



Guía Final del Proyecto



Este proyecto ha sido financiado en un 80% por la Unión Europea a través del FEADER, con un presupuesto total de la ayuda de 176.251,1 €. El Grupo Operativo AGUACAVALUE es responsable del contenido publicado en esta revista y se adhiere a la Decisión Comunitaria de Desarrollo Rural, Innovación y Empleo Temática, sobre sostenibilidad de gestión respaldada de la aplicación de la Ley Orgánica 15/2010 y su actual modificación.



Contenido

1. Grupo Operativo AGUACAVALUE, Bioeconomía Circular del Aguacate.....	4
2. Miembros del Grupo Operativo AGUACAVALUE.....	6
3. Objetivos del Proyecto.....	11
4. Desarrollo y Resultados del Proyecto.....	7
OBJETIVO 1: Elaboración de Pellets y Piensos para Alimentación Animal.....	7
Obtención, Caracterización y Selección de las Materias Primas.....	7
Elaboración y Caracterización de Pellets y Piensos.....	19
Estudios en Animales con los Pellets y Piensos AGUACAVALUE.....	26
OBJETIVO 2: Desarrollo de Extractos Naturales, Nutraceuticos y Cosméticos.....	32
Obtención, Caracterización y Selección de las Materias Primas.....	32
Desarrollo de Extractos Naturales.....	34
Desarrollo de Nutraceuticos y Cosméticos.....	47
5. Actividades de Divulgación del Proyecto de Innovación.....	51
6. Conclusiones.....	55
7. Agradecimientos.....	56
8. Anexo I: Cronograma de ejecución.....	57
9. Anexo II: Cronograma de divulgación.....	60



1. Grupo Operativo AGUACAVALUE, Bioeconomía Circular del Aguacate

El proyecto del Grupo Operativo AGUACAVALUE propone soluciones sostenibles e innovadoras para revalorizar los subproductos de la producción de aguacate y guacamole (pieles, huesos y destrío de aguacate) desarrollando piensos animales, nutracéuticos y cosméticos de alto valor añadido.

En los últimos años, la industria agroalimentaria está implementando numerosas prácticas de bioeconomía circular para gestionar mejor sus residuos y ser más eficiente y sostenible. Una de estas prácticas es el tratamiento adecuado de los subproductos generados durante el cultivo y procesado de frutas y verduras para obtener productos

de alto valor añadido con potencial saludable.

En el caso del aguacate, fruta tropical cuya producción y consumo están en auge por sus reconocidas propiedades nutricionales y beneficiosas para la salud, se desecha mucho destrío que no alcanza los estándares de calidad (aprox. 1% de la producción) y, durante la elaboración de alimentos derivados como el guacamole, se generan gran cantidad de pieles y huesos de aguacate (30-40% del peso de la fruta procesada). Estos subproductos suponen un grave problema de gestión, económico y medioambiental para las empresas productoras mientras que,

potencialmente, podrían ser utilizados como fuente natural de compuestos bioactivos de alto valor.

La producción española de aguacate ha llegado a unas 96.000 toneladas en la campaña 2019/20, estando concentrada principalmente en las provincias de Málaga y Granada y suponiendo más del 90% de la producción europea. Teniendo en cuenta el creciedo exponencialmente de su consumo en todo el mundo, la alta demanda para el sector productor de aguacate/guacamole de nuestro país en los próximos años está asegurada. Sin embargo, esto conlleva un gran reto en cuanto a la adecuada gestión industrial de los subproductos generados.

Ante esta situación, varias empresas y entidades comprometidas con la sostenibilidad de la industria agroalimentaria constituyeron el **Grupo Operativo AGUACAVALUE** y han desarrollado un proyecto innovador cuyo **objetivo principal es crear un sistema de economía circular mediante el aprovechamiento de subproductos de la industria del aguacate para darles una salida comercial en los sectores de alimentación animal, nutracéutico y cosmético**. De esta forma, se pretende impulsar la transformación de dichos subproductos en ingredientes bioactivos de óptima calidad, valorizándolos y mitigando el impacto medioambiental de la creciente demanda de aguacate y guacamole.



2. Miembros del Grupo Operativo AGUACAVALUE

El **Grupo Operativo AGUACAVALUE** está coordinado por el Centro Tecnológico de Investigación y Desarrollo del Alimento Funcional (**CIDAF**, Granada), especializado en la I+D+i en ingredientes bioactivos para agricultura, alimentación, ganadería y cosmética. Los demás miembros del consorcio supra-autonómico son empresas y entidades especializadas de los sectores implicados en la cadena de valor: **Grupo LA CAÑA**, agrupación empresarial especializada en la producción, comercialización y exportación de productos hortofrutícolas (Motril, Granada); **FRUMACO**, empresa encabezada por SAT Trops dedicada a la elaboración de productos derivados del aguacate

(Vélez-Málaga, Málaga); **Cooperativas Agro-alimentarias de Andalucía-Granada**, organización que aglutina a cooperativas agrarias andaluzas y que dirige las actividades de divulgación del proyecto; **MACOB**, empresa de fabricación de piensos animales (Villanueva Mesía, Granada); y **NATAC Biotech**, especializada en I+D, producción industrial y comercialización de ingredientes naturales de origen vegetal (Alcorcón, Madrid). También cuenta con la colaboración del **CSIC** para el desarrollo de los ensayos de alimentación animal en la **Estación Experimental del Zaidín** (Armillá, Granada) y con el asesoramiento de **Activa I+D+i** (Málaga).

Integrantes del Grupo Operativo



Colaboradores



3. Objetivos del proyecto

El proyecto de innovación titulado “Revalorización de Subproductos del Aguacate en Nutrición Animal, Nutracéuticos y Cosmeceúticos” tiene dos **objetivos específicos**:

Objetivo 1: Formular piensos para animales de alto valor nutritivo y potencial funcional a partir de los subproductos del aguacate.

Objetivo 2: Desarrollar cosméticos y nutracéuticos de alto valor añadido al

incorporar compuestos bioactivos naturales extraídos de los subproductos del aguacate.

Para llevar a cabo estos objetivos, los diferentes miembros del Grupo Operativo AGUACAVALUE han llevado a cabo numerosas actividades a lo largo de dos anualidades (2018-2020), de acuerdo a **los Cronogramas de Ejecución y de Divulgación** presentados en el **Anexo I y Anexo II** de esta guía, respectivamente.

4. Desarrollo y Resultados del Proyecto

OBJETIVO 1: Elaboración de Pellets y Piensos para Alimentación Animal

I. Obtención, Caracterización y Selección de las Materias Primas.

Todos los subproductos del aguacate que se han estudiado en el proyecto del GO AGUACAVALUE presentan un alto % de humedad que favorece su inestabilidad y deterioro microbiológico durante el almacenamiento. Por ello, las primeras actividades del pro-

yecto se dirigieron a obtener materias primas (MPs) estables, tratando de reducir su humedad hasta un 7-10%. Para ello, en los subproductos destinados al Objetivo 1 se plantearon inicialmente dos opciones de secado:

1. Secado “al aire” (A): todos los subproductos se secaron por este procedimiento poniendo 6 kg materia húme-

da/m². Se mantuvieron secando unas 8 h (moviendo las muestras cada 2h) a una T^a ambiental de 35-40 °C y viento de 8-12 km/h.

- Ventajas:

- Económico.
- Poco gasto energético de equipamiento/maquinaria.
- Permite tratar un gran volumen de subproducto a la vez.
- No se alcanzan altas temperaturas.

- Inconvenientes:

- Proceso variable e incontrolado, dependiente de la estacionalidad y las condiciones ambientales (meteorología, humedad ambiental, etc).
- Puede implicar tiempos largos de secado (según ratio kg/m²).
- Requiere disponer de grandes espacios al aire libre que puedan destinarse a esta actividad.
- Requiere de personal pendiente de remover el material.

2. Secado en estufa bajo condiciones fijas de 75 °C (75): se seleccionó esta temperatura para minimizar el deterioro de nutrientes y compuestos bioactivos debido al tratamiento térmico. La carga de la estufa dependió de las características del equipo de secado y de las posibilidades de ejecución de cada empresa, fijándose la carga de la estufa en:

a. FRUMACO (P: Piel, M: Mezcla, H:

Hueso): 65 kg.

b. LA CAÑA (DG: Destrío Graso, DD: Destrío Desgrasado): 6 kg.

- Ventajas:

- Proceso controlado (T^a, carga de la estufa, tiempos de secado...).
- Proceso optimizable.
- Mayor rendimiento de secado (kg/h)
- Si se dispone de secaderos industriales, permite tratar un gran volumen de subproducto.

- Inconvenientes:

- Requiere inversión en equipo de secado.
- Mayor coste energético del proceso (dependiente del tamaño del equipo de secado).

Tras realizar los secados de los diferentes subproductos (P, M, H, DD y DG) a ambas condiciones (A y 75) y determinar el % de humedad inicial y final, se pudo conocer los rendimientos de secado (**Tabla 1**). Comparando entre los subproductos, P obtuvo el mayor rendimiento de secado en base húmeda (se conseguiría tratar más cantidad de subproducto húmedo), pero **en base seca H fue el subproducto que presentó mayor rendimiento de secado** (se conseguiría obtener más cantidad de MP seca). En cuanto al tipo de secado, se observó que **los secados a 75 °C resultaron más eficientes que los secados "al aire"**.

Tabla 1. Rendimientos de secado de estas posibles materias primas (MPs) para la elaboración de pellets/piensos.

SECADO	MATERIA PRIMA (MP)	RENDIMIENTO DE SECADO		
		kg MP húmeda / (m ² x h)	kg MP seca 7-10% / (m ² x h)	kg MP seca / (m ² x h)
AIRE	A P	0,750	0,206	0,185
	A M	0,750	0,303	0,278
	A H	0,750	0,535	0,413
	A DG	0,750	0,272	0,210
	A DD	0,750	0,260	0,185
ESTUFA	75 P	6,075	1,619	1,579
	75 M	5,778	2,268	2,138
	75 H	4,083	2,618	2,234
	75 DG	1,000	0,405	0,280
	75 DD	1,000	0,384	0,260

Las MPs fueron: P = piel, M = mezcla piel/hueso, H = hueso, DG = Destrío Graso, DD = Destrío desgrasado; secados "al aire" (A) o en estufa a 75 °C (75).

A continuación se procedió a la molienda de los subproductos secos en Grupo LA CAÑA hasta conseguir "harinas" de Ø < 0,5mm, y se realizó un control de calidad de las MPs obtenidas, evaluando su % humedad tras el secado y la carga microbiológica. Los resultados indicaron que **todas las MP presentaron una calidad microbiológica adecuada** para su empleo como ingredientes alimentarios, aunque destacaron H y DD por su baja carga en aerobios totales, mohos y levaduras. En cuanto a su estabilidad y adecuación a ser empleadas en la elaboración de pellets/piensos, se observó que **debía mejorarse el % de humedad final** de alguna de ellas para que se ajusta-

ran a los valores óptimos para la producción de pellets (7-10% humedad) y se asegurase la estabilidad de las MPs durante el almacenamiento.

El siguiente paso fue la caracterización de todas las MPs, evaluando su valor nutricional, fermentabilidad in vitro en rumiantes, contenido en compuestos fenólicos y potencial bioactivo (antioxidante y antimicrobiano).

Como se observa en la **Tabla 2**, todos los subproductos presentaron un alto % en fibra (35-45%), un % de proteína relativamente bajo (5-12%) y un alto % de grasa (15-30%), con excepción del hueso (3%) que también destacó por

su alto contenido en almidón (55%). Estos resultados reflejaron que el **hueso (H)**, seguido del **destrío desgrasado (DD)**, eran las MPs con mejor perfil nutricional para su incorporación en piensos, tanto para rumiantes como para monogástricos. Ambos subproductos también fueron los que presentaron una **mayor fermentabilidad ruminal in vitro y eficiencia energética (Tabla 3)**, como muestra su mayor

producción de gas (CO₂ y CH₄) y de ácidos grasos volátiles, el mayor valor de energía metabolizable y de digestibilidad de materia orgánica (MO), y la menor proporción de acético/propiónico (indicativo de que la fermentación sería más eficiente). Por lo tanto, estos resultados confirman el interés de H y DD como materias primas para la alimentación de rumiantes.

Tabla 2. Composición Nutricional de las MPs destinadas a pellets/piensos.

Contenido de Nutrientes ¹	Unidades	AP	75P	AM	75M	AH	75H	ADG	75DG	ADD	75DD	DCR	DCM
Almidón seco	g/100g MS	83.9	82.1	81.7	81.1	86.7	85.1	81.7	80.1	86.8	85.1	80-81	80-81
Materia orgánica	g/100 g MS	96.1	96.0	96.1	96.4	96.7	97.0	97.3	96.2	96.3	96.1	92-91	91-91
Minerales totales	g/100 g MS	4.55	4.86	4.79	4.33	4.34	3.81	3.88	3.02	4.03	4.81	3-5	3-5
Proteína	g/100 g MS	5.47	7.14	7.81	7.41	3.01	3.38	3.38	3.22	11.5	12.1	18-19	18-19
Celulosa	g/100 g MS	24.6	22.7	18.0	18.1	1.60	1.78	11.3	11.8	21.8	13.1	4-6	6-8
Fibra neutro desgrasada ² (FDN)	g/100 g MS	65.0	45.4	47.7	46.7	41.8	34.1	33.8	33.1	40.4	45.0	30-44	1-5
Fibra ácido desgrasada ² (FAD)	g/100 g MS	66.1	31.8	18.7	20.1	13.9	9.8*	12.8	24.2	26.9	18.1	18-21	2-4
Lignina (FDN y FAD)	g/100 g MS	28.1	18.0	13.4	13.1	34.2	3.89	1.38	11.3	20.3	19.1		
Celulosa (FDN y FAD)	g/100 g MS	18.2	13.8	11.3	8.31	4.08	4.88	14.8	13.7	16.8	18.1		
Lignocelulosa (FDN)	g/100 g MS	13.6	11.8	18.0	18.6	34.7	11.3	16.3	28.2	11.9	8.71		
HC almidón ³	g/100 g MS	0.21	21.66	31.81	34.31	45.93	54.76	1.71	1.68	11.7	13.1	25-31	53-71
Enzima	g/100 g MS	2415	4378	3384	1140	4401	4301	4590	6188	6071	6111		
Energía	kJ/kg MS	27.0	30.8	33.4	31.9	31.4	18.2	27.2	27.8	25.4	18.4	19-21	30-31

¹ HC: Hidratos de carbono (principalmente almidón), estimado por cálculo. Las MPs fueron: P = piel, M = mezcla piel+hueso, H = hueso, DG = Destrío Grass, DD = Destrío desgrasado; secadas "al aire" (A) o en estufa a 75 °C (75). DCR: Rango adecuado en dieta general para rumiantes; DCM: Rango adecuado en dieta general para monogástricos.

