etanol y un ácido orgánico y;
- 15 (d) las fibras dietéticas se separan de los polifenoles por precipitación de las fibras dietéticas en etanol y;
- (e) las fibras dietéticas solubles se separan de las fibras dietéticas insolubles por redisolución de las fibras dietéticas precipitadas en agua, con lo cual las fibras dietéticas insolubles precipitan dejando en
- 20 solución las fibras dietéticas solubles.
2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la concentración del agua residual en el paso (b) se efectúa a 50 hasta 60°C durante 2 a 3 horas.
- 25 3. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la concentración de etanol durante la extracción en el paso (c) es hasta 7% (v/v).
4. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la concentración del ácido orgánico utilizado en el paso (c) es hasta 3% en peso de la solución de extracción.
- 30 5. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el ácido orgánico utilizado en el paso (c) está presente en una cantidad de al menos 0.5% en peso de la solución de extracción.
6. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el ácido orgánico utilizado en el paso (c) se selecciona del grupo constituido por ácido cítrico, ácido tartárico, ácido malónico, ácido maleico, ácido málico, ácido oxálico, ácido adípico, y ácido fumárico.
- 35 7. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la concentración de etanol utilizada en el paso (d) para la extracción de polifenoles es al menos 85% (v/v).
- 40 8. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los polifenoles extraídos en el paso (d) se separan de las fibras dietéticas por filtración.
9. Proceso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde en donde el líquido extraído rico en etanol que contiene los polifenoles se diluye para dar un líquido que contiene 15-40% de etanol.
- 45 10. Proceso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde en donde el líquido diluido rico en etanol que contiene los polifenoles se clarifica por filtración.
- 50 11. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde las fibras dietéticas precipitadas en el paso (e) se redisuelven en agua a 1-4% p/v.
12. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde las fibras dietéticas solubles en el paso (e) se separan de las fibras dietéticas insolubles por centrifugación.
- 55 13. Proceso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde las fibras solubles se concentran por evaporación.



