



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ARCILLAS CAOLÍNÍICAS EN EL RENDIMIENTO DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN Y LA CALIDAD DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

Alumno/a: Urresta Valencia, María Paula

Tutor/a: Prof. Dña. Adoración Mozas Moral
Dpto.: Organización de Empresas, Marketing y
Sociología

Director: Prof. D. Gabriel Beltrán Maza
Director: Prof. D. Antonio Jiménez Marqués
Dpto.: IFAPA Venta del Llano

Julio, 2018



EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ARCILLAS CAOLINÍICAS EN EL RENDIMIENTO DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN Y LA CALIDAD DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

Esta memoria constituye el Trabajo Fin de Máster y se presenta a la Comisión Evaluadora en Jaén a 5 de Julio del año 2018.

Fdo. María Paula Urresta Valencia

**ADORACIÓN MOZAS MORAL, PROFESORA TITULAR
DEL MASTER EN OLIVAR, ACEITE DE OLIVA Y SALUD
DE LA UNIVERSIDAD DE JAÉN.**

Como **TUTORA** de Dña. María Paula Urresta Valencia, en el Máster Universitario en Olivar, Aceite de Oliva y Salud, durante el curso 2017-2018

INFORMA: Que el presente trabajo fin de máster, ***Efecto de la adición de Arcillas Caoliníticas en el Rendimiento del proceso de extracción y calidad del Aceite de Oliva Virgen***, ha sido realizado en los Laboratorios del Centro de IFAPA “Venta del Llano” por Ingeniera Dña. María Paula Urresta Valencia para la obtención del Título de Máster Universitario en Olivar, Aceite de Oliva y Salud por la Universidad de Jaén, bajo la dirección de los Dres. D. Gabriel Beltrán Maza y D. Antonio Jiménez Márquez.

Jaén, Julio de 2018

Fdo. Gabriel Beltrán Maza Fdo. Antonio Jiménez Márquez.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme la vida, por guiarme en cada paso y por poner ángeles en mi camino que me han ayudado a crecer como persona y como profesional.

Agradezco a Gabriel Beltrán mi tutor por apoyarme y no dejar que me rindiera. Al Centro IFAPA que me abrió las puertas siempre con una sonrisa y me permitió realizar mis prácticas y mi TFM, así como a las personas que nos transmitieron su conocimiento, en especial a Gloria.

Agradezco a mis padres y a mis hermanos, que siempre me han apoyado en cada paso, me impulsan a ser mejor cada día y han sido luz en mi vida. Gracias por tanto amor, porque la historia de nuestras vidas ha sido perfecta y porque no los cambiaría por nada.

Agradezco a Francia, Sarita, Azu y a Mamainesita, por ayudarme siempre y por tener ese gran corazón que las hace especiales, hacen mis días mejores y son una parte muy importante de mí. Porque sin ustedes estar aquí no sería posible y por eso Dios las bendecirá siempre.

Agradezco a todas esas personas que han cambiado mi vida, realmente me llevo tantos recuerdos en mi corazón y me han dado tantas alegrías. Son ángeles que Dios puso en mi camino y han sido una bendición, a los que con mucho cariño puedo llamar amigos.

ÍNDICE

RESUMEN.....	11
ABSTRACT.....	11
JUSTIFICACIÓN.....	12
OBJETIVOS.....	13

I. INTRODUCCIÓN

1.1 <u>OLIVAR Y SU PRODUCCIÓN.....</u>	14
1.2 <u>ACEITE DE OLIVA VIRGEN.....</u>	14
1.2.1 <u>Elaboración de Aceite de Oliva Virgen.....</u>	15
1.2.1.1 Operaciones Preliminares en Aceituna.....	17
1.2.1.2 Preparación de la Pasta.....	18
1.2.1.3 Molienda.....	18
1.2.1.4 Batido.....	19
1.2.1.5 Pastas Difíciles.....	21
1.2.1.6 Coadyuvantes Tecnológicos.....	22
1.2.1.7 Extracción Sólido- Líquido.....	24
1.2.1.8 Extracción Líquido- Líquido.....	24
1.2.1.9 Decantación.....	25
1.2.1.10 Almacenamiento.....	25

II. METODOLOGÍA

2.1 <u>MATERIAL VEGETAL.....</u>	26
2.2 <u>PROCESO DE EXTRACCIÓN EN ALMAZARA.....</u>	26
2.3 <u>DISEÑO EXPERIMENTAL.....</u>	28
2.3.1 <u>Toma de muestras.....</u>	28
2.4 <u>DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN EL FRUTO.....</u>	29
2.4.1 <u>Criterios de Control para Aceituna.....</u>	29
2.4.1.1 Índice de Madurez.....	29
2.4.1.2 Peso medio de Aceitunas	30
2.4.1.3 Humedad.....	30
2.4.1.4 Contenido graso sobre materia seca.....	30