Tabla 3. Fermentación ruminal in vitro de las MPs destinadas a pellets con inóculo procedente de ovino.

Parámetro	Unidades	AP	75P	AM	75M	AH	75H	ADG	75DG	ADD	75DD	DC
pH		6.44	6.81	6.81	6.21	6.61	6.61	6.58	6.65	6.61	6.64	6-6
Producción de gas	ml/g MS	98.7	94.0	186	179	171	176	113	109	125	167	100
DM	mg/g MS	5.49	4.80	6.99	1.38	11.3	13.2	3.88	4.48	8.70	11.13	1-1
DM	mg/100 g MS	29.1	33.8	34.8	83.1	81.8	86.2	81.8	82.9	112.2	81.8	81
Energía metabolizable	kJ/kg MS	6.15	8.35	9.30	6.58	7.58	7.21	6.77	6.17	8.25	7.03	6-8
Digestibilidad de DM	g/g MS	38.0	39.7	38.7	36.8	33.0	33.0	38.1	38.8	40.5	38.8	33-1
N-NH ₃	mg/100 ml	35.5	35.6	34.6	34.6	35.3	29.7	30.8	34.4	35.5	31.3	4-7
Ácidos grasos volátiles totales	mmol	34.4	35.8	31.9	36.8	33.8	39.3	40.1	26.0	31.5	40.0	4-8
Acético	mmol	15.5	15.0	16.5	18.1	17.5	18.1	18.6	15.9	18.2	17.5	16-4
Propiónico	mmol	11.7	18.7	11.7	13.7	13.8	14.4	11.7	12.8	14.8	13.0	11-1
Butírico	mmol	3.18	1.87	1.40	1.49	1.88	1.49	1.57	1.78	1.40	1.88	1-2
Valeriano	mmol	1.01	18.6	11.8	12.8	14.9	18.1	18.9	13.9	18.7	13.9	1-12
Hexanoico	mmol	2.18	3.82	3.02	2.21	2.18	3.33	3.87	3.17	3.20	3.08	1-18
Octanoico	mmol	1.91	2.01	1.90	1.91	1.82	2.34	1.86	1.91	1.93	1.92	2-7
Acético/propiónico		1.32	0.82	1.37	1.36	1.24	1.24	1.34	1.24	1.24	1.24	2-18

DC: Dieta Control de buena calidad para producción de leche en ovino (Concentrado de producción/leche de ovino 1:1). Las MPs fueron: P = piel, M = mezcla piel+hueso, H = hueso, DG = Destrío Grass, DD = Destrío desgrasado; secadas "al aire" (A) o en estufa a 75 °C (75).

Por otra parte, los análisis de composición fenólica total (PT) y capacidad antioxidante total (TEAC) (Figura 1) mostraron que el **hueso (H) fue el subproducto con mayor potencial antioxidante**, obteniendo además valores superiores en la mayoría de MPs cuando los secados se realizaron "al aire" (A) que en estufa (75). En cuanto al potencial antimicrobiano frente a diferentes microorganismos deteriorantes, oportunistas y/o patógenos, tras realizar varias pruebas con los extractos concentrados de las MPs mediante el método Kirby Bauer (cuanto mayor halo de inhibición,

mayor potencial antimicrobiano) (Tabla 4), se observó que **todas las MPs contenían compuestos con capacidad de inhibir el crecimiento microbiano**, siendo H y DD las MPs que en general presentaron mayor actividad. Por lo tanto, al incorporarlos como ingredientes de pellets/piensos, podrían ser de interés por sus propiedades antioxidantes, conservantes, e incluso, como alternativa frente al uso masivo de antibióticos para mejorar la salud animal y la seguridad alimentaria de los productos derivados.

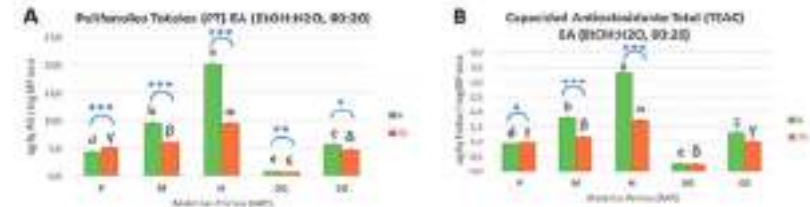


Figura 1. Potencial bioactivo de los extractos obtenidos de las MPs para pellets/piensos. A) Contenido en Polifenoles Totales (PT) (EA (EtOH:H₂O, 99:1)). B) Capacidad Antioxidante Total (TEAC) (EA (EtOH:H₂O, 99:1)). Los ensayos se realizaron con extractos de las materias primas empleando EtOH:H₂O (99:1, v/v) como disolvente de extracción. Las MPs fueron: P = piel, M = mezcla piel+hueso, H = hueso, DG = Destrío Grass, DD = Destrío desgrasado; secadas "al aire" (A) o en estufa a 75 °C (75). Las letras minúsculas indican diferencias significativas (ANOVA, p<0.05) entre las MPs con secado A, las letras mayúsculas indican diferencias significativas (ANOVA, p<0.05) entre las MPs con secado 75. Los asteriscos indican diferencias significativas (Student's, p<0.05) entre cada subproducto con secado A o 75 (*, p<0.5; **, p<0.01; ***, p<0.001).

Tabla 4. Potencial antimicrobiano de los extractos obtenidos a partir de las MPs (Ensayo Kirby Bauer).

Microorganismos	Número de placas	Círculos de inhibición	Zona de inhibición (mm)	Ensayo Kirby Bauer - Efecto halo de inhibición (mm)												
				AP	75P	AM	75M	AH	75H	ADG	75DG	ADD	75DD	Control		
Gramnegativos																
<i>Escherichia coli</i>	20	0	0	11	12	14.5	12	12	12	14						
<i>Salmonella enteritidis</i>	20	0	8	8	9	11	12	12	13	13						
Grampositivos																
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	0	8	9	14	11	11	11.5	10	10	11					
<i>Enterococcus faecalis</i>	20	0	10.8	11	7.8	8.8	11				10	11				
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	20	0	5.8	10	8.8	11					10	10	10			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20	0.5	7	10	10.8	11	10	7	7	12	10					

* Extractos obtenidos con EtOH:H₂O (99:1) y almacenados en acetona a 100 mg/ml. Las MPs fueron: P = piel, M = mezcla piel+hueso, H = hueso, DG = Destrío Grass, DD = Destrío desgrasado; secadas "al aire" (A) o en estufa a 75 °C (75).

Una vez seleccionados los subproductos con mejores propiedades para su empleo como MPs para pellets/piensos animales (H y DD), en la segunda anualidad se secaron a gran escala hasta humedad <10% y se molieron (**Figura 4**), obteniendo unos 1000 kg de **harina de hueso de aguacate** secados por dos sistemas diferentes:

- **Secado en estufa (HE)**: Se llevó a cabo en la estufa de FRUMACO, a una temperatura de 85°C y una carga de estufa de 80 kg de hueso partido a la mitad (tal y como se genera durante la producción de guacamole), requiriéndose unas 20h/tanda para llegar a una humedad <10% y tardándose 25 días en secar todo el hueso necesario.

- **Secado en tromel industrial (HT)**: Se llevó a cabo a una temperatura de 180-220°C (en un tromel rotativo con caldera de biomasa) y procesando unos 1800 kg de hueso de aguacate, previamente triturado por Grupo LA CAÑA justo antes de ser introducido en el tromel, proceso que llevó unas 3h. A continuación se fue añadiendo a la boca de entrada del tromel, requiriéndose unas 3h/tanda para secar todo el hueso necesario, aunque el tiempo de residencia medio fue de unos 30 min

ya que fue avanzando por el tromel y siendo recogido por la boca de salida. Por lo tanto, se tardó 1 día en completar todo el proceso.

También se intentó secar “al sol” la misma cantidad de destrío desgrasado. En una primera tanda, se trituraron unos 1000 kg de destrío de aguacate aportados por Grupo LA CAÑA y se desgrasaron por centrifugación en dos fases, sin aporte de aguas, obteniendo por un lado el aceite de aguacate y por otro la pulpa del aguacate desgrasado, subproducto con mucha humedad (75-80%) que fue extendido sobre plásticos de uso agrícola en el suelo de una finca. los días de secado no fueron óptimos al ser invierno y haber bastante humedad relativa (60-70%) y temperaturas bajas y con bastante oscilación térmica entre el día y la noche (20-10°C). Además, chispeó uno de los dos días de secado, por lo que finalmente la masa se enmoheció superficialmente antes de llegar a secarse completamente. Aunque se recogió muestra del destrío desgrasado secado “al sol” (DDS) para ser analizada, este subproducto fue descartado en el proyecto como MP para la obtención de pellets/piensos al no disponer de la cantidad requerida en buenas condiciones.



Figura 4. Obtención de subproductos secados a gran escala (2ª anualidad).
 A) Hueso de aguacate secado en Estufa (HE); B) Hueso de aguacate secado en Tromel Industrial (HT);
 C) Destrieo desgrasado secado al sol (DDS)

Tras analizar los rendimientos de secado, se confirmó que era **mucho más eficiente el secado del hueso de aguacate en tromel** (1800kg de H húmedo/día) que el secado en estufa (80kg de H húmedo/día). Cabe indicar que el secado en tromel no fue optimizado, ya que sólo se realizó una prueba previa con menor cantidad de hueso para comprobar que el proceso era factible, pero con vistas a que éste

proceso parece el más adecuado para el tratamiento de grandes volúmenes, sería conveniente ajustar la Tª, el ritmo de carga en el tromel, la velocidad de rotación (en caso de emplearse un tromel rotativo) o probar en un tromel que tenga cinta transportadora para asegurar la salida continua y completa del hueso seco tras su paso por el tromel.

En cuanto al destrío desgrasado, el secado al sol podría ser una opción factible en verano donde se conseguirían rendimientos de secado muy superiores y posiblemente no se produciría el enmohecimiento del producto, como se comprobó en la 1ª anualidad. También podría ser una buena opción su secado en un tromel con cinta transportadora.

A continuación, se procedió a la **molienda de HE y HT** hasta conseguir "harinas" de $\phi < 0,5\text{mm}$, ya que es el formato adecuado para su posterior pelletizado, y se realizó el **control de calidad** de todas las MPs obtenidas,

Las posibles MPs destinadas a alimentación animal (HE, HT y DDS) también fueron caracterizadas in vitro a nivel de perfil nutricional, fermentabilidad ruminal in vitro, potencial bioactivo (antioxidante y antimicrobiano) y perfil fenólico.

El **perfil nutricional** se muestra en la **Tabla 6**. Además de las MPs obtenidas en el proyecto, se analizaron también dos MPs habitualmente empleadas para la formulación de piensos (Trigo y Maíz). Al comparar los resultados de las posibles MPs, se observaron

evaluando el **% de humedad** al inicio y final del proceso (llegando a ser 10-7% en HE y HT, pero no en DDS) y la **carga microbiológica**, para corroborar que se trataban de productos seguros a nivel alimentario y podían emplearse como ingredientes para piensos animales, asegurando la estabilidad de las MPs durante el almacenamiento.

En la **Tabla 5** se presenta un resumen del proceso de obtención y control de calidad de los subproductos obtenidos en la 2ª anualidad como posibles MPs de pellets y piensos.

diferencias significativas entre el hueso y el destrío desgrasado para todos los parámetros (**HE&HT \neq DDS**), pero el tipo de secado del hueso no tuvo un efecto en la mayoría de los valores nutricionales (**HE \sim HT**), aunque los valores del contenido en fibra y minerales en HE fueron ligeramente superiores a los de HT, que en cambio obtuvo mayor contenido en hidratos de carbono (HC, principalmente almidón).

Por lo tanto, **los resultados corroboraron el interés del Hueso como materia prima para la nutrición de rumiantes,**

Tabla 5. Proceso de obtención y control de calidad de las de las posibles materias primas (MPs) para pellets/piensos animales obtenidas en la 2ª anualidad

		SUBPRODUCTO DEL AGUACATE			
	PARÁMETRO	UNIDADES	HUESO SECADO EN ESTUFA (HE)	HUESO SECADO EN TROMEL (HT)	DESTRÍO DESGRASADO SECADO AL SOL (DDS)
PROCESO DE OBTENCIÓN	Pre-tratamiento (antes de secado)		-	Triturado del hueso ($\phi < 1\text{ cm}$)	Triturado y desgrasado del destrío de aguacate
	Condiciones de secado		85 °C 80 kg/tanda 20h/tanda	180-220°C Carga continua (1800 kg/3h)	No adecuada humedad relativa (60-70%) Tª [20-10 °C]
	Tiempo requerido para obtener unos 1000 kg hasta humedad < 7-10%	días	25	1	> 3 días
	Rendimiento de secado hasta humedad < 7-10%	Kg MP húmeda / día	80 kg/día	1800 kg/día	-
	Post-tratamiento (tras secado)		Triturado ($\phi < 1\text{ cm}$)	-	-
	Molienda	ϕ [mm]	< 0,5	< 0,5	-
CONTROL DE CALIDAD	Humedad				
	Inicial	[%]	45,6	46,1	77,5
	Final	[%]	8,81	7,28	52,4
	Carga microbiológica (tras secado)				
	Aerobios Totales	log 10 ufc/g	2,41	1,27	4,99
	Enterobacterias	log 10 ufc/g	ND	ND	ND
Licófero monocitogénes	log 10 ufc/g	ND	ND	ND	
Mohos y Levaduras	log 10 ufc/g	<1	ND	2,61	

ND: no detectado

estando su % de inclusión limitado a un 50-60% por su alto contenido en HC. El **Destrío desgrasado** también podría ser de interés para rumiantes, aunque su incorporación en el pienso estaría limitada a un 20% por su alto contenido en grasa. Por otro lado, el perfil nutricional de

HE, HT y DDS se podría ajustar bien a la dieta de monogástricos con una formulación adecuada del pienso para restringir su % de inclusión (limitado principalmente por el alto % en fibra) por lo que como máximo el Hueso podría incorporarse a un 15-20% y el Destrío desgrasado en un 10%.

Tabla 6. Composición nutricional de las MPs destinadas a pellets/piensos.