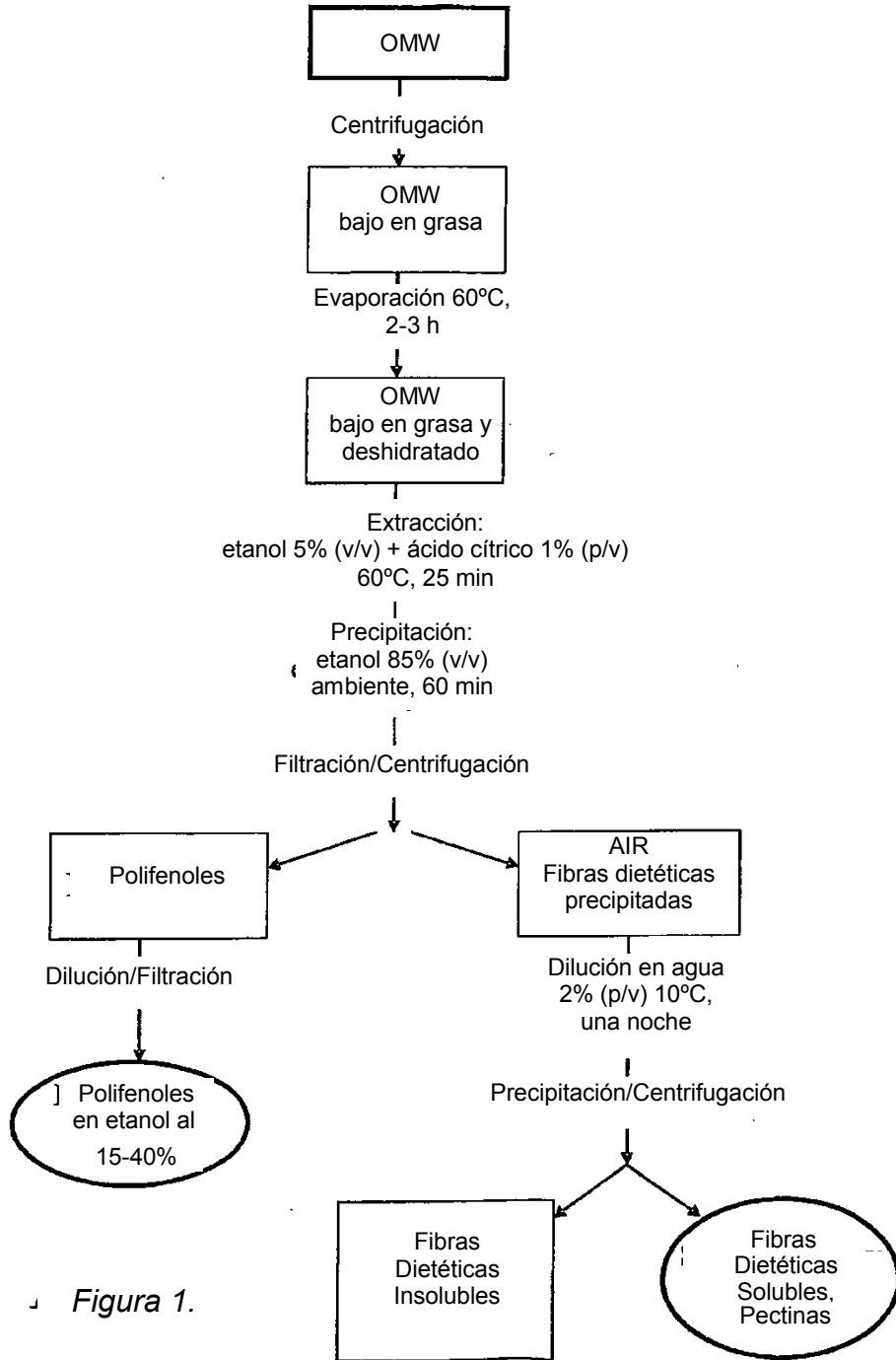


Figura 1.

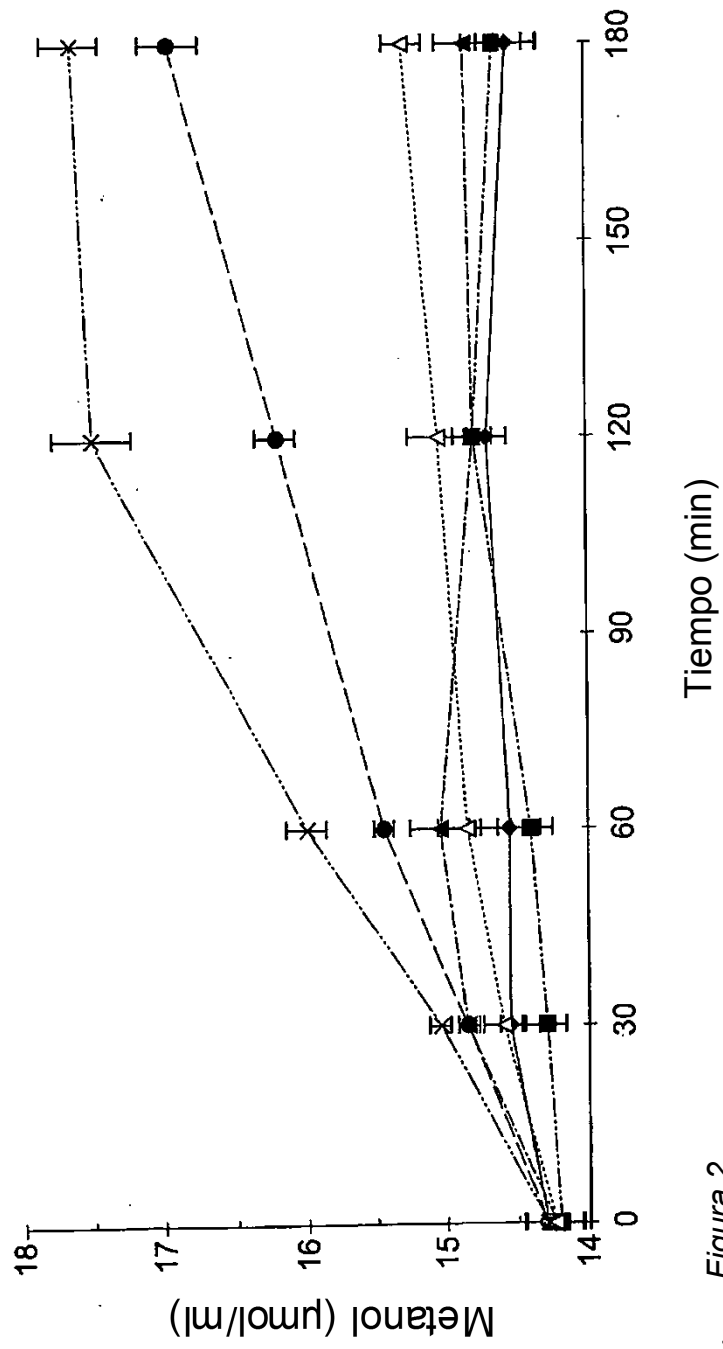


Figura 2.