2.5	<u>DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN EL ORUJO</u>	31
2.5.1	<u>Humedad</u>	31
2.5.2	<u>Contenido graso sobre materia húmeda y seca</u>	32
2.6	<u>DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE CALIDAD DE AOV</u>	32
2.6.1	<u>Acidez libre</u>	32
2.6.2	<u>Índice de peróxidos</u>	33
2.6.3	<u>Absorbancia UV (K₂₃₂ o K₂₇₀)</u>	33
2.6.4	<u>Ésteres alquílicos</u>	34
2.7	<u>DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE COMPOSICIÓN DE AOV</u>	35
2.7.1	<u>Compuestos Volátiles</u>	35
2.7.2	<u>Pigmentos</u>	36
2.7.3	<u>Tocoferoles</u>	36
2.7.4	<u>Compuestos Fenólicos</u>	37
2.7.4.1	Polifenoles Totales	37
2.7.4.2	Polifenoles Cualitativos.....	37
2.7.4.3	Amargor K ₂₂₅	38
2.7.5	<u>Ácidos Grasos</u>	39

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1	<u>CARACTERÍSTICAS DEL FRUTO</u>	40
3.2	<u>CARACTERÍSTICAS DEL ORUJO</u>	41
3.3	<u>DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE CALIDAD DEL AOV</u>	44
3.3.1	<u>Grado de Acidez</u>	44
3.3.2	<u>Índice de Peróxidos</u>	46
3.3.3	<u>Absorbancia UV (K₂₃₂ o K₂₇₀)</u>	48
3.3.4	<u>Ésteres etílicos de Ácidos Grasos</u>	50
3.4	<u>DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE COMPOSICIÓN DEL AOV</u>	51
3.4.1	<u>Compuestos Volátiles</u>	51
3.4.2	<u>Pigmentos</u>	57
3.4.3	<u>Tocoferoles</u>	59
3.4.4	<u>Compuestos fenólicos</u>	62

3.4.4.1	Polifenoles Totales	62
3.4.4.2	Polifenoles Cualitativos.....	64
3.4.4.3	Amargor K ₂₂₅	67
3.4.5	<u>Ácidos Grasos</u>	69
IV.CONCLUSIONES		72
BIBLIOGRAFÍA		73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1	Características de calidad de Aceites de Oliva.....	15
Tabla 2.1	Diseño Experimental.....	28
Tabla2.2	Índice de Madurez determinado por estado de maduración de aceituna.....	29
Tabla 3.1	Características de la aceituna de variedad “Picual” (N=3), utilizada como materia prima para realizar el ensayo con coadyuvantes tecnológicos.....	40
Tabla 3.2	Características del orujo de oliva de variedad “Picual”	42
Tabla 3.3	Análisis de varianza de características del orujo de oliva de variedad “Picual” con coadyuvantes tecnológicos.....	43
Tabla 3.4	Análisis de varianza para Grado de Acidez de Ensayo de Coadyuvantes...	45
Tabla 3.5	Determinación Analítica de Calidad del Aceite de Oliva Virgen. Análisis de Grado de Acidez en muestras.....	45
Tabla 3.6	Análisis de varianza, Índice de Peróxidos de Ensayo de Coadyuvantes.....	47
Tabla 3.7	Determinación Analítica de Calidad del Aceite de Oliva Virgen. Índice de Peróxidos en muestras.....	47
Tabla 3.8	Análisis de varianza, Absorbancia UV K ₂₃₂ de Ensayo de Coadyuvantes	49
Tabla 3.9	Análisis de varianza, Absorbancia UV K ₂₇₀ de Ensayo de Coadyuvantes.....	49
Tabla 3.10	Determinación Analítica de Calidad del Aceite de Oliva Virgen Absorbancia UV K ₂₃₂ - K ₂₇₀ en muestras.....	49
Tabla 3.11	Determinación Analítica de Calidad del Aceite de Oliva Virgen. Ésteres etílicos de Ácidos Grasos en muestras.....	50
Tabla 3.12	Análisis de varianza. Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Compuestos volátiles en muestras.....	54
Tabla 3.13	Análisis de varianza, Carotenos 472nm de Ensayo de Coadyuvantes.	58
Tabla 3.14	Análisis de varianza, Clorofilas 670nm de Ensayo de Coadyuvantes.....	58
Tabla 3.15	Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Pigmentos en muestras.....	58
Tabla 3.16	Análisis de varianza, Tocoferol α de Ensayo de Coadyuvantes.....	60
Tabla 3.17.	Análisis de varianza, Tocoferol β de Ensayo de Coadyuvantes.....	60