Composición Nutricional	Unidades	HE	HT	DDS	Trigo	Maíz	DC R	DC M
Materia seca	g/100g ME	85,3	85,6	84,9	85,4	87,5	90-94	90-94
Materia orgánica	g/100g ME	80,5	84,3	85,3	88,1	88,0	87-93	87-93
Minerales totales	g/100g ME	6,46	5,76	4,68	1,95	1,06	3-5	3-5
Proteína	g/100g ME	6,06	6,30	11,7	12,6	5,60	18-20	18-20
Grasa	g/100g ME	4,06	4,08	22,8	1,48	3,73	3-5	5-8
Fibra neutro detergente = FND	g/100g ME	40,1	34,4	47,3	27,7	11,1	30-40	3-5
Fibra ácido detergente = FAD	g/100g ME	18,8	20,0	11,6	3,93	2,60	15-20	3-4
Lignina (FND y FAD)	g/100g ME	14,30	15,50	18,4	1,47	1,00		
HC (almidón)*	g/100g ME	42,4	45,4	13,5	58,9	79,5	25-35	55-70
Energía	kcal/100g ME	390	395	437	407	337		
Energía	MJ/kg ME	16,1	16,1	18,7	17,0	14,2	18-22	18-22

* HC: hidratos de carbono (principalmente almidón), estimado por cálculo.
 HE: Hueso secado en estufa; HT: Hueso secado en tromel; DDS: Destrío desgrasado secado al Sol.
 DC R: Rango adecuado en dieta de rumiantes; DC M: Rango adecuado en dieta de monogástricos.

Respecto a la evaluación de la **fermentabilidad ruminal in vitro**, se realizó sólo con HE y HT y se observó que la sustitución parcial del pienso de una dieta óptima para sistema de producción intensivo en rumiantes por hueso de aguacate no modificaba significativamente ($p < 0,05$) la producción de gas (Figura 5) ni ningún valor de los parámetros fermentativos ruminales evaluados (pH, producción de gas, ácidos grasos volátiles, amonio, metano y ácido

láctico), independientemente del % de sustitución probado (0-50%) o del tipo de secado (tromel o estufa). En definitiva, **tanto HE como HT demostraron ser MPs muy fermentables en el rumen, pudiendo ser incluidas en el pienso de rumiantes hasta un 50% sin modificar su fermentabilidad, no alterando tampoco la composición ni actividad microbiana del rumen, y confirmando por tanto su interés para la alimentación de rumiantes.**

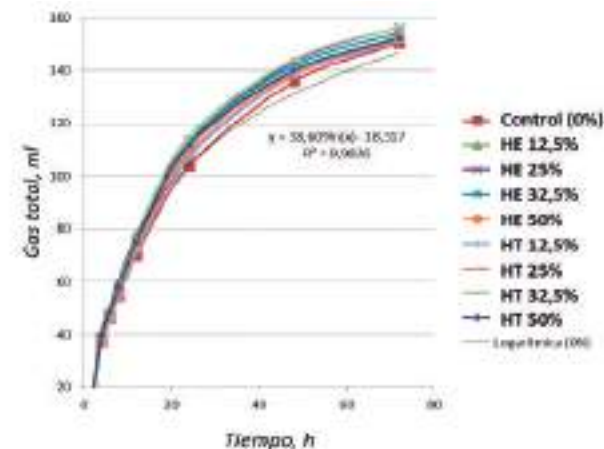


Figura 5. Cinética la producción de gas in vitro de las distintas dietas experimentales, en función del % de sustitución (0, 12,5; 25, 37,5 o 50%) del pienso que forma parte de una ración estándar de caprino por hueso de aguacate secado en estufa (HE) o en tromel (HT).

En cuanto a la evaluación del potencial antioxidante y perfil fenólico de las posibles MPs destinadas a pellets/piensos (Figura 6 y Tabla 7), se observó que **el hueso de aguacate tenía una capacidad antioxidante y contenido en otras materias primas usadas como ingredientes de piensos (trigo y maíz), siendo mayores los valores de TEAC, PT y concentración de compuestos**

fenólicos pormenorizados del hueso secado en tromel (HT) que en estufa (HE). Por lo tanto, a pesar de las elevadas temperaturas que se alcanzan en el tromel, la rapidez en el secado compensa los largos tiempos que se requieren al secar en estufa a menor temperatura, consiguiendo conservar mayor cantidad de compuestos bioactivos en el hueso de aguacate.

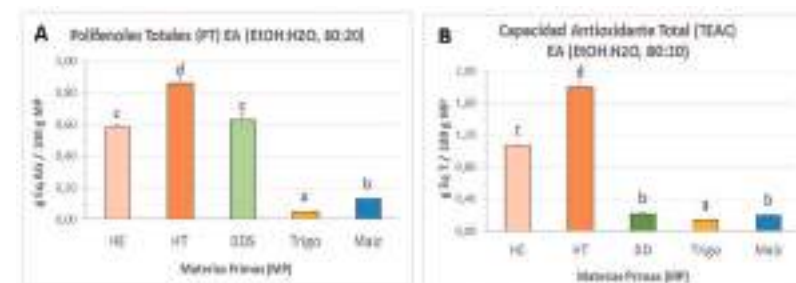


Figura 6. Potencial bioactivo de las posibles materias primas (MPs) para pellets/piensos. A) Contenido en Polifenoles Totales (PT) EA (EIOH:H2O, 80:20) B) Capacidad Antioxidante Total (TEAC) EA (EIOH:H2O, 80:20). Las extracciones de las MPs se realizaron con EIOH:H2O (80:20, v/v). HE: Hueso secado en estufa; HT: Hueso secado en tromel; DDS: Destrío desgrasado secado al Sol. Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre las MPs (ANOVA, $p < 0,05$).

Tabla 7. Perfil fenólico pommerizado de las MP's destinadas a pellets/piensos

PARÁMETRO	UNIDADES	HE	HT	DDS	rt [min]	Meas. n/3
COMPUESTOS FENÓLICOS (HUESO SECAO)	Quercetin	2.30 ± 0.41	2.64 ± 0.24	-	3.46	181,06
	Hydroxytyrosol glucoside	0.130 ± 0.013	0.333 ± 0.030	-	12.49	325,11
	3-O-Caffeoylquinic acid	0.048 ± 0.009	0.178 ± 0.020	-	13.59	353,09
	Tyrosol glucoside	-	0.026 ± 0.006	-	12.96	442,39
	Resorcinol	0.025 ± 0.010	0.069 ± 0.020	-	13.95	442,39
	Citricolic acid / Ethyl protocatechuic	-	-	0.013 ± 0.001	14.18	181,06
	Proc. sinar B	<LOQ	0.018 ± 0.004	-	14.31	377,24
	3-O-Caffeoylquinic acid	<LOQ	<LOQ	-	14.9	353,09
	4-O-Caffeoylquinic acid	0.116 ± 0.007	0.052 ± 0.005	-	15.35	353,09
	4-V-Catechin	0.530 ± 0.052	0.760 ± 0.081	-	15.50	280,07
	Proc. sinar B	0.070 ± 0.023	0.148 ± 0.025	0.042 ± 0.001	15.87	577,34
	Citricolic acid, derivs / Octyl gallic	-	-	0.077 ± 0.005	16.47	281,24
	3-O-Catechin	0.450 ± 0.064	0.570 ± 0.085	<LOQ	16.59	280,07
	Vanillic acid glucoside	<LOQ	-	-	17.31	329,09
	Hydroxytyrosol acetyl glucoside	0.800 ± 0.053	1.15 ± 0.07	-	17.86	441,29
	Quercetin 3-O-rutinoside	-	-	0.050 ± 0.004	18.21	600,20
	Proc. sinar B	-	-	0.028 ± 0.002	18.93	575,11
	Quercetin	-	-	0.070 ± 0.004	22.76	301,04
TOTAL (sin extracto)	g / 100 g ES	4.361	5.959	0.278		
Extractabilidad (de los compuestos)	g ES / 100g MP [sin]	33.5	33.8	30.3		
TOTAL (sin MP)	mg / 100 g MP	458	769	83.3		

HE: Hueso secado en estufa; HT: Hueso secado en tromel; DDS: Destino desgrasado secado al Sol.

Tabla 8. Potencial antimicrobiano de las MP's destinadas a pellets/piensos (Ensayo Kirby Bauer)

Microorganismo (Bacteria o Fungi)	Temperatura (°C)	Ensayo Kirby Bauer - Diámetro halo de inhibición (mm)			
		HE	HT	Control (+)	Control (-)
Bacterias Gram positivas	37	Características:			
		HE	HT	Control (+)	Control (-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	37	12-16	11-12	18-25	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	37	15-26	15-15	22-25	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	37	16-21	12-12	20-25	-
Bacterias Gram negativas	37	Características:			
		HE	HT	Control (+)	Control (-)
<i>Escherichia coli</i>	37	18-25	18-18	21-22	-
Fungos	37	Características:			
		HE	HT	Control (+)	Control (-)
<i>Candida albicans</i>	37	15-26	16-16	19-21	-

Por lo tanto, la mayor eficiencia de obtención junto con el mayor potencial bioactivo (capacidad antioxidante y concentración fenólica), corroboraron la **selección del Hueso secado en Tromel (HT) como la mejor materia prima con la que elaborar los pellets y piensos para los estudios en animales**. Además, debe tenerse en cuenta que el proceso de secado en tromel no fue optimizado, por lo

que podría conseguirse una mayor eficiencia y conservación del potencial bioactivo del hueso realizando un diseño experimental en un tromel de secado destinado a esta finalidad. No obstante, al disponer de suficiente cantidad de hueso secado en estufa (HE), se decidió emplearlo también para la producción de pellets y así poder comparar ambos productos granulados.

II. Elaboración y Caracterización de Pellets y Piensos

Con las harinas de hueso secado en estufa (HE) y en tromel (HT) se obtuvieron en MACOB **productos granulados (pellets) para rumiantes**,

denominados respectivamente PHE y PHT. Ambos pellets presentaron características físicas (dureza y consistencia) y visuales adecuadas para su futura comercialización y manipulación en granja (Figura 7).

Al estudiar el **potencial antimicrobiano** de los extractos mediante el método "Kirby Bauer" (Tabla 8), se comprobó que a una concentración de 100 mg/mL, tanto HE como HT tuvieron efectos inhibidores frente a las cepas bacterianas ensayadas, sin diferencias significativas entre ellos, y siendo el potencial antimicrobiano unas 100 veces inferior al del antibiótico Cloranfenicol (control +). A continuación, se estudió más a fondo el potencial antimicrobiano, determinando las **concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)** frente

a las cepas en las que se observó mayor efecto inhibitor, empleando el ensayo de dilución en caldo con inóculo de 104ufc/mL en presencia de diferentes concentraciones de los extractos e incubación durante 24h a la Tª de crecimiento. Los resultados no mostraron diferencias entre HE y HT, observando que presentaron **efectividad frente al crecimiento de S. aureus a partir de 2 mg/mL** y que inhibieron el crecimiento de **S. epidermidis, B. cereus y L. monocytogenes a partir de 10 mg/mL**.



Figura 7. Pellets de hueso de aguacate secado en estufa (PHE) y en tromel (PHT).

A continuación se evaluó el **perfil nutricional** de PHE y PHT en MACOB mediante un analizador de piensos basado en el **análisis NIR**, que utiliza tecnología punta de infrarrojo cercano para estimar los principales parámetros de interés en piensos (humedad, proteína, grasa, cenizas, fibra y almidón). Además de servir como un control de calidad de los pellets, esta evaluación permitió comparar la composición de los pellets AGUACAVALUE (PHE y PHT) otros ingredientes empleados por MACOB para la elaboración de sus piensos y con los propios piensos (**Tabla 9**). Se observó que PHE y PHT obtuvieron **valores muy parecidos entre sí**,

presentando: un contenido en proteína similar al de ingredientes como el maíz o la alfalfa, pero inferior al de la soja; niveles de grasa del rango de la avena e intermedio respecto al resto de ingredientes; contenido en fibra similar a la mayoría de ingredientes, pero inferior al del pellet de alfalfa; aporte de hidratos de carbono del rango del maíz y superior al de la soja o la alfalfa; y niveles de minerales intermedios. Por lo cual, en general, PHE y PHT son **ingredientes de interés para formular mezclas de piensos** en las que se compensen los nutrientes de acuerdo a los requerimientos de cada etapa de crecimiento y de cada grupo animal.

Tabla 9. Análisis nutricional por NIR de los pellets, ingredientes y piensos de MACOB.

MUESTRAS	Composición Nutricional (% w/w, NIR)						
	Humedad	Proteína bruta	Grasa bruta	Fibra bruta	Minerales C	Cenizas	
Piensos AGUACAVALUE							
Pellet de hueso secado en estufa	PHE	16,0%	3,5%	6,8%	52,4%	4,7%	12,2%
Pellet de hueso secado en tromel	PHT	16,2%	4,0%	6,7%	51,8%	7,0%	12,3%
Ingredientes de Piensos (Maíz)							
Hojas de Soja	HSo	36,5%	39,8%	5,0%	28,0%	4,8%	6,7%
Avena	Ave	8,0%	4,0%	11,9%	63,8%	1,8%	8,6%
Soja en harina Alto Proteico 48%	SojAP	46,0%					7,9%
Soja en harina Normal	Soja	40,0%	1,7%	5,6%	36,1%	4,0%	7,6%
Glucen Malt	GlucM	10,0%	2,3%	7,8%	58,7%	6,5%	8,4%
Pellet de Alfalfa deshidratada (granulada)	Alf a	10,0%	1,8%	30,5%	27,7%	9,8%	13,7%
Piensos (Maíz)							
Mezcla Cebosa P01PSTZ 8	CaP8	11,0%	4,3%	10,0%	51,4%	1,9%	10,4%
Mezcla Cebosa AUROSA BARROSO	CaA8	10,0%	4,3%	9,0%	51,0%	4,9%	10,4%
Granulado Cebosa Z3-S	CaZ3-S	11,0%	4,7%	11,5%	51,0%	1,9%	13,0%
Granulado Cebosa O-14	CaO-14	11,0%	2,7%	9,0%	53,0%	1,7%	13,6%
Pienso Cerdos P01DUMY Dacromenta	CaPCr	10,7%	4,5%	4,4%	52,5%	4,3%	10,8%
Pienso Cerdos P01DUMY Engorde	CaPEn	11,9%	5,1%	4,9%	53,1%	1,0%	10,7%

Además del perfil nutricional, a raíz de los siguientes estudios que se realizaron de ingesta voluntaria y fermentación ruminal in sacco (descritos en el siguiente apartado de "Estudios en animales"), se fueron elaborando en MACOB otros pellets y piensos para rumiantes y monogástricos, realizando cambios en la formulación hasta llegar a los piensos finales destinados a ser empleados en los estudios in vivo. Entre ellos, para alimentación de rumiantes, se decidió probar a añadir un 0,1% de aromatizante de fresa al PHT por si se conseguía mejorar la palatabilidad y aceptabilidad de los pellets de hueso de aguacate. También se preparó el pienso base para rumiantes en lactación (CaO14) con un 20% de inclusión del pellet

de hueso de aguacate. Respecto a los piensos para monogástricos, se partió del pienso base para cerdos en crecimiento (CePCr) y se suplementó con un 10% o un 20% de la harina de hueso de aguacate secado en tromel. Por lo tanto, los pellets y piensos que han sido analizados durante el proyecto han sido:

- Pellet de hueso secado en estufa (**PHE**)
- Pellet de hueso secado en tromel (**PHT**)
- Pellet de hueso secado en tromel + aromatizante de fresa (0,1%) (**PHT+f**)
- Pienso pelletizado base para rumiantes en lactación - CaO14) (**BR**)
- Pienso pelletizado base para rumiantes en lactación incorporando un 20% de pellet de hueso secado en Tromel (**BR_PHT20**)

- Pienso base para cerdos (monogástricos) en crecimiento - CePCr (BM)
- Pienso base para cerdos (monogástricos) en crecimiento incorporando un 10% de hueso secado en Tromel (BM_HT10)
- Pienso base para cerdos (monogástricos) en crecimiento incorporando un 20% de hueso secado en Tromel (BM_HT20).

En todos estos pellets y piensos se evaluó su composición fenólica y su bioactividad (potencial antioxidante y antimicrobiano) para caracterizarlos y comprobar si el proceso de pelletizado no afectaba mucho a las propiedades bioactivas observadas en las MPs de partida.

En primer lugar se evaluó el **contenido fenólico total (PT)** y **capacidad antioxidante total (TEAC)**, por los métodos Folin-Ciocalteu y ABTS, respectivamente. Los resultados de

los pellets y piensos destinados a rumiantes y monogástricos (**Figura 8**) mostraron tendencias similares entre las muestras para ambas determinaciones, destacando que:

- PHT presentó mayor PT y TEAC que PHE.
- No hubo diferencias significativas entre PHT y PHT+f, por lo que **la adición del aromatizante de fresa no afectó al potencial bioactivo de PHT**.
- BR_PHT20 presentó mayor PT y TEAC que BR, por lo que **la incorporación de PHT al 20% en el pienso base para rumiantes incrementa significativamente su contenido fenólico y capacidad antioxidante**.
- BM_HT20 presentó mayor PT y TEAC que BM_HT10, y éste que BM, por lo que **la incorporación de HT al 10 y al 20% en el pienso base para monogástricos va incrementando significativamente su contenido fenólico y potencial antioxidante**.

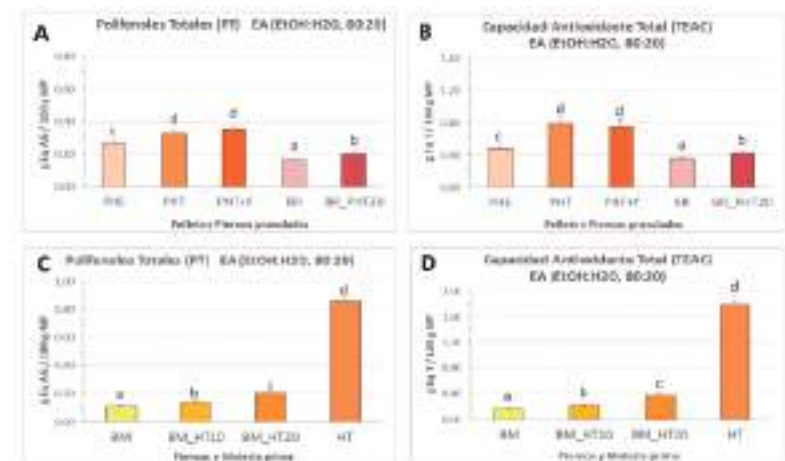


Figura 8. Potencial bioactivo de los pellets y piensos para rumiantes y monogástrico. A) Contenido en Polifenoles Totales (PT) de los pellets y piensos granulados destinados a rumiantes. B) Capacidad Antioxidante Total (TEAC) de los pellets y piensos granulados destinados a rumiantes. C) Contenido en Polifenoles Totales (PT) de los piensos para monogástricos. D) Capacidad Antioxidante Total (TEAC) de los piensos para monogástricos. Los ensayos se realizaron tras extracción de las muestras con EtOH:H₂O (80:20, v/v). PHE: Pellet de hueso de aguacate secado en estufa; PHT: Pellet de hueso de aguacate secado en tromel; PHT+f: PHT con 0,1% de aromatizante de fresa; BR: pienso pelletizado base para rumiantes en lactación - CeD14; BR_PHT20: BR con un 20% de PHT; BM: pienso base para cerdos en crecimiento - CePCr; BM_HT10: BM con 10% de HT; BM_HT20: BM con 20% de HT; HT: Harina de hueso de aguacate secado en tromel. En cada gráfica, las letras minúsculas indican diferencias significativas entre las muestras (ANOVAs, p<0,05).

También se estudió el potencial antimicrobiano de los pellets y piensos frente a las bacterias Gram (+) en las que se testaron las materias primas, evaluando inicialmente el efecto inhibitor del crecimiento de *E. faecalis* y *S. epidermidis* por el método "Kirby Bauer". Los resultados (**Tabla 10**) mostraron que **no hubo mejoras significativas en el potencial antimicrobiano de los pellets y piensos por una incorporación de hasta un 20% de hueso de aguacate**, por lo que frente al resto de microorganismos sólo se analizó la actividad inhibitoria

de PHT, determinando además sus **concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)** y comparándolas con las encontradas para la harina empleada en su elaboración (HT). En estos ensayos se probaron diferentes concentraciones de PHT y HT (entre 0,5-25 mg/mL), observando menor efectividad antimicrobiana de PHT frente a *S. aureus* (CMI = 10 mg/mL) y *S. epidermidis* (CMI = 25 mg/mL), siendo los CMI de HT de 2 mg/mL y 10 mg/mL, respectivamente. En cambio, los resultados de PHT y HT fueron similares frente a *B. cereus*

Tabla 10. Potencial antimicrobiano de los pellets y piensos (Ensayo Kirby Bauer)

Microorganismo (Bacteria Gram (+))	TE (°C)	Ensayo Kirby Bauer - Diámetro halo de inhibición (mm)									Cloranfenicol (1 mg/ml)	Gislatone (10 mg/ml)
		PHE	PHT	PHT+f	BR	BR_PHT20	BM	BM_HT10	BM_HT20	BM_HT10		
<i>Enterococcus faecalis</i>	36	10-11	8-9	7-9	8-10	9-10	9-9	9-9	9-10	10-20	-	
<i>Staphylococcus aureus</i>	37		13-15							22-25	-	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	37	11-12	11-13	10-12	-	-	-	-	-	20-24	-	
<i>Bacillus cereus</i>	30		15-15							23-22	-	
<i>Listeria monocytogenes</i>	43		11-12							19-21	-	

PHE: Pellet de hueso de aguacate secado en estufa; PHT: Pellet de hueso de aguacate secado en tromel; PHT+f: PHT con 0,1% de aromatizante de fresa; BR: pienso pelletizado base para rumiantes en lactación - CeD14; BR_PHT20: BR con un 20% de PHT; BM: pienso base para cerdos en crecimiento - CePCr; BM_HT10: BM con 10% de HT; BM_HT20: BM con 20% de HT.

y *L. monocytogenes* (CMI = 10 mg/mL), aunque podría ajustarse más los valores de CMI obtenidos evaluando diluciones de los extractos entre dicha concentración y la anterior en la que ya se observó crecimiento bacteriano.

La caracterización de los pellets y piensos se completó evaluando el perfil fenólico por HPLC-ESI-TOF-MS. En los destinados a rumiantes (Tabla 11), no se encontraron grandes diferencias cualitativas entre PHE y PHT ya que ambos proceden de hueso

de aguacate, pero sí se observó una **mayor cantidad** de la mayoría de los compuestos detectados en PHT que en PHE. Por otro lado, los resultados muestran que la incorporación de aromatizante de fresa en PHT apenas modifica su perfil fenólico. En cambio, **al incorporar un 20% de PHT en el pienso granulado base para rumiantes**, se consiguió **incrementar la cantidad total de compuestos fenólicos identificados** en más de **2,5 veces**, pasando de 72 mg/100 g (BR) a 184 mg/100 g (BR+PHT20).

Tabla 11. Perfil fenólico pomeorizado de los Pellets y Piensos granulados destinados a Rumiantes.

PARAMETRO	UNIDAD	PHE	PHT	PHT+1	BR	BR+PHT20	FF	Med. mg/g
Hydroxybenzoinol		0.120 ± 0.000	0.200 ± 0.000	0.200 ± 0.000	---	0.000 ± 0.000	11.01	393.13
Phenol		0.110 ± 0.000	0.200 ± 0.000	0.100 ± 0.000	---	0.000 ± 0.000	11.01	493.27
2-Hydroxybenzoic acid		0.110 ± 0.000	0.200 ± 0.000	0.200 ± 0.000	4.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	11.01	370.00
3-Hydroxybenzoic acid		0.170 ± 0.000	0.200 ± 0.000	0.200 ± 0.000	---	0.000 ± 0.000	11.01	280.00
Phenol acetyl		---	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	0.040 ± 0.000	14.30	333.34
Hydroxybenzoinol glucoside		---	---	0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	14.31	380.27
2-Hydroxybenzoic acid		0.100 ± 0.000	0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	14.31	393.00
2-Hydroxybenzoic acid		---	---	---	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	11.01	363.34
3-Hydroxybenzoic acid		0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
3-Hydroxybenzoic acid		0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol 1,6-β-D-glucopyranoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	463.34
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.200 ± 0.000	0.200 ± 0.000	---	---	11.01	443.34
Phenol		0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol 1,6-β-D-glucopyranoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Hydroxybenzoinol glucoside		0.100 ± 0.000	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	---	---	11.01	393.00
Phenol		0.100 ± 0.000</						

Estudios en Animales con los Pellets y Piensos AGUACAVALUE.

Una vez conocida la composición nutricional y potencial bioactivo los pellets/piensos que incorporan hueso de aguacate en su composición, se determinó que el grupo animal en cuya ración tendrían más interés incluirlos era en **rumiantes**, principalmente durante la **etapa de engorde** y la **etapa de producción de leche**. Por ello, se decidió llevar a cabo estudios *in vivo* en **rumiantes pequeños**, al permitir aumentar el número de "muestra" en el estudio. Concretamente, se emplearon **cabras murciano-granadinas**, raza de largo recorrido en selección genética para la mejora de **aptitud lechera** y que es habitualmente empleada como modelo de vacuno de leche, y **ovino de raza segureña**, de reconocida **aptitud cárnica** y que puede considerarse como modelo de vacuno de engorde.



Figura 9. Fermentación ruminal *in vitro*.

Antes de pasar a los estudios de digestibilidad y a evaluar posibles efectos funcionales en los animales, para definir el nivel de inclusión del pellet de aguacate en el pienso, se determinó la fermentabilidad ruminal *in vitro* e *in sacco* de PHE y PHT, y se comprobó su palatabilidad e ingesta voluntaria en las especies mencionadas.

La **fermentabilidad ruminal** se simuló en frascos Wheaton (Figura 9). Los resultados fueron muy similares a los obtenidos con las materias primas HE y HT, sin observarse efectos por la inclusión de PHE o PHT en el pienso base BR hasta un 50% (máximo nivel probado de acuerdo a los resultados del estudio nutricional) en ninguno de los parámetros fermentativos evaluados, lo que **sugiere un óptimo comportamiento de PHT o PHE en el rumen al sustituir hasta al menos un 50% de un pienso comercial**.

Con cabras canuladas (n=5) se evaluó la **degradabilidad ruminal *in sacco*** de PHE y PHT, comparándola con la del trigo y el maíz (Tabla 13). Los resultados fueron prácticamente **equivalentes entre PHE y PHT**, con casi un 60% de fracción "a" (rápidamente degradable) y alrededor de un 40% de fracción "b" (potencialmente degradable), valores que también fueron equiparables a los del trigo. La **degradabilidad efectiva**

estuvo en torno al **80%**, similar a la del maíz pero inferior a la del trigo (86%). No obstante, **la velocidad de degradación de la fracción "b" de PHE y PHT resultó ser inferior** a la de los cereales de referencia evaluados, lo que supone una ventaja en raciones altamente forrajeras que requieren cierta ralentización en el aporte

de energía para ser empleada por microorganismos que degradan fibra más lentamente, sincronizando así la liberación de energía para la síntesis de proteína microbiana. La **degradación potencial** de PHE y PHT fue muy alta (**próxima al 100%**), mientras que la de los cereales fue ligeramente inferior (aprox. 95%).

Tabla 13. Características de la degradabilidad ruminal *in sacco* de los pellets de hueso de aguacate socado en estufa (PHE) o en tromel (PHT) y de otras materias primas de piensos.

Parámetros	PHE	PHT	Trigo	Maíz
a, %	57,3	58,7	56,2	82,7
b, %	42,9	40,2	38,3	12,5
c, h ⁻¹	0,037	0,038	0,240	0,160
DE, %	80,2	80,4	86,0	79,6
DP, %	99,8	98,8	94,5	95,2

a: fracción rápidamente degradable; b: fracción potencialmente degradable; c: velocidad de degradación de la fracción b; DE: degradabilidad efectiva; DP: degradabilidad potencial.

En paralelo a los ensayos *in vitro* e *in sacco*, se llevaron a cabo **pruebas de ingesta voluntaria** durante una semana en caprino y ovino (12 animales por grupo experimental) para comprobar el nivel de aceptación de PHE y PHT para estas especies. **No se detectaron diferencias significativas en la ingesta voluntaria entre ambos tipos de pellets ni entre especies**, a pesar de que: a) numéricamente la ingesta para caprino fuese de 93,2 g/d frente a los 169 g/d de ovino, valores muy inferiores a las ingestas habituales de alimento concentrado

(alrededor de 500 g/d) para animales en mantenimiento; b) la ingesta, para ambas especies, fuera de 169 g/d para PHE frente a los 93,2 g/d de PHT. También se analizó la **ingesta de forraje** (heno de avena) suministrado junto con el pienso granulado para completar la ración de estos rumiantes, observando que **tampoco se vio afectada por el tipo de secado del hueso**, independientemente de que el ovino manifestase, como es habitual, una capacidad de ingesta de heno (317 g/d) significativamente superior a la de caprino (126 g/d).

Los resultados obtenidos en el estudio de ingesta voluntaria de PHE y PHT no fueron sorprendentes, ya que se esperaba cierto rechazo de los animales al cambio de dieta, especialmente en caprino que, por presentar comportamientos neofóbicos, suelen rechazar ingredientes nuevos en la formulación del pienso. No obstante, para mejorar la palatabilidad de PHT, se planteó la opción añadir aromatizante de frutos rojos en un 0,1% (empleado habitualmente para esta finalidad), obteniéndose el pellet PHT+f. Sin embargo, se siguió observando una ingesta baja (similar a la de PHT) los primeros días de exposición al pellet reformulado. Por ello, en vez de incluir en la dieta experimental los pellets de hueso de aguacate como un ingrediente más en una mezcla heterogénea, se procedió directamente a la fabricación de pienso granulado (BR_PHT20) que contenía hueso de aguacate secado en tromel en un 20% de un concentrado comercial, también en pellets, formulado para rumiantes en lactación (BR) y que fue empleado como dieta control. Cabe indicar que se decidió continuar con PHT como ingrediente a añadir al pienso en lugar de PHE (que pareció tener mejor aceptabilidad sensorial) porque PHT estaba mostrando mejores resultados

a nivel de potencial bioactivo y era el pellet que tecnológicamente se asemejaba más al que podría obtenerse a escala industrial.