Tabla 3.18	Análisis de varianza, Tocoferol y de Ensayo de Coadyuvantes.....	60
Tabla 3.19	Análisis de varianza, Tocoferoles Totales de Ensayo de Coadyuvantes....	60
Tabla 3.20	Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Tocoferoles en muestras.....	61
Tabla 3.21	Determinación Analítica de Composición del AOV. Rangos establecidos mediante análisis de varianza para Tocoferoles en muestras.....	61
Tabla 3.22	Análisis de varianza, Polifenoles Totales de Ensayo de Coadyuvantes.....	63
Tabla 3.23	Determinación Analítica de Composición del AOV. Polifenoles Totales en muestras	64
Tabla 3.24	Análisis de varianza. Determinación Analítica de Composición del AOV. Polifenoles Cualitativos en muestras.....	66
Tabla 3.25	Análisis de varianza, Amargor K ₂₂₅ de Ensayo de Coadyuvantes.....	68
Tabla 3.26	Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Amargor K ₂₂₅	68
Tabla 3.27	Análisis de varianza. Determinación Analítica de Composición del AOV. Ácidos Grasos.....	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Diagrama de Flujo de proceso de Elaboración de Aceite de Oliva.....	16
Figura 2.1	Diagrama de Flujo de proceso de Elaboración de Aceite de Oliva Virgen con coadyuvantes tecnológicos en Almazara del Centro IFAPA.....	27
Figura 3.2	Efecto del empleo de Coadyuvantes tecnológicos con respecto a CGMS en las muestras de Orujo de Oliva	42
Figura 3.3.	Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de calidad en AOV. Análisis de Grado de Acidez en muestras.....	44
Figura 3.4	Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de calidad en AOV. Índice de Peróxidos en muestras.....	46
Figura 3.5	Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de calidad en AOV. Absorbancia UV K ₂₃₂ - K ₂₇₀ en muestras.....	48
Figura 3.6	Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Compuestos volátiles en muestras.....	52
Figura 3.7	Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Pigmentos en muestras.....	57
Figura 3.8	Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Tocoferoles en muestras.....	59
Figura 3.9	Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Polifenoles Totales en muestras.....	63
Figura 3.10	Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Polifenoles Cualitativos en muestras.....	64
Figura 3.11	Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Amargor K ₂₂₅ en muestras.....	67
Figura 3.12	Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Ácidos Grasos en muestras.....	71

RESUMEN

La presente tesis tiene como objetivo evaluar el efecto de la adición de arcillas caoliníticas en el rendimiento del proceso de extracción y la calidad del aceite de oliva virgen utilizando frutos de baja humedad. Para ello, se ha comparado la adición de arcillas caoliníticas a dos concentraciones, con la adición de talco al 0,5% y un testigo con batido tradicional. Se ha analizado el contenido graso del orujo, así como la calidad y composición de los aceites obtenidos. De los resultados se desprende que las arcillas caoliníticas mejoran el rendimiento en el proceso para frutos de baja humedad, con las dosis más elevadas. Mientras que el talco no tuvo efecto alguno. Los parámetros de calidad del aceite no se vieron afectados por el uso de coadyuvantes tecnológicos aunque el contenido de compuestos minoritarios fue más elevado.

ABSTRACT

The objective of this thesis is to evaluate the effect of the addition of kaolinitic clays on the performance of the extraction process and the quality of virgin olive oil using low moisture fruits. For this, the addition of kaolinitic clays was compared at two concentrations, with the addition of 0.5% talcum and a control with traditional shake. The fat content of the pomace has been analyzed, as well as the quality and composition of the oils obtained. From the results it is clear that the kaolinitic clays improve the yield in the process for low moisture fruits, with the highest doses. While talc had no effect. The parameters of oil quality were not affected by the use of technological adjuvants although the content of minority compounds was higher.

JUSTIFICACIÓN

Considerando que para la elaboración de Aceite de Oliva Virgen se requiere materia prima con características de alta calidad; que de acuerdo a sus parámetros óptimos de recolección, variedad, estado de madurez, tipo de cultivo así como el procesamiento en almazara dan lugar a la formación de una pasta de aceituna de la cual se extraerá el AOV. Sin embargo, el proceso de extracción tiene como objetivo obtener la mayor cantidad de aceite ya sea suelto o normal, mediante procesos físicos; no obstante, un porcentaje de aceite queda retenido en la fase sólida (Moreno y López, 2017).

Es por esta razón, que la industria Oleícola busca aditivos como es el caso de los coadyuvantes tecnológicos que permitan mejorar el proceso y los rendimientos, sin afectar directamente la obtención de un producto de alta calidad como es el Aceite de Oliva Virgen. Se han realizado investigaciones sobre la utilización de diversos coadyuvantes tecnológicos en la producción de aceite de oliva tales; con el fin de aumentar la producción y mejorar el rendimiento graso, sin afectar las características del AOV.

De acuerdo al Reglamento CE 1513/2001, en el proceso de elaboración de Aceites de Oliva se permite el uso de coadyuvantes tecnológicos autorizados como talco y arcilla caolinita. Por lo cual, la investigación de coadyuvantes tecnológicos, en especial de la arcilla caolinítica, permitirá determinar y comparar la influencia de este coadyuvante en el rendimiento graso, en la calidad y en la composición del aceite.