Una vez se dispuso de los piensos BR (control) y BR_PHT20 (tratamiento experimental), se pasó el **estudio de ingesta voluntaria** durante **una semana** en animales estabulados en la Granja de Caprino Los Llanos de Sillar S.L (Sillar Baja, Granada) (50 cabras lecheras divididas en 2 grupos: control y experimental) (**Figura 10**), y también con los animales mantenidos en la granja experimental de la EEZ-CSIC (10 cabras y 14 ovejas, dividiendo los animales en 2 grupos: control y experimental).

Los **animales estabulados** en la granja notaron el cambio en la palatabilidad del pienso BR al incorporar el hueso de aguacate, observando una **menor ingesta** en el grupo que consumía **BR_PHT20**, especialmente los primeros días. Aunque posiblemente un mayor tiempo de adaptación al nuevo pienso hubiera estabilizado la ingesta y solventado el problema, la granja no podía permitirse una disminución (irreversible) de la producción de leche y la prueba fue suspendida.



Figura 10. Estudio de ingesta en la Granja de Caprino Los Llanos de Sillar S.L (Granada)

En cambio, en las pruebas de ingesta en **caprino y ovino** en la **granja experimental de la EEZ-CSIC, la aceptabilidad del pienso BR_PHT20 fue mejorando** a lo largo de la semana de adaptación, así que se continuó con estos animales para realizar el **estudio de digestibilidad in vivo y de comprobación de posibles efectos sobre la salud animal a largo plazo**, corroborando que el consumo de BR_PHT20 fue aumentando gradualmente hasta ingestas superiores a 500 g/d, consumiendo la totalidad del concentrado experimental ofrecido para cubrir los requerimientos metabólicos en mantenimiento, e incluso presentaron cierto rechazo a volver a su dieta habitual al finalizar el estudio.

los animales de cada especie en 2 grupos que consumían el pienso BR (control) o BR_PHT20 (experimental). La composición nutricional de estos piensos se muestra en la **Tabla 14**.



El estudio se realizó finalmente con 10 cabras y 14 ovejas, dividiendo

Tabla 14. Composición Nutricional de los piensos del estudio de 1 mes en caprino y ovino

Composición Nutricional	Unidades	BR	BR_PHT20
Materia seca	g/100g MS	91,3	91,4
Materia orgánica	g/100 g MS	91,7	91,5
Minerales totales	g/100 g MS	8,28	8,47
Proteína	g/100 g MS	15,8	15,3
Grasa	g/100 g MS	3,54	3,50
Fibra neutro detergente = FND	g/100 g MS	41,5	41,3
Fibra ácido detergente = FAD	g/100 g MS	24,4	24,2
Lignina (FND y FAD)	g/100 g MS	13,20	13,80
NC (almidón) *	g/100 g MS	29,7	30,5
Energía	Kcal/100 g MS	405	402
Energía	MJ/kg MS	15,3	15,8

Tras la adaptación al pienso correspondiente durante 3 semanas, los animales se mantuvieron 4 días en jaulas metabólicas (Figura 11), realizando una recogida completa de heces y orina individual de cada

animal, así como de los rehusos de la dieta, para el análisis de nutrientes y el cálculo de la digestibilidad total de la dieta y el balance en la ganancia de peso en caprino y ovino.



Figura 11. Animales en jaula metabólica para recogida de muestras.

Al final del estudio también se recogieron muestras de:

- Contenido ruminal (mediante sonda esofágica): para el estudio del perfil de **fermentación ruminal**.

- Sangre: para evaluar los posibles **efectos sobre la salud** de los animales de la **incorporación del hueso de aguacate en la dieta** tras realizar un hemograma (hematíes, hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, leucocitos, plaquetas, eosinófilos, basófilos, neutrófilos, linfocitos y monocitos), una bioquímica plasmática (urea, creatinina, AST, ALT, FA, GGT, amilasa, glucosa, bilirrubina, albúmina, globulinas, LDH, colesterol, CPK, Ca, P, K y Na), y determinar la capacidad antioxidante total del plasma (FRAP).

Los resultados de **fermentabilidad ruminal in vivo** en ovino y caprino sugieren que la inclusión de un **20% de hueso de aguacate en el pienso** de una dieta óptima para sistema de producción intensivo en rumiantes **no altera** significativamente la **composición microbiana del rumen ni su actividad**.

Los resultados de las analíticas en sangre tras su análisis estadístico indican que **no hay efecto nocivo sobre la salud y bienestar de los animales para ninguna de las especies**

estudiadas tras el consumo de BR_PHT20 como pienso durante unas 4 semanas. Todos los indicadores que puedan indicar toxicidad o algún daño tisular (hepático, renal, cardíaco, musculo esquelético o pulmonar) estaban dentro de la normalidad o incluso con valores numéricamente inferiores cuando los animales, tanto cabras como ovejas, consumieron el pienso que contenía un 20% de hueso de aguacate. Con la repetición de la analítica al cabo de un mes más consumiendo las dietas experimentales se corroboraron tales diferencias a favor del consumo de BR_PHT20, especialmente en la enzima aspartato aminotransferasa (AST), que puede ser un signo de daño en el hígado o el corazón, cáncer u otras enfermedades. Además, se observó un ligero aumento en la capacidad antioxidante total del plasma en los animales que tomaron el pienso con hueso de aguacate en la dieta, lo cual sugiere una mejora en el equilibrio entre agentes pro- y antioxidantes en el plasma a favor de los segundos (menor estrés oxidativo) por la suplementación de compuestos fenólicos contenidos en el hueso de aguacate.

En el caso de las **ovejas** y después de un mes consumiendo las dietas experimentales, se observó una **ganancia de peso significativamente**

superior (15,7%) en el grupo que consumió la dieta BR_PHT20 (6,78 kg) frente a la que consumió la dieta BR (5,86 kg), lo cual es un resultado de gran interés ya que, como se ha comentado anteriormente, estos animales están reconocidos especialmente por su actitud cárnica y como modelo de vacuno de engorde.

En definitiva, los estudios realizados en caprino y ovino con el **pienso AGUACAVALUE (BR_PHT20)** permiten concluir que tras un breve periodo de adaptación, su **aceptabilidad** por los animales es **adecuada**. Además, el consumo de este pienso parece ser seguro y saludable para el animal, ya que **no afecta al balance energético, no modifica la fermentabilidad ruminal, y**

no provoca cambios significativos en el estado inmunitario ni toxicológico de los animales, mientras que induce ligeras mejoras en el estado "redox" cuyos posibles efectos beneficiosos a corto o largo plazo requieren ser estudiados con mayor profundidad.

Finalmente, destacar el interés del Grupo Operativo en continuar con los estudios in vivo de ingesta y efectos saludables del consumo de pienso con hueso de aguacate en un modelo animal de **monogástricos**, como pueda ser el **cerdo** (actualmente uno de los principales destinatarios de la industria de piensos), probando en diferentes etapas del crecimiento (**lactantes, engorde o cerdas productoras de leche**).

OBJETIVO 2: Desarrollo de Extractos Naturales, Nutraceuticos y Cosméticos

Obtención, Caracterización y Selección de las Materias Primas.

Para obtener extractos vegetales con el máximo potencial bioactivo, es necesario partir de materias primas (MPs) de alta calidad en las que los compuestos con dicho potencial hayan sufrido el menor deterioro posible durante los tratamientos previos a la extracción. Debido a la alta humedad de las matrices vegetales, el secado es

una etapa clave para conservar dicho potencial, ya que ciertos compuestos son termolábiles o pueden sufrir reacciones con otras moléculas de la matriz por las altas temperaturas.

Por ello, en la **primera anualidad** del proyecto, Grupo LA CAÑA y FRUMACO realizaron varios secados en estufa de los subproductos del aguacate (pieles, mezcla pieles+huesos, huesos, y destrío graso) para determinar las

condiciones óptimas que permitan conservar al máximo las propiedades bioactivas de cada posible MP para la obtención de extractos naturales. Tras unas pruebas previas en las estufas, se establecieron los rangos de valores de los factores experimentales que mejor se adaptaban a cada subproducto, abarcando Temperaturas entre 65-95 °C y Cargas de estufa entre 50-80kg (repartidos en 10 bandejas) de acuerdo a diseños experimentales RSM coordinados por CIDAF. A medida que se obtuvieron los subproductos (secados bajo las diferentes condiciones y molidos hasta convertirlos en "harinas" de Ø<5mm) se evaluó: rendimiento de secado, rendimiento de extracción, contenido en polifenoles totales (PT), y capacidad antioxidante total (TEAC); concluyendo que **las MPs de mayor interés para la obtención de extractos naturales eran la piel (PE) y el hueso (HE) secados en ambos casos a 85 °C**

y 80kg de carga de estufa. Aunque las condiciones fueron las mismas para ambos subproductos, los tiempos requeridos para llegar a una humedad <7% que asegurara su estabilidad microbiológica fueron diferentes (unas 12h para la piel y unas 20h para el hueso), comprobando que no era conveniente ni eficiente mezclar ambos subproductos antes del secado.

Una vez seleccionados los subproductos con mejores propiedades bioactivas, en la **segunda anualidad** se secaron y molieron a gran escala, obteniendo unos **90 kg de pieles y de huesos de aguacate secados en estufa bajo condiciones óptimas, molidos y tamizados (Figura 12)**. Estas muestras se denominaron **2PE (piel) y 2HE (hueso)** y su proceso de obtención y control de calidad se ha resumido en la **Tabla 15**.



Figura 12. Procesado de Piel y Hueso de aguacate para obtener MPs para extractos naturales.

Tabla 15. Proceso de obtención y control de calidad (humedad y carga microbiológica) de las MP1 obtenidas a partir de los subproductos del aguacate en la 2ª anualidad.

		SUBPRODUCTO DEL AGUACATE	
		PIEL DE AGUACATE SECADA EN ESTUFA (2PE)	HUESO DE AGUACATE SECADO EN ESTUFA (2HE)
PROCESO DE OBTENCIÓN	Pre-tratamiento (antes de secado)	-	-
	Condiciones de secado	60°C 80 kg/handa 12h/handa	80°C 80 kg/handa 20h/handa
	Tiempo requerido para obtener unos 500 g hasta humedad < 7-10%	1 día	1
	Rendimiento de secado hasta humedad < 7-10%	100 kg/da	90 kg/da
	Parámetro de control (después de secado)	-	Titrulado < 0.1 ml
	Molienda	Ø 0mm	< 0.5
CONTROL DE CALIDAD	Humedad		
	Inicial (%)	75.6	44.1
	Final (%)	8.21	8.71
	Carga microbiana (después de secado)		
	Bacterias Totales log 30 ufc/g	2.47	2.22
	Fermentación log 30 ufc/g	ND	ND
Límite enterococos log 30 ufc/g	ND	ND	
Mohos y levaduras log 30 ufc/g	<1	<1	

MP: materia prima; ND: no detectado

Desarrollo de Extractos Naturales

Partiendo de las dos materias primas (MPs) seleccionadas para el Objetivo 2, obtenidas a partir de subproductos de la producción de guacamole: pieles (2PE) y huesos de aguacate (2HE); en los laboratorios de CIDAF se optimizaron las condiciones de extracción de compuestos fenólicos por la tecnología convencional de

“extracción sólido-líquido” (SLE) (Figura 13), determinando los valores óptimos de los principales factores que pueden afectar el proceso al aplicar diseños experimentales RSM de Box-Behnken (15 condiciones/MP).

Los rangos de los factores optimizados fueron:

- **Disolvente** (% EtOH): 25-75
- **Tª** (°C): 60-80

- **Ciclos de Extracción** (nº): 1-3

Parámetros fijos:

- Ratio Disolvente/muestra = 30 (mL/g)
- Tiempo total de extracción = 3 h
- Agitación: 120 rpm

Como respuesta del diseño experimental se evaluó la concentración en 4 compuestos fenólicos mayoritarios (determinados por HPLC-ESI-TOF-MS), la composición fenólica total (PT), la capacidad antioxidante total (TEAC) y el rendimiento de extracción.

En general, se observó que el % de EtOH del disolvente era el factor que más afectaba a la variabilidad de los extractos obtenidos, obteniéndose mayor rendimiento de extracción (g ES/ 100 g MS) cuando se emplearon %EtOH bajos (25%), pero el extracto seco contenía mayor concentración de compuestos fenólicos pormenorizados al aumentar el %EtOH del disolvente (75%). Por lo tanto, un %EtOH de 50% se consideró adecuado para ambas MPs para obtener altos rendimientos de extracción y, a su vez, más enriquecidos en compuestos fenólicos concretos.

La Tª de extracción tendió a afectar negativamente a la extracción del hueso de aguacate, siendo recomendable emplear una Tª = 60

°C. Para la extracción de la piel, el diseño determinó que una Tª = 80 °C conseguía optimizar con conjunto de las respuestas, aunque a nivel de compuestos pormenorizados se observó que algunos se podían ver afectados por las altas temperaturas.

El nº de ciclos de extracción fue el factor con menor efecto, siendo recomendable 2 o 3 ciclos para conseguir extraer el máximo de compuestos, aunque este factor puede compensarse y optimizarse a nivel industrial alargando los tiempos de extracción o el ratio disolvente/muestra.



Figura 13. Extracción sólido-líquido convencional (SLE) a escala laboratorio.

Por lo tanto, tras analizar los resultados, las condiciones óptimas de extracción seleccionadas para cada MP con el fin de obtener extractos de alto potencial bioactivo fueron (Tabla 16):

Tabla 16. Condiciones optimizadas de extracción sólido-líquido (SLE) de piel (2PE) y hueso (2HE) de aguacate.

Factores de extracción	2PE	2HE
% EtOH (%)	50	50
Tª (°C)	80	60
Ciclos de extracción (Nº)	2-3	2-3

A continuación, para caracterizar los extractos y comprobar su interés en diferentes aplicaciones industriales, en CIDAF se obtuvieron los extractos SLE óptimos de 2PE y 2HE (escala laboratorio) y se evaluó su **perfil en compuestos fenólicos** por HPLC-ESI-TOF-MS. Se observó que ambos extractos presentaron un perfil fenólico muy interesante y distinto entre sí, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, identificando gran cantidad de compuestos con **potencial bioactivo**, lo cual fue corroborado en los ensayos de capacidad antioxidante total, actividad antimicrobiana y potencial anti-vejecimiento de la piel que se llevaron a cabo durante el proyecto.

Cabe indicar que también se obtuvieron extractos optimizados a escala laboratorio aplicando la tecnología de extracción asistida por microondas (MAE), en los cuales también se rea-

lizó una caracterización de la composición fenólica y potencial bioactivo. Al comparar los resultados de los extractos MAE y SLE de piel y hueso de aguacate, se observó que los extractos MAE presentaron un perfil fenólico más complejo, con numerosos taninos condensados (dímeros y trímeros de procianidinas) que no fueron identificados en los extractos SLE. Sin embargo, a pesar de que el potencial bioactivo de los extractos MAE fue algo superior, no se encontraron grandes diferencias entre ambos tipos de extracción, y finalmente se decidió continuar el proyecto únicamente con los extractos SLE, decisión basada principalmente en la mayor rentabilidad del éste proceso de extracción a escala industrial.

El siguiente paso del proyecto fue la obtención en NATAC de los extractos SLE a escala pre-industrial de

piel (**SLEpl 2PE**) y hueso de aguacate (**SLEpl 2HE**).

En primer lugar se realizaron pruebas de escalado pre-industrial con las MPs proporcionadas. Algunos de los parámetros optimizados a escala laboratorio fueron ligeramente modificados durante el proceso de escalado. Es una práctica habitual, ya que en el proceso de escalado surgen algunos problemas que no se presentan a escala de laboratorio, principalmente asociados con procesos de filtración, agitación y para optimizar los recursos de la instalación (rendimientos y costes). Los principales retos detectados durante el proceso de escalado fueron en la filtración y el secado. Por ello, las condiciones inicialmente ensayadas fueron modificadas para minimizar dichos procesos tecnológicos y mejorar los rendimientos del proceso. Finalmente, las condiciones que mejores resultados mostraron fueron las siguientes:

EXTRACTO SLE A ESCALA PRE-INDUSTRIAL DE PIEL DE AGUACATE (SLEpl 2PE)

- **Maceración convencional:** Tras 3 pruebas, se seleccionaron las mejores condiciones:
 - Extractante = mezcla hidroalcohólica con 60% EtOH
 - Tª = 70°C
 - Nº de Ciclos de extracción = 3

- Ratio disolvente/muestra = 30:1 (3 extracciones con 20 kg de MP y 200 L de extractante).

- Tiempo total de incubación = 6h (2 h / ciclo)

- **Decantación:** se descarga del extractor y se realiza un filtrado preliminar previo al filtro de placas.
- **Microfiltración:** se utilizó un filtro de placas equipado con placas beco S-100 y con placas K-1. Debido a los problemas de filtración se optó por placas K1. Este paso se realiza con el fin de esterilizarlos y mejorar su estabilidad y seguridad microbiológica.
- **Concentración:** Se realiza la concentración del extracto líquido para disminuir el volumen y recuperar la mayoría del alcohol presente, antes de cargar el producto en el hidrocero para su secado.
- **Secado:** se empleó un secador rotativo bicónico a vacío para obtener los extractos secos finales. Las condiciones finales fueron secado a vacío con una temperatura de 60 °C. Se añadió un 4 % de siperat 22 (dióxido de silicio), para secar el producto.

EXTRACTO SLE A ESCALA PRE-INDUSTRIAL DE HUESO DE AGUACATE (SLEpl 2HE)

- **Maceración convencional:** Se realizaron 3 pruebas, los mejores resultados se muestran a continuación:
 - Extractante = mezcla hidroalcohólica con 70% EtOH

ESPECIFICACIONES DE PRODUCTO

Producto: PIEL DE AGUACATE, EXTRACTO SECO
Código: N20117402
Nombre botánico: Persea americana
Parte usada: Fruto (Piel)
Descripción: Polvo marrón de olor y sabor característico
Observaciones: Ratio 4,5:1

ANÁLISIS	ESPECIFICACIÓN	MÉTODOS
Humedad (%)	≤ 5,0	Eu. Pharm. v.v. (2.8.17)
Densidad aparente (g/ml)	≥ 0,3	Eu. Pharm. v.v. (2.9.34)
Disolventes residuales		
Etanol (ppm)	≤ 5000	Eu. Pharm. v.v. (2.4.24)
Microbiología		
Aerobios Totales (ufl/g)	≤ 10000	Eu. Pharm. v.v. (2.6.12)
Mohos y levaduras (ufl/g)	≤ 100	Eu. Pharm. v.v. (2.6.12)
Bacterias biloboleras gram negativas (ufl/g)	≤ 100	Eu. Pharm. v.v. (2.6.31)
Escherichia coli (1 g)	Ausencia	Eu. Pharm. v.v. (2.6.31)
Salmonella sp. (25 g)	Ausencia	Eu. Pharm. v.v. (2.6.31)
S. aureus (ufl/g)	Ausencia	Eu. Pharm. v.v. (2.6.31)
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) *		
Benzo(a)pireno (ppb)	≤ 10	GC - MS
PAH (Suma de benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno y benzo(b)fluoranteno y criseno) (ppb)	≤ 50	GC-MS
Metales pesados*		
Plomo (ppm)	≤ 3,0	Eu. Pharm. v.v. (2.4.27)
Artenico (ppm)	≤ 2,0	Eu. Pharm. v.v. (2.4.27)
Mercurio (ppm)	≤ 0,1	Eu. Pharm. v.v. (2.4.27)
Cadmio (ppm)	≤ 1,0	Eu. Pharm. v.v. (2.4.27)
Pesticidas*	Acorde al Reglamento (CE) Nº 396/2005 y modificaciones	SANCO/10684/2009

Conservación: Conservar en recipientes cerrados y protegido de la luz
País de origen: España
Observaciones: * Estos parámetros se determinan en uno de cada tres lotes y como mínimo una vez al año de acuerdo al plan de muestreo establecido en nuestro sistema de HACCP.

Especificación versión: 000
 Este documento procede de impresión informática y, por lo tanto, carece de firma manuscrita.

Figura 15. Ficha de especificaciones del extracto SLE pre-industrial de piel de aguacate (SLEpi 3PE).

ESPECIFICACIONES DE PRODUCTO

Producto: HUESO DE AGUACATE, EXTRACTO SECO
Código: N20117401
Nombre botánico: Persea americana
Parte usada: Fruto (Hueso)
Descripción: Polvo marrón de olor y sabor característico
Observaciones: Ratio 7:1

ANÁLISIS	ESPECIFICACIÓN	MÉTODOS
Humedad (%)	≤ 5,0	Eu. Pharm. v.v. (2.8.17)
Densidad aparente (g/ml)	≥ 0,3	Eu. Pharm. v.v. (2.9.34)
Disolventes residuales		
Etanol (ppm)	≤ 5000	Eu. Pharm. v.v. (2.4.24)
Microbiología		
Aerobios Totales (ufl/g)	≤ 10000	Eu. Pharm. v.v. (2.6.12)
Mohos y levaduras (ufl/g)	≤ 100	Eu. Pharm. v.v. (2.6.12)
Bacterias biloboleras gram negativas (ufl/g)	≤ 100	Eu. Pharm. v.v. (2.6.31)
Escherichia coli (1 g)	Ausencia	Eu. Pharm. v.v. (2.6.31)
Salmonella sp. (25 g)	Ausencia	Eu. Pharm. v.v. (2.6.31)
S. aureus (ufl/g)	Ausencia	Eu. Pharm. v.v. (2.6.31)
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) *		
Benzo(a)pireno (ppb)	≤ 10	GC - MS
PAH (Suma de benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno y benzo(b)fluoranteno y criseno) (ppb)	≤ 50	GC-MS
Metales pesados*		
Plomo (ppm)	≤ 3,0	Eu. Pharm. v.v. (2.4.27)
Artenico (ppm)	≤ 2,0	Eu. Pharm. v.v. (2.4.27)
Mercurio (ppm)	≤ 0,1	Eu. Pharm. v.v. (2.4.27)
Cadmio (ppm)	≤ 1,0	Eu. Pharm. v.v. (2.4.27)
Pesticidas*	Acorde al Reglamento (CE) Nº 396/2005 y modificaciones	SANCO/10684/2009

Conservación: Conservar en recipientes cerrados y protegido de la luz
País de origen: España
Observaciones: * Estos parámetros se determinan en uno de cada tres lotes y como mínimo una vez al año de acuerdo al plan de muestreo establecido en nuestro sistema de HACCP.

Especificación versión: 000
 Este documento procede de impresión informática y, por lo tanto, carece de firma manuscrita.

Figura 16. Ficha de especificaciones del extracto SLE pre-industrial de hueso de aguacate (SLEpi 2HE).

En la **Tabla 17** se ha recogido el **perfil y concentración de compuestos fenólicos** identificados en los extractos finales del proyecto (SLEpl 2PE y SLEpl 2HE). Como se observa también en la **Figura 17**, se identificaron varios compuestos en ambos extractos, aunque al

comparar entre ellos presentaron diferencias tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, presentando **SLEpl 2PE un perfil más complejo y casi doblando la cantidad de compuestos fenólicos identificados en SLEpl 2HE.**

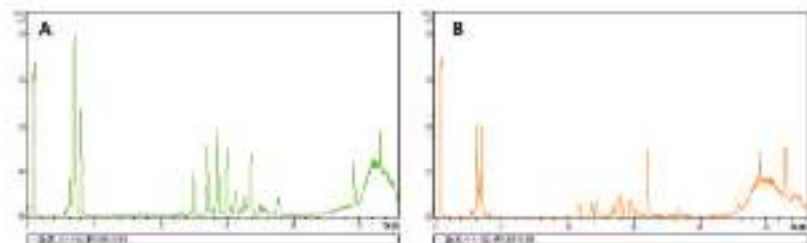


Figura 17. Cromatogramas de pico base (HPLC-ESI-TOF-MS) de los extractos de los extractos SLE de piel y hueso de aguacate a escala pre-industrial. A) SLEpl 2PE (piel); B) SLEpl 2HE (hueso). Pínticosos a 0,5 mg/mL.

En cuanto al potencial antioxidante, se emplearon tres ensayos de **capacidad antioxidante total** para estimar diferentes actividades antioxidantes (ABTS y FRAP: capacidad estabilizadora de radicales libres por transferencia de electrones o capacidad reductora; ORAC: capacidad estabilizadora de radicales libres por transferencia de átomos de hidrógeno). También se evaluó los compuestos fenólicos totales por el método de Folin-Ciocalteu. Los resultados (**Tabla 17**) muestran que el extracto SLEpl 2PE tiene mayor potencial antioxidante que el extracto SLEpl 2HE, habiendo obtenido unos valores de capacidad antioxidante total 15-20% superiores y habiéndose identificado casi

el doble de concentración de compuestos fenólicos totales con potencial bioactivo. Por lo tanto, **el extracto de piel de aguacate es el de mayor interés para las aplicaciones nutraceuticas y cosméticas en las que se requieran extractos naturales con alta capacidad antioxidante.** No obstante, la capacidad antioxidante total del extracto de hueso de aguacate también es elevada y del mismo rango o incluso superior al de otros extractos naturales presentes en el mercado, cuyos valores de ORAC suelen oscilar entre 5 – 25 g eq T /100 g ES (expresado también habitualmente como 20.000 – 100.000 $\mu\text{mol eq T} / 100 \text{ g ES}$ o unidades de ORAC).

Tabla 18. Potencial antimicrobiano de los extractos SLE de piel y hueso de aguacate a escala pre-industrial.

Microorganismo (Bacteria - OIML)	T _{inc} (°C)	Ensayo Kirby-Bauer - Diámetro de inhibición (mm)			
		U.L. pre industrial (pl) 0,05 mg extracto (0,05 mg/mL) * 0,3 $\mu\text{L} / \text{por} \text{L} \mu\text{L}$	SLEpl 2PE	SLEpl 2HE	Control (+)
<i>Enterococcus faecalis</i>	37	3-11	3-11	25-25	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	37	13-16	25-26	22-26	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	37	20-21	25-26	20-24	-
<i>Bacillus cereus</i>	36	18-21	25-26	21-22	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	37	18-17	25-27	25-21	-

El potencial antimicrobiano se evaluó inicialmente por el método Kirby Bauer (**Tabla 18**) observando que **ambos extractos SLE pre-industriales presentaron actividad antibacteriana** frente a las cepas evaluadas. A continuación, se realizaron ensayos de “dilución en caldo” para determinar la **concentración mínima inhibitoria (CMI)** del crecimiento de las diferentes cepas bacterianas (104ufc/mL), obteniendo los siguientes resultados:

- **S. aureus:** 2 mg/mL (SLEpl 2PE) y 2 mg/mL (SLEpl 2HE).
- **S. epidermidis:** 10 mg/mL (SLEpl 2PE) y 10 mg/mL (SLEpl 2HE).

- **B. cereus:** 25 mg/mL (SLEpl 2PE) y 10 mg/mL (SLEpl 2HE).
- **L. monocytogenes:** 10 mg/mL (SLEpl 2PE) y 10 mg/mL (SLEpl 2HE).

Respecto al **potencial antienviejecimiento**, se estimó evaluando la capacidad de los extractos para inhibir enzimas implicadas en la remodelación de la matriz extracelular de la piel (cuyo incremento de actividad está asociado al envejecimiento), ciertas patologías como el cáncer, o en procesos inflamatorios: metaloproteinasas de matriz (MMPs), hialuronidasa (HYAL), elastasa, y 5-lipoxygenasa.



Figura 18. Actividad de enzimas implicadas en el envejecimiento de la piel en presencia de concentraciones crecientes de los extractos SLE pre-industriales de piel y hueso de aguacate. A) MMP1: colagenasa-1 (fibroblástica o intersticial); B) MMP2: gelatinasa-A; C) MMP3: estromelinasa-1; D) MMP7: matrilina; E) HYAL: hialuronidasa.

Tabla 19. Concentración inhibitoria del 50% de actividad (IC50) de matrix metaloproteinasas (MMPs) y hialuronidasa (HYAL) de los extractos SLE de piel y hueso de aguacate a escala laboratorio.

MUESTRA	IC50 (ppm) frente a enzimas implicadas en el envejecimiento de la piel				
	MMP1 (128U/ml)	MMP2 (31U/ml)	MMP3 (12,6U/ml)	MMP7 (12,8U/ml)	HYAL (3U/ml)
SLEpI 2PE	70,00	57,06	74,98	-	40,2
SLEpI 2HE	112,00	35,06 ^a	-	-	61,1
Inhibidor Control *	0,0013	0,00	0,00	3,05	9,7

* El inhibidor control fue el MMSH para las MMPs y el ác. oleanólico para HYAL.
 a) No se pudo determinar el IC50 de SLE 2HE frente a MMP2 porque se observó activación a partir de 200 ppm.
 b) No se pudo determinar el IC50 frente a MMP7 porque se observó activación de SLE 2PE a partir de 200 ppm y de SLE 2HE a partir de 50 ppm.