OBJETIVOS

OBJETIVO

Evaluar el efecto de la adición de arcillas caoliníticas sobre el rendimiento del proceso de extracción y la calidad del Aceite de Oliva Virgen.

Objetivos Específicos

- Determinar el rendimiento graso y la calidad del Aceite de Oliva Virgen con coadyuvantes tecnológicos.
- Comparar el efecto de la adición de arcilla caolinítica con talco en Aceite de Oliva Virgen.

I INTRODUCCIÓN

1.1 OLIVAR Y SU PRODUCCIÓN

El olivar es un árbol perenne conocido como "*Olea Europeacea*", del cual se obtiene la aceituna o drupa carnosa constituida por hueso (endocarpio), pulpa que contiene aceite (mesocaripio) y piel (exocarpio); extendido en latitudes de 30° y 45° tanto en hemisferio norte como sur; debido a su climatología del tipo mediterráneo con naturaleza extrapolar que presenta veranos secos y calurosos (Civantos , 2009).

El cultivo del olivar produce aceitunas destinadas a la producción de aceite, aceituna de mesa o para doble propósito. El propósito al cuál se destina la aceituna se encuentra determinado por la composición, así como por la variedad, tamaño, tipo de cultivo, climatología y proceso de recolección (Civantos , 2009).

El cultivo del olivar se ha extendido en África, América, Asia, Europa y Oceanía (Vilar y Cárdenas, 2012). En el 2007, se determinó que la superficie del olivar era de 11.316.115 Ha, ubicando al 80% de los cultivos de olivar en la cuenca del Mediterráneo; y que la producción mundial de aceite de oliva virgen anual estimada para el período 2017-2018 es de 2.894.000 toneladas (COI, 2017).

España se encuentra posicionado como el principal país de exportación de aceite de oliva a nivel mundial con una producción del 44%; su producción se encuentra situada en su mayoría en la comunidad autónoma de Andalucía produciendo el 85% de aceite a nivel de España, del cual el 40% proviene de la provincia de Jaén (Álvarez, 2017).

En España, existe una gran diversidad de variedades de aceituna de la cual se obtiene aceites de oliva virgen de gran calidad, las cuales se diferencian en cuanto a características fisicoquímicas como organolépticas; pero en la provincia de Jaén predomina principalmente la producción de Aceite de Oliva Virgen de la variedad "Picual".

1.2 ACEITE DE OLIVA VIRGEN

El Consejo Oleícola Internacional define los Aceites de Oliva Vírgenes como "los aceites obtenidos del zumo de la aceituna o fruto del olivo (*Olea europaea* L.) únicamente por procedimientos mecánicos o por otros procedimientos físicos en condiciones, especialmente térmicas, que no produzcan la alteración del aceite, que no

hayan tenido más tratamiento que el lavado, la decantación, la centrifugación y el filtrado”. REGLAMENTO DELEGADO (UE) 2016/2095 DE LA COMISIÓN de 26 de septiembre de 2016 clasifica los aceites de oliva, de acuerdo a características de calidad y pureza específicas establecidas para cada categoría. En la Tabla 1.1, se incluye un resumen de las principales características de los Aceites de Oliva Vírgenes.

Tabla 1.1 Características de calidad de Aceites de Oliva.

Características de Calidad	Acidez	Índice de Peróxidos mEq O ₂ /kg	K ₂₃₂	K ₂₆₈ o K ₂₇₀	Delta K	Evaluación Organoléptica		Esteres etílicos mg/kg
						Mediana del defecto	Mediana del frutado	
Aceite de Oliva Virgen Extra	≤0,8	≤20	≤2,50	≤0,22	≤0,01	Md=0	Mf>0	≤35
Aceite de Oliva Virgen	≤2,0	≤20	≤2,60	≤0,25	≤0,01	Md ≤35	Mf>0	----

Fuente: Obtenida del Reglamento Delegado (UE) 2016/2095.(2016)