Inicialmente se evaluó el potencial inhibitor de los extractos a 150 ppm en los pocillos frente a todas las enzimas, aunque sólo se observó actividad inhibitoria frente a las MMPs evaluadas (MMP1, MMP2, MMP3 y MMP7) y la HYAL. A continuación, con estas enzimas, se realizaron más ensayos a diferentes diluciones de los extractos (Figura 18) para determinar la concentración mínima inhibitoria del 50% de la actividad enzimática (IC50), comparando los resultados con el IC50 de compuestos “control” capaces de inhibir inespecíficamente a todas las MMPs (ácido N-Isobutil-N-(4-metoxifenil-sulfonil) glicil hidroxámico - NNGH) o a la HYAL (ác. oleanólico) (Tabla 19).

Se observó que el extracto SLEpI 2PE tenía mayor potencial inhibitor de la MMP1 o colagenasa-1, que degrada principalmente el colágeno tipo III, I y II (flexibles y resistentes) y cuyo incremento de actividad está asociado a la formación de arrugas en la piel, teniendo por lo tanto especial interés para aplicaciones cosméticas.

En cambio, el extracto SLEpI 2HE obtuvo valores de IC50 algo inferiores que SLEpI 2PE frente a la MMP2 o gelatinasa-A, que rompe principalmente el colágeno de tipo IV, V y VII, lo que indica que sería más efectivo en la inhibición de esta MMP, que se sabe

está relacionada en casos de cáncer con la estimulación del crecimiento tumoral, la angiogénesis y los procesos de metástasis a través de su implicación en la degradación de la matriz extracelular.

Además, el extracto SLEpI 2PE fue capaz de inhibir la actividad de MMP3 de manera concentración-dependiente, pero frente a MMP7, aunque a concentraciones pequeñas fue capaz de inhibir su actividad, a partir de 200 ppm podría tener el efecto contrario. Este cambio de potencial inhibitor a activador también se observó en el extracto SLEpI 2HE frente a MMP3 y MMP7 a partir de 100 y 50 ppm, respectivamente, lo cual debe ser investigado con más detalle para determinar el interés de las actividades observadas frente a diferentes procesos biológicos y enfermedades.

SLEpI 2PE y SLEpI 2HE también fueron capaces de inhibir la hialuronidasa (HYAL), enzima responsable de la degradación del ácido hialurónico (glucosaminoglicano que asegura la unión entre las fibras colágenas y elásticas y que es esencial para una piel hidratada y tersa por su extraordinaria capacidad de retención de líquido), obteniendo ambos extractos IC50s de unos 40ppm, tan solo unas 4 veces inferior al IC50 del ác. oleanólico, compuesto ampliamente reconocido por

su capacidad para inhibir esta enzima y **empleado en cosmética por esta funcionalidad**.

En conclusión, los extractos SLE pre-industriales de piel y hueso de aguacate presentaron un amplio perfil de compuestos fenólicos, destacando su contenido en ácidos clorogénicos, flavanoles y procianidinas; una alta capacidad antioxidante (ABTS, DPPH, FRAP y ORAC); efectos antimicrobianos frente a bacterias Gram+ como *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *B. cereus* y *L. monocytogenes* (con concentraciones mínimas inhibitorias entre 2-25 mg/mL); y un interesante potencial anti-vejecimiento, siendo capaces de inhibir la acción de enzimas implicadas en la remodelación de la piel, como la hialuronidasa, la colagenasa-1 y la gelatinasa-A. Además, se ha comprobado la seguridad toxicológica y microbiológica de estos extractos en formato polvo.

En base a estos resultados y a la vista del complejo perfil fenólico de estos extractos, además de las bioactividades evaluadas en este proyecto, pueden tener otras aplicaciones beneficiosas para la salud que los diferencien de otros extractos naturales presentes en el mercado, lo cual debería ser investigado en mayor profundidad en futuros estudios para mejorar su competitividad industrial en el sector nutracéutico

y cosmético.

También puede ser de gran interés realizar procesos de fraccionamiento y purificación de los extractos para enriquecerlos en algún tipo de compuesto bioactivo concreto. En este sentido, durante la segunda anualidad del proyecto se realizaron en NATAC algunas pruebas de **fraccionamiento y purificación mediante tecnología de membranas para enriquecer** fracciones de los extractos SLEpl 2PE y SLEpl 2HE en **derivados cafeoilquínicos del aguacate**. Los productos secos originales se reconstituyeron en agua antes de someterlos a las pruebas de filtración tangencial:

Ultrafiltración:

- Membrana de 30.000 Dalton
- Presión de entrada (bar): 3-4
- Presión de salida (bar): 2-3
- Diferencia de presión (bar): 1

Nanofiltración:

- Membrana de 250 Dalton
- Presión de entrada (bar): 9
- Presión de salida (bar): 8
- Diferencia de presión (bar): 1

El proceso de ultrafiltración eliminó una gran cantidad de interferentes e impurezas, y permitió pasar a la mayoría de los compuestos de interés, que se encuentran en el permeado. El permeado procedente de la ultrafiltración se sometió a un proceso de

nanofiltración, en el que se recuperan en el retentado el 85% de los derivados cafeoilquínicos. Una pequeña parte en torno al 15 % se pierde en el permeado. Este proceso ha permitido obtener fracciones con una concentración de derivados cafeoilquínicos (ácido clorogénico y derivados) en torno al 7 - 8 %. El potencial bioactivo de estos

extractos enriquecidos en derivados cafeoilquínicos deberá ser investigado en futuros estudios, aunque al ser compuestos con reconocida bioactividad en numerosas aplicaciones, sólo el alto % de derivados cafeoilquínicos presentes otorga a estos extractos purificados un alto valor añadido.

Desarrollo de Nutracéuticos y Cosméticos

La última etapa del Objetivo 2 fue la formulación de nutracéuticos y cosméticos de alto valor añadido que contuvieran los extractos naturales de piel y hueso de aguacate obtenidos en el

proyecto a escala pre-industrial (SLEpl 2PE y SLEpl 2HE, respectivamente).

La sucesión de pasos seguidos durante el proceso de **optimización de la formulación de nutracéuticos** se muestra a continuación en la **Figura 19**.



Figura 19. Optimización de la formulación de cápsulas de gelatina dura con los extractos SLE preindustriales de piel y hueso de aguacate.

Los **nutracéuticos** desarrollados finalmente en el proyecto fueron **cápsulas de gelatina dura** que contienen como ingrediente activo 500 mg de cada tipo de extracto, lo cual supone que cada cápsula contiene un 86,5% de extracto seco de piel de aguacate (100 mg Eq. ácido gálico/cápsula) o un 91% de extracto seco de hueso de aguacate (56 mg Eq. ácido gálico/cápsula), empleando celulosa microcristalina como excipiente hasta completar el 100% de la capacidad de la cápsula (0,67 mL).

Una vez determinada la formulación óptima para SLEpl 2PE y SLEpl 2HE, se obtuvieron dos lotes de 100 cápsulas de cada tipo de extracto y se dispusieron en tarros tipo pildorero (50 cápsulas/tarro) para su correcto almacenamiento (**Figura 20**). En todos los lotes se realizaron ensayos de **control de calidad** (revisión de caracteres externos y ensayos de uniformidad de masa), comprobando que todos los lotes elaborados fueron “conformes”.



Figura 20. Nutracéuticos desarrollados en el proyecto del GO AGUACAVALUE junto a sus correspondientes envases de tarro pildorero. A) cápsulas duras de color blanco con extracto de piel de aguacate; B) cápsulas duras de color rojo con extracto de hueso de aguacate.

Como productos **cosméticos**, se decidió desarrollar cremas de alto valor añadido cuyos parámetros físico-químicos se asemejaran a una crema corporal comercial (textura, brillo, color, pH, etc). La metodología empleada para el desarrollo de estos cosméticos

fue una emulsión simple estable de una fase oleosa (interna) en una fase acuosa (externa), incorporando en la fase acuosa los extractos naturales pre-industriales obtenidos en el proyecto.

Todos estos ingredientes utilizados para la obtención de las cremas están autorizados y regulados por el Reglamento CE N° 1223/2009 del parlamento europeo y del consejo sobre los productos cosméticos y el Real Decreto 85/2018.

La formulación final de la crema corporal fue obtenida tras 10 formulaciones, donde los valores de los ingredientes y su incorporación fueron optimizados hasta conseguir una formulación final estable (**Tabla 20**).

Por lo tanto, los **cosméticos** desarrollados finalmente en el proyecto son **cremas corporales** obtenidas por emulsión simple estable de aceite en agua (O/W) y **contienen un 1% de los extractos secos de piel o de hueso de aguacate**.

Las cremas fueron envasadas en tarros (**Figura 21**) y en ellas se llevaron a cabo **estudios de estabilidad físico-química** como **control de calidad**, evaluando a tiempo 0 (72 h tras la emulsión) y pasado un mes los siguientes parámetros:

- **pH del producto:** se observó que el pH determinado inicialmente (Piel: 4.35 ± 0.25 ; Hueso: 4.56 ± 0.20) se mantenía estable tras un mes de almacenamiento.

- **Estabilidad química:** el contenido en compuestos fenólicos totales de la crema se evaluó a tiempo 0 por el método de Folin-Ciocalteu (Piel: $4.33 \pm 0,08$ mg Eq. AG /g de crema; Hueso: 3.82 ± 0.15 mg Eq. AG/g de crema), comprobando que no sufrió grandes cambios durante el almacenamiento.

- **Estabilidad visual:** no se observó separación de fases ni rotura de la crema tras un mes de almacenamiento.

- **Estabilidad acelerada:** esta prueba se realizó únicamente a tiempo 0, comprobando que tanto el pH como la emulsión se mantenían estables tras someter a las cremas por las siguientes etapas: centrifugación a 3000 rpm durante 30 min a 25 °C; rampa de temperatura de 40 a 80 °C, aumentando 5 °C cada 30 min; y, por último, ciclos de temperatura durante 5 días (días 1, 3 y 5 a 4 °C y días 2 y 4 a 60 °C).

Tabla 20. Formulación final optimizada de las cremas corporales con extracto de piel e de hueso de aguacate.

Fase	Ingrediente	(%)
Fase acuosa	Agua	58
	Glicerina	10
	Extracto de piel o hueso de aguacate	1
	Goma xantana	0,5
	Esencia de vainilla	0,3
	Ácido cítrico	0,2
Fase oleosa	Parafina líquida	9
	Aceite de aguacate	8,5
	Glicerilo monostearato	7
	Span 60	5
	Alcohol cetílico	0,5



Figura 21. Cosméticos desarrollados en el proyecto del GO AGUACAVALUE. A) crema corporal con 1% de extracto de piel de aguacate; B) crema corporal con 1% de extracto de hueso de aguacate.

En definitiva, en el proyecto AGUACAVALUE se han desarrollado **nutracéuticos** de alto valor añadido que contienen 500 mg de extracto seco de piel de aguacate (100 mg Eq. ácido gálico/cápsula) o de extracto seco de hueso de aguacate (56 mg Eq. ácido gálico/cápsula). Los resultados del proyecto sugieren su interés comercial como **suplementos antioxidantes** ya que los extractos que contienen presentan valores de ORAC superiores a muchos otros extractos naturales del mercado (Piel: 200.000 $\mu\text{mol eq T}/100\text{ g ES}$; Hueso: 147.000 $\mu\text{mol eq T}/100\text{ g ES}$). Como fuente de antioxidantes, podrían tener un efecto beneficioso en ciertos procesos fisiológicos (recuperación tras esfuerzo físico, fatiga física o mental, etc.) y en la prevención de condiciones patológicas relacionadas con el estrés oxidativo (cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, diabetes, artritis, etc.), especialmente

en personas con déficit de ingesta de antioxidantes naturales por no seguir una dieta equilibrada y saludable, ya que no debe olvidarse que ésta es la forma más efectiva de obtener los antioxidantes que el cuerpo necesita. No obstante, el amplio perfil y contenido fenólico de los extractos de aguacate y los resultados del resto de bioactividades analizadas in vitro (como la inhibición de MMPs), sugieren el interés de seguir investigando aplicaciones funcionales y saludables concretas de estos extractos en ensayos celulares, modelos animales y estudios clínicos que permitan establecer mecanismos de acción y dosis de consumo adecuadas para evitar consecuencias negativas y tener efectos beneficiosos.

También se han desarrollado **cremas corporales** con 1% de extracto de piel de aguacate (420-440 mg Eq AG / 100 g crema) y con 1% de extracto de hue-

so de aguacate (380-400 mg Eq AG / 100 g crema) que son estables tras un mes de almacenamiento, tanto a nivel visual como desde el punto de vista químico, conservando los compuestos bioactivos aportados por los extractos naturales de aguacate, en los que se ha observado in vitro una importante actividad antioxidante y antimicrobiana, y potencial inhibidor de enzimas

implicadas en el envejecimiento. Estas funcionalidades de las cremas deberán ser evaluadas en futuros estudios clínicos que permitan corroborar sus posibles aplicaciones como **cremas "anti-ageing"** o que investiguen si pueden ser adecuadas para la prevención/tratamiento de alguna patología de la piel (dermatitis, psoriasis, acné, etc.).

5. Actividades de Divulgación del Proyecto de Innovación

Durante todo el proyecto se ha llevado a cabo una intensa labor de divulgación por parte de todos los miembros del Grupo Operativo, bajo la coordinación de Coop. Agroalim. Andalucía-Granada. Estas actividades se describen con detalle en los informes de actuaciones de cada miembro, recogiendo a continuación la relación de actividades dentro de cada resultado de divulgación planteado en el cronograma:

Act 1.RD2 Gabinete de comunicación: Prensa (redacción de notas de prensa y maquetación de Guía de proyecto).

Act 2.RD2 Publicación de medios de comunicación: Inserciones publicitarias www.qcom.es. Brand week, web y

newsletter.

Act 1.RD3 Jornadas de divulgación en el sector:

- Participación en el Taller: "Alimentación saludable y funcional" durante la Noche de los Investigadores 2019 (Granada, 26/09/2019).

- Participación en las Charlas de divulgación científica "Alimentos Funcionales: Diseñando una alimentación saludable", dentro del ciclo de jornadas Lemon Rock Science Talks (Granada, 25/9/2019).

- Presentación de resultados del GO AGUACAVALUE en el Webinar: "Jornada sobre Revalorización de Coproductos en la Industria Agroalimentaria" organizada por el proyecto europeo ICT-BIOCHAIN (21/05/2020).



- Organización y Participación en el webinar "Clausura del GO AGUACAVALUE" del 30/07/2020.

Act 2.RD3 Asistencia a ferias y jornadas del sector:

- Feria FRUIT ATTRACTION (IFEMA, Madrid, 23/10/2019 - 24/10/2019).



· Asistencia y presentación de ponencia sobre el proyecto del GO AGUACAVALUE en Area Smart Agro.

· Entrevista COPE Llanos Andújar de la Torre.
· Cobertura divulgativa G.O. Aguacavalue.

- Feria TRANSFIERE 2020 (FYCMA, Málaga, 12/02/2020).
· Asistencia a la Feria con stand.

· Cobertura divulgativa G.O. Aguacavalue.



- Feria Biofach Febrero 2020 (Nuremberg (Alemania)), 12/02/20-15/02/20.
· Asistencia a la Feria.

- Feria NUTRACEUTICALS EUROPE (IFEMA, Madrid, 04/03/2020 - 05/03/2020).
· Asistencia a la Feria.

miento de la web del GO AGUACAVALUE por COOP. AGROALIM. AND.
- Participación en las adaptaciones de la web del GO AGUACAVALUE.
- Adaptación de la web de CIDAF con página propia del proyecto y actualizaciones.
- Adaptación de la web de NATAC con información del GO AGUACAVALUE.
- Noticia Newsletter (28/08/2020) en web Grupo LA CAÑA.

Act 1.RD5 Página Web.

- Redacción de contenido y manteni-



Inicio



Act 2.RD5 Redes Sociales.

- Notificación de todas las actuaciones y novedades del GO AGUACAVALUE a través de las redes sociales del

GO AGUACAVALUE (COOP. AGROALIM. AND.), CIDAF, NATAC y Grupo LA CAÑA (Twitter, Facebook, LinkedIn).



Act 3.RD5 Video.

- Dirección y coordinación en la producción del vídeo completo del GO AGUACAVALUE.
- Participación en la producción del vídeo completo del GO AGUACAVALUE.

Act 1.RD6 Publicación en medios específicos de investigación: Artículo científico presentando parte de los resultados del GO AGUACAVALUE enviado a la revista Food Chemistry. Estado: 2ª revisión)

Act 1.RD6 Publicación en medios específicos del sector agroalimentario:

- Publireportaje divulgativo del GO AGUACAVALUE en la Revista Alimentaria (Nº515) y Noticia destacada de fin de proyecto en la revista online.
- Publicación artículo divulgativo del GO AGUACAVALUE en TECNIFOOD edición papel y digital y en página web www.techpress.es.
- Prensa (publicación de artículo del

- GO AGUACAVALUE el 07/07/2020 en los periódicos del Grupo Joly)
- White paper GO AGUACAVALUE.
 - Publicación de artículo en la Revista Nº 32 del Grupo La CAÑA.
 - Publireportaje divulgativo del GO AGUACAVALUE en la Revista "Granada Cooperativa".
 - Publireportaje divulgativo del GO AGUACAVALUE en la Revista Agronegocios.
 - Radio (entrevista a A. Segura Carretero sobre el GO AGUACAVALUE el 18/07/2020 en programa "Surco y Marea" de Cadena SER Andalucía).
 - Televisión (entrevista a A. Segura Carretero y M. Llanos Andújar sobre el GO AGUACAVALUE el 29/07/2020 en las "Noticias 2" de Canal Sur).
 - Asistencia a Congresos Científicos: EFFOST 2019 (Rotterdam (Holanda), 10/11/2019-15/11/2019. Asistencia de 2 investigadoras de CIDAD y presentación de 2 posters durante el congreso.

Además, se ha diseñado y elaborado merchandising y material fungible específico del GO AGUACAVALUE para su divulgación en ferias, congresos y a los socios y miembros del consorcio, entre ellos: agendas, USB, blocks

de notas, camisetas, geles hidro-alcohólicos, mascarillas, carpetas, carteles, roll-up, etc.; además de seguir difundiendo el merchandising de la 1ª anualidad: mochilas, cuadernos, bolis, pulseras, etc.

6. Conclusiones

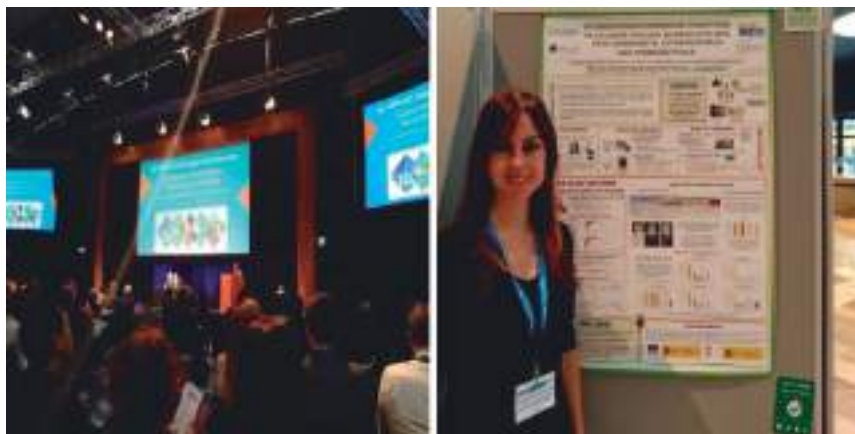
El proyecto innovador del **Grupo Operativo AGUACAVALUE** ha desarrollado productos de alto valor añadido a partir de los principales subproductos de la elaboración de guacamole (pieles y huesos de aguacate), optimizando el tratamiento de las materias primas, los procesos de extracción de compuestos bioactivos, y las formulaciones de los productos finales propuestos (piensos animales, nutracéuticos y cremas corporales). Además, ha demostrado el interés de esta revalorización para las empresas agroalimentarias y biotecnológicas implicadas en la cadena de valor escalando los procesos a nivel industrial o pre-industrial, y comprobando el valor nutricional, seguridad y potencial bioactivo de los ingredientes, piensos y extractos naturales desarrollados.

sostenibilidad de la industria agroalimentaria y atiende a los retos globales de lucha contra el cambio climático y respeto al medio ambiente, minimizando la generación de residuos en la industria del aguacate/guacamole al proponer diferentes alternativas de aprovechamiento de sus subproductos como materias primas para el sector agroalimentario, nutracéutico y cosmético.

De esta forma, se ha cumplido con el objetivo principal del Grupo Operativo AGUACAVALUE de crear un sistema eficiente de bioeconomía circular entorno al aguacate.

Para más información, visite la web del Grupo Operativo: www.aguacavalue.com

Todo este trabajo favorece por tanto la



7. Agradecimientos

El GO AGUACAVALUE agradece la financiación obtenida para su proyecto "Revalorización de Subproductos del Aguacate en Nutrición Animal, Nutracéuticos y Cosmecéuticos" (Ref: 20180020012499) por parte del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España y del Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (FEADER), mediante la convocatoria de Subvenciones a la ejecución de Proyectos de Innovación de interés general por Grupos Operativos de la Asociación Europea para la Innovación en materia de Productividad y Sostenibilidad Agrícolas (AEI-Agri), en el marco del Progra-

ma Nacional de Desarrollo Rural 2014-2020, Convocatoria 2018.

Además, se agradece la colaboración en el proyecto del Grupo "Bioactive Ingredients" de la Universidad de Granada (UGR) para la determinación del potencial bioactivo de los subproductos del aguacate; de Marmosa Soc. Coop. And. (Algarrobo, Málaga) para las actividades de desgrasado del destrió y triturado del hueso de aguacate; y de Industrias Agroven Sur (Grupo Venso, Moraleda de Zafayona, Granada) para el secado y triturado del hueso de aguacate.

8. Anexo I.

Cronograma de ejecución de la 1ª anualidad del go aguacavalue

INDICADORES	ACTIVIDADES DE EJECUCIÓN	MIEMBROS PARTICIPANTES	Jul 18	Ago 18	Sep 18	Oct 18	Nov 18	Dic 18	Ene 19	Feb 19	Mar 19	Abr 19	May 19	Jun 19	Jul 19	Ago 19
E1	ACT1.1.R1: Recibir y recibir de cada uno de los subproductos	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.1.R2: Realizar la conexión física con el usuario	GOAP														
	ACT1.1.R3: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.1.R4: Realizar la conexión física con el usuario	GOAP/VAZAC														
	ACT1.1.R5: Realizar la conexión física con el usuario	GOAP														
E2	ACT1.2.R1: Comparación de los componentes	GOAP														
	ACT1.2.R2: Comparación de los componentes	GOAP														
	ACT1.2.R3: Comparación de los componentes	GOAP														
	ACT1.2.R4: Comparación de los componentes	GOAP														
	ACT1.2.R5: Comparación de los componentes	GOAP														
E3	ACT1.3.R1: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.3.R2: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.3.R3: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.3.R4: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.3.R5: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
E4	ACT1.4.R1: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.4.R2: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.4.R3: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.4.R4: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.4.R5: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
E5	ACT1.5.R1: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.5.R2: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.5.R3: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.5.R4: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														
	ACT1.5.R5: Realizar la conexión física con el usuario	LA GATA TRUJANO														

Cronograma de ejecución de la 2ª anualidad del go aguacavalue (Objetivo 1)

RESUMEN	ACTIVIDADES DE EJECUCIÓN	MEMBROS PARTICIPANTES	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AUG	AGO
R1	Act 1. R1: Estudio y estudio de caso tipo de actividades	LA CASA/INIBALCO													
	Act 2 R1: Control de calidad/tecnología de los subproductos	LA CASA/INIBALCO													
	Act 3. R1: Extracción de ANZAMARCA de ATRVIA a subproductos	COOP													
	Act 4. R1: Caracterización por métodos de RM de subproductos	COOP													
R2	Act 5. R2: Pruebas empíricas de los componentes bioactivos en los subproductos	COOP													
	Act 6. R2: Pruebas empíricas de los subproductos	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
	Act 7. R2: Aplicación de los subproductos en la alimentación animal en granja	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
	Act 8. R2: Selección de los candidatos para la incorporación en granja	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
R3	Act 9. R3: Realización de los estudios de seguridad alimentaria para la incorporación en granja	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
	Act 10. R3: Determinación de permito de parte de las autoridades sanitarias de los subproductos	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
	Act 11. R3: Fichado preliminar de los países, formatos y contenidos de análisis	MARCO DEZ - MICO													
	Act 12. R3: Caracterización por métodos de RM de subproductos	COOP													
R4	Act 13. R4: Pruebas empíricas de los componentes bioactivos en los subproductos	COOP													
	Act 14. R4: Pruebas empíricas de los subproductos	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
	Act 15. R4: Aplicación de los subproductos en la alimentación animal en granja	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
	Act 16. R4: Selección de los candidatos para la incorporación en granja	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
R5	Act 17. R5: Realización de los estudios de seguridad alimentaria para la incorporación en granja	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
	Act 18. R5: Determinación de permito de parte de las autoridades sanitarias de los subproductos	MARCO DEZ - MICO													

■ Fecha de Finalización de Ejecución anterior al Estado de Alerta

Cronograma de ejecución de la 2ª anualidad del go aguacavalue (Objetivo 2)

RESUMEN	ACTIVIDADES DE EJECUCIÓN	MEMBROS PARTICIPANTES	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AUG	AGO
R1	Act 1. R1: Estudio y estudio de caso tipo de actividades	LA CASA/INIBALCO													
	Act 2 R1: Control de calidad/tecnología de los subproductos	LA CASA/INIBALCO													
R2	Act 3. R2: Extracción de ANZAMARCA de ATRVIA a subproductos	COOP													
	Act 4. R2: Caracterización por métodos de RM de subproductos	COOP													
	Act 5. R2: Pruebas empíricas de los componentes bioactivos en los subproductos	COOP													
	Act 6. R2: Pruebas empíricas de los subproductos	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
R3	Act 7. R3: Aplicación de los subproductos en la alimentación animal en granja	MARCO DEZ - MICO													
	Act 8. R3: Determinación de permito de parte de las autoridades sanitarias de los subproductos	COOP													
R4	Act 9. R4: Pruebas empíricas de los componentes bioactivos en los subproductos	COOP													
	Act 10. R4: Pruebas empíricas de los subproductos	FRUJAZO, LA CASA, MARCOS DEZ - MICO													
R5	Act 11. R5: Aplicación de los subproductos en la alimentación animal en granja	MARCO DEZ - MICO													
	Act 12. R5: Determinación de permito de parte de las autoridades sanitarias de los subproductos	MARCO DEZ - MICO													

■ Fecha de Finalización de Ejecución anterior al Estado de Alerta

9. Anexo II.

Cronograma de divulgación de la 1ª anualidad del go aguacavalue

RESULTADO DE DIVULGACION	ACTIVIDADES DE DIVULGACION	Miembros participantes	Abr 18	May 18	Jun 18	Jul 18	Ago 18	Sep 18	Oct 18	Nov 18	Dic 18	Ene 19	Feb 19	Mar 19	Abr 19	May 19	Jun 19	Jul 19	Ago 19	
RED1	Actividad 1 RD1 Redacción de la comunicación interna de divulgación	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA																		
RED2	Actividad 2 RD2 Selección de comunicación	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA																		
RED3	Actividad 3 RD3 Publicación en medios de comunicación	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA, COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA, COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA																		
RED4	Actividad 4 RD4 Atención a redes sociales	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA, COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA, NATAC, MATAC																		
RED5	Actividad 5 RD5 Organización de eventos	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA																		
RED6	Actividad 6 RD6 Redes sociales	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA, COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA, NATAC, MATAC																		
RED7	Actividad 7 RD7 Atención a redes sociales	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA																		

Cronograma de divulgación de la 2ª anualidad del go aguacavalue

RESULTADO DE DIVULGACION	ACTIVIDADES DE DIVULGACION	Miembros participantes	Sep 19	Oct 19	Nov 19	Dic 19	Ene 20	Feb 20	Mar 20	Abr 20	May 20	Jun 20	Jul 20	Ago 20
RD1	Actividad 1 RD1 Grabación de comunicación	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA												
RD1	Actividad 2 RD1 Publicación en medios de comunicación	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA												
RD1	Actividad 3 RD1 Jornadas de divulgación en el sector (organización)	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA, GIDAF, LA CÁMERA, FUMADCO												
RD1	Actividad 4 RD1 Asistencia a redes sociales	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA, GIDAF, NATAC, FUMADCO, MATAC												
RD5	Actividad 1 RD5 IRRS	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA												
RD5	Actividad 2 RD5 Redes sociales	GIDAF, NATAC, FUMADCO, MATAC												
RD5	Actividad 3 RD5 Video													
RD6	Actividad 1 RD6 Publicación en medios de comunicación y del sector agroalimentario	COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA, NATAC, COOP. AGRO-ALIM DE ANDALUCIA												
RD6	Actividad 2 RD6 Asistencia a congresos científicos													



GRUPO OPERATIVO
AGUACAVALUE
2018-2020

"Revalorización de Subproductos del
Aguacate en Nutrición Animal,
Nutracéuticos y Cosméticos"

www.aguacavalue.com



Este proyecto ha sido financiado con un 50% por la Unión Europea a través del MACRO, con un 40% por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España y el 10% restante por el Gobierno de Castilla-La Mancha. El Grupo Operativo AGUACAVALUE es responsable del cumplimiento de todo en sus actividades y se refiere a la Dirección General de Desarrollo Rural, Innovación y Políticas Forestales, como organismo del gobierno responsable de la aplicación de la ley del MACRO y nacional correspondiente.