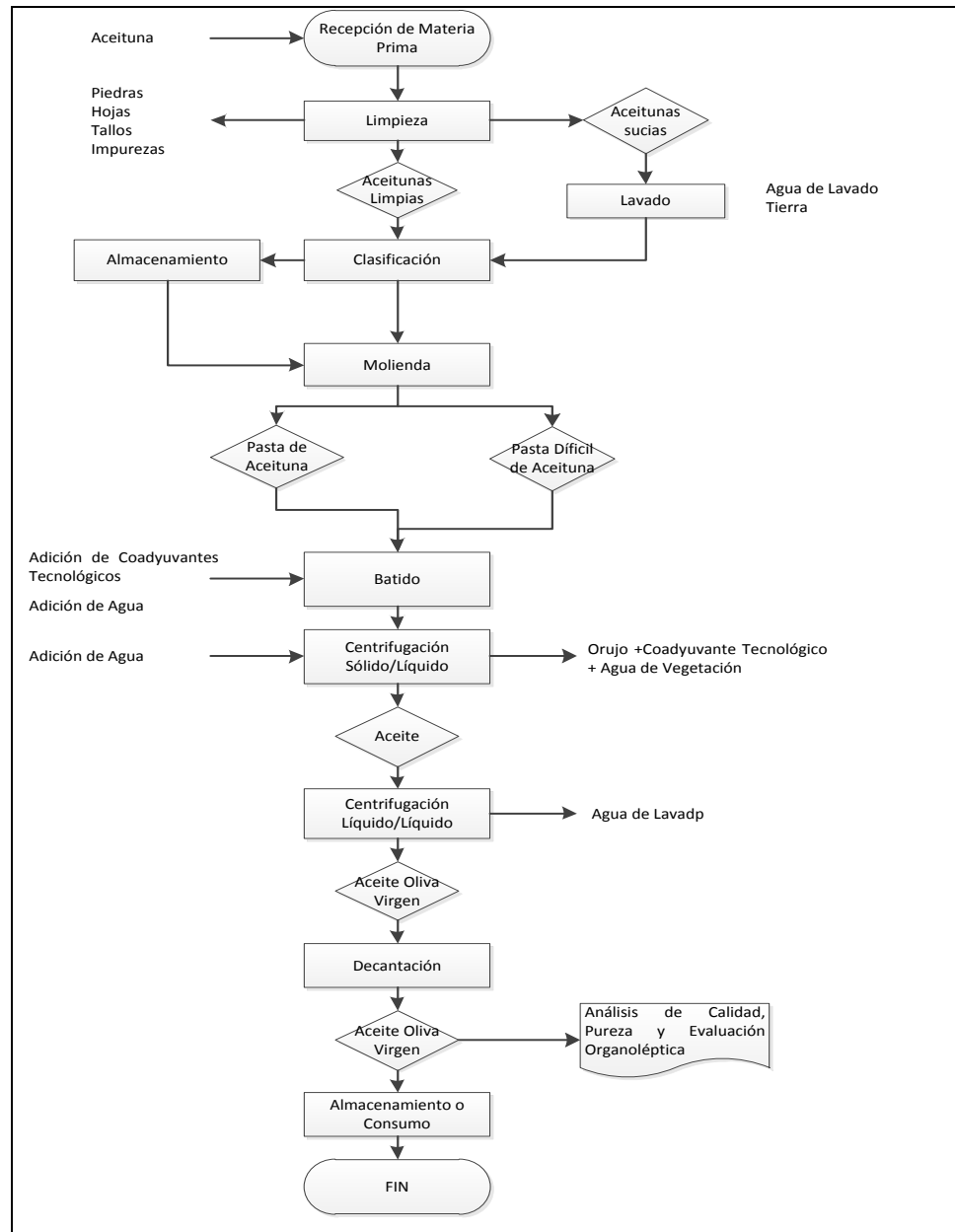
El aceite de oliva está compuesto por dos grupos: componentes mayores ó fracción saponificable y componentes menores. Los componentes mayores representan el 98,5- 99,5% de la composición del aceite de oliva están constituidos en su mayoría por triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, fosfátidos y algunos ácidos grasos libres (Della Porta, 2015). Los compuestos minoritarios representan el 0,5- 1,5% de la composición de los aceites de oliva vírgenes, se encuentra constituido por escualeno 32- 50%, esteroides 20- 30%, alcoholes terpénicos 20-26%, otros hidrocarburos 2,8 – 3,5% y alcoholes alifáticos 0,5%. Así como otros componentes tocoferoles, clorofilas, carotenoides y compuestos fenólicos (Borskou, 1996).

1.2.1 Elaboración de Aceite de Oliva Virgen

El proceso de elaboración de aceite de oliva virgen se inicia con operaciones preliminares desde la recolección en el campo y transporte hasta la recepción del fruto en la almazara, entrando a procesos de clasificación, limpieza, almacenamiento o

procesamiento de la aceituna; en las operaciones posteriores de molienda, batido, centrifugación, filtración y almacenamiento del aceite de oliva virgen, los procesos son controlados con parámetros de producción y calidad de acuerdo a las normas establecidas (Espínola, 2015). La elaboración de aceite de oliva en almazara consta de los siguientes procesos, Figura 1.1.

Figura 1.1 Diagrama de Flujo de proceso de Elaboración de Aceite de Oliva.



Fuente: Adaptado de Espínola (2015).

1.2.1.1 Operaciones Preliminares en Aceituna

La cadena de producción de Aceite de Oliva Virgen se inicia en el campo con operaciones preliminares primordiales ya que influyen en la calidad de aceite final. Las operaciones preliminares en Olivar son (Espínola, 2015):

- a) **Recolección de las aceitunas.-** para iniciar la recolección de la aceituna, esta debe estar en estado de madurez óptimo, se debe seleccionar el tipo de aceituna de vuelo o de suelo y el sistema de recolección adecuado. La aceituna de vuelo para AOV debe ser seleccionada y separada, la selección del sistema de recolección como sistema de ordeño o manual, por vareo (más agresiva) o mecanizado, es primordial ya que debe evitar daños en el fruto y en el olivar.
- b) **Transporte de las aceitunas.-** posterior a la recolección y separación de las aceitunas, estas se transportan a la almazara, en cajas de plásticos aireadas, resistentes y lavables, con capacidad media para evitar procesos fermentativos y aplastamiento del fruto.

Las operaciones preliminares en Almazara son (Espínola, 2015):

- a) **Recepción de Materia Prima.-** la zona de recepción de la almazara, es un espacio amplio en el cual se realiza el pesaje de la aceituna, verificación de calidad, clasificación de la aceituna y descarga en tolvas con cintas de transporte.
- b) **Limpieza y Lavado.-** la clasificación previa de las aceitunas permite determinar el procesamiento que se realizará, las aceitunas son transportadas por las cintas desde las tolvas de almacenamiento evitando movimiento constante, caídas y golpes en el fruto. La limpieza inicia con la exposición del fruto en una placa vibradora y mediante un ventilador contracorriente de aire, en el cual por densidades se eliminan restos de poda. Las aceitunas pasan por un sistema de separación en el cual se eliminan impurezas, piedras o aceitunas pequeñas o defectuosas. A aceitunas con barro, suciedad o provenientes de suelo se procede a lavado en circuito cerrado, en el cual las aceitunas son arrastradas y flotan por un caudal de agua con aire insuflado y los elementos pesados por densidad caen al fondo; en caso de requerir, se aplica doble lavado para eliminar suciedad y tierra.
- c) **Almacenamiento.-** Para comenzar el procesamiento de la aceituna, se determina la clasificación y prioridad de producción, aquellas aceitunas de mejor calidad se

procesan inmediatamente o se almacenan por períodos cortos, evitando una degradación del fruto por amontonamiento, alteraciones en la composición grasa y fermentaciones por microorganismo. En el caso, de aceitunas provenientes de suelo, atacadas por enfermedades o plagas se almacenan por períodos medios hasta su procesamiento de igual manera, controlando calentamiento que provocará alteraciones o defectos posteriores en el aceite.

1.2.1.2 Preparación de la Pasta

La pasta de aceituna es el conjunto heterogéneo que está integrado por una fase sólida constituida por trozos de hueso y pulpa; así como, de una fase líquida constituida por gotas de aceite y agua de vegetación (Di Giovacchino, 1994). Las aceitunas están constituidas por endocarpio, mesocarpio y exocarpio; en el mesocarpio se encuentra el aceite, específicamente en las vacuolas de las células, en forma de gotas pequeñas (Civantos , 2009). La molienda es el primer proceso que permitirá la extracción del aceite de oliva debido a la formación de la pasta y la ruptura de los tejidos. Dando lugar a la presencia de glóbulos de aceite libres o agrupados estables, que se encuentran en contacto con el agua de vegetación; formando una emulsión llamada mosto suelto (Civantos , 2009). La retención de aceite y agua de vegetación en una estructura reticular o la formación de varios sistemas en estado de gel (microgeles), se denomina mosto normal. El proceso de extracción tiene como objetivo obtener la mayor cantidad de aceite ya sea suelto o normal, mediante procesos físicos; no obstante, un porcentaje de aceite queda retenido en la fase sólida (Moreno y López, 2017).

1.2.1.3 Molienda

La molienda es un proceso físico en el cual se rompen los tejidos que componen la aceituna, con el fin de liberar el aceite contenido en las vacuolas de las células vegetales; en esta operación se activan enzimas que generan y transforman compuestos volátiles (Espínola, 2015). El objetivo de la molienda es romper los tejidos celulares de los aceites y liberar la grasas de las vacuolas, permitiendo la formación de glóbulos de aceite; en esta operación las características de las fases de la pasta y composición dependen del grado de molienda (Borskou, 1996).

En la almazara se utilizan diversos tipos de molinos como los molinos con acción de muelas, empiedros o molinos trituradores. Los parámetros fundamentales para realizar el proceso de molienda son (Civantos , 2009):

- Pasta uniforme para mayor agotamiento, mejora la eficacia en el batido.
- Grado de molienda que determina el tamaño medio de la pasta en función del diámetro de los orificios de la criba.
- Aireación reducida en contacto superficial con la pasta, evitando procesos oxidativos y evaporación de volátiles.
- Evitar incorporación de impurezas como materias extrañas o trazas metálicas.
- Velocidad baja para evitar reacciones bioquímicas por calentamiento de la pasta.

1.2.1.4 Batido

El batido de la pasta de aceituna, proceso posterior a la molienda, que permite que los glóbulos de aceite dispersos se agrupen y su tamaño aumente, generando la separación de las fases; adicional, es un proceso complementario para producir el efecto de cizallamiento en la pasta. Los factores tecnológicos que determinan los efectos de calidad y rendimiento graso en el batido son temperatura, tiempo y adicción de coadyuvantes tecnológicos (Moreno y López, 2017). El batido es una operación primordial en la obtención de AOV debido a que influye en la calidad del producto por los procesos intrínsecos, provocando cambios bioquímicos en la composición del aceite y favoreciendo la acción de las enzimas (Inajeros- García, Salvador, y Fregapane, 2011). En la molienda, la ruptura los tejidos celulares liberó moléculas complejas de glucósidos fenólicos que se hidrolizan por la acción enzimática produciendo concentraciones de tirosol e hidroxitirosol. Los compuestos fenólicos simples caracterizados por su solubilidad en la fase oleosa, pueden disminuir su concentración por oxidación provocada por el tiempo de batido (Clodoveo, 2012). Los puntos de control en la operación de batido determinan la calidad del aceite y el rendimiento, por lo cual, las características óptimas a tomar en cuenta en la operación son (Civantos , 2009):

- Velocidad óptima de las paletas móviles entre 15- 20 rpm, altas velocidades provocan la formación de microemulsiones.

- Tiempo de batido entre 50-60 minutos para pasta proveniente de molinos metálicos o 20-30 de molino de empiedros, el excesivo batido de pasta provoca la disminución de compuestos fenólicos y estabilidad oxidativa del aceite.
- Temperatura de batido $\leq 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ o extracción en frío para Aceite de Oliva Vírgenes para obtener aceites de alta calidad.
- Temperatura de batido $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, este factor es indirectamente proporcional con la viscosidad del aceite, por lo cual el exceso de temperatura reduce la viscosidad y altera la calidad del aceite, así como las características organolépticas, provoca pérdida de compuestos volátiles, oxidación lipídica inicial y pérdida de estabilidad.
- Uniformidad de temperatura de pasta de aceituna y control de revoluciones por minuto en las aspas durante el batido.
- Reducción de espacio de oxígeno en contacto con superficie de la pasta.

Los equipos de acero inoxidable que se encuentran en contacto con la pasta de aceituna se denominan termobatidoras. Los tipos de termobatidoras utilizados en la elaboración de aceites son de eje horizontal está compuestas por paletas que giran alrededor de este eje paralelo, la pasta de aceituna circula en cascada manteniendo la temperatura homogénea y el tiempo de batido; o termobatidora de eje vertical compuesta por paletas de mayor diámetro sobre eje perpendicular (Castillo, Torres, y Álvarez, 2007). En la de elaboración de aceite, con la presencia de pastas difíciles las condiciones de tiempo y temperatura cambian (Aguilera, et al., 2010)

- El tiempo de batido aumenta para facilitar la extracción del aceite y producir un rendimiento graso mayor.
- Utilización de coadyuvantes tecnológicos para aumentar el rendimiento graso.
- La adición de agua caliente aumenta la humedad y la temperatura en la pasta difícil, propia de inicio de campaña o con pastas emulsionadas por procesos.

1.2.1.5 Pastas Difíciles

La pasta de la aceituna contiene una fase sólida que puede tener características hidrófilas o lipófilas, de acuerdo a su afinidad por el aceite o el agua de vegetación. Las pastas difíciles son aquellas pastas de aceituna con aspecto de “papilla” que han perdido su estructura parcial o totalmente, de las cuales la extracción de aceite se dificulta por imbibición de la fase líquida (Sanchez, La Rubia , Sanchez, y Pereira, 2007). El aceite de fácil extracción se encuentra contenido en las vacuolas, el resto de aceite se encuentra como microgel, es decir, disperso en el citoplasma dificultando la extracción ya que el aceite no tiene la capacidad de unirse; . Las pastas difíciles se originan por diversos factores como (Sanchez, La Rubia , Sanchez, y Pereira, 2007):

- Frutos poco maduros, firmeza en tejidos de pared celular y concentración de pectinas alta, con elevada capacidad emulsificante; que varían de acuerdo a la variedad y estado de madurez.
- Frutos secos que requieran adición de agua para liberar aceite debido a Relación de la fase líquida y sólida en aceituna insuficiente.
- Frutos con zonas liófilas, producidas por cambios químicos y enzimáticos propios de las aceitunas.
- Frutos que han sido afectados por condiciones climáticas, características varietales, tipo de cultivo, condiciones de riego, ataque de enfermedades o plagas y etapa de recolección.
- Frutos de inicio de campaña o recolección tardía que en operaciones como molienda fina, así como el batido con velocidad y temperatura elevada, que provocan la formación de emulsiones en pastas difíciles.

En el proceso de extracción las pastas difíciles generan inconvenientes como (Beltrán, Sadkaoui, Mohamed , y Jiménez, 2017):

- Formación de papillas: pastas untuosas y gelatinosas con matrices reticulares que retienen la fase líquida, formando emulsiones de aceite y agua estables.
- Disminución de rendimiento graso: el porcentaje de aceite de la extracción de pastas difíciles disminuye en las operaciones y el contenido graso en orujo aumentan, mermando el rendimiento de extracción en el proceso.

- Incremento de batido: en este proceso la residencia de la pasta de aceituna se alarga, con el fin de obtener mayor rendimiento graso de las pastas. Aumentando el tiempo de producción y en algunos casos provocando alteraciones en el aceite.
- Presencia de emulsiones: dificultad de clarificación de aceites que contienen emulsiones estables posterior a separación de fases líquida y sólida. Aspecto lechoso del aceite, en almacenamiento los niveles de humedad, proteínas y pectinas elevados afectando las características organolépticas del aceite provocadas por fermentación.

1.2.1.6 Coadyuvantes Tecnológicos

Para la obtención de Aceites de Oliva Vírgenes, es primordial realizar los procesos de batido a bajas temperaturas. Por lo cual, para mejorar la separación de fases en el batido se adiciona los denominados coadyuvantes tecnológicos. De acuerdo, a la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición, los coadyuvantes tecnológicos se definen como: *“son sustancias que no se consumen como ingredientes alimenticios o como alimentos, que se utilizan intencionalmente en la transformación de materias primas, de productos alimenticios o de sus ingredientes, para cumplir con un objetivo tecnológico determinado durante el tratamiento o la transformación, y que pueden tener como resultado la presencia no intencionada, pero técnicamente inevitable, de residuos de dicha sustancia o de sus derivados en el producto acabado siempre que dichos residuos no presenten riesgo sanitario y no tengan efectos tecnológicos sobre el producto acabado. Los coadyuvantes tecnológicos no son ingredientes de los alimentos y, por tanto, no se incluyen en su etiquetado”*. La adición de coadyuvantes tecnológicos en la pastas difíciles de aceituna mejora la estructura, disminuye la formación de emulsiones y aumenta los rendimientos grasos, por la separación de fases (Sadkaoui, Jiménez, Pacheco, y Beltrán, 2016). Los coadyuvantes tecnológicos autorizados en España como aditivos para la elaboración de Aceites de Oliva son microtalco natural y arcillas caoliníticas (Espínola, 2015).

a) Microtalco natural (MTN)

Microtalco natural o silicato de magnesio, es un producto natural, aditivo alimentario autorizado para elaboración de Aceites de Oliva Vírgenes, con características organofílicas que disminuye la formación de microemulsiones y mejorar el rendimiento graso en pastas difíciles (Sadkaoui, Jiménez, Pacheco, y Beltrán, 2016). El microtalco tiene propiedad aglutinantes que facilitan la adsorción de gotas de aceite retenidas como microgeles, clarificantes del aceite y reductoras de sólidos, así como grasa. El uso como coadyuvante no modifica las propiedades intrínsecas o características organolépticas de la pasta de aceituna ni del aceite obtenido (Moreno y López, 2017). Las dosis establecidas para uso de microtalco en elaboración de AOV se encuentran entre 1- 3%, dosis superiores a las establecidas producen pérdidas de aceite en orujo, por lo cual solo se recomienda su uso en pastas difíciles (Civantos , 2009).

b) Arcilla Caolinítica

La arcilla caolinítica $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$, es una arcilla plástica blanca purificada, utilizada como aditivo alimentario autorizado (E559), su componente mayoritario es el silicato de aluminio, caracterizado por ser un agente antiaglomerante, baja toxicidad que no representa peligro a la salud (AESAN, 2011). La obtención de la arcilla caolinítica a través de yacimiento de arcilla lavada permite su industrialización mediante procesos de molienda, tratamiento húmedo y ciclación (disgregación en contacto con agua, en etapas continuas), tamización y almacenaje (concentración en tanque espesador), filtración y extrusión, secado, molienda de torta arcillosa, extrusión en forma de pellets, ensilado de graneles, molienda de graneles y envasado (AESAN, 2011). La arcilla caolinítica se adiciona en la operación del batido en la pasta de aceituna, facilitando la separación sólido- líquido mediante la acción del coadyuvante, la velocidad y el tiempo adecuados en la termobatidora. Los residuos del coadyuvante se eliminan con el orujo o fase sólida durante el proceso de centrifugación debido a su peso específico 2,6 g/cm³ (AESAN, 2011). El Comité Científico AESAN en 2011, ha evaluado la investigación sobre arcilla caolinítica en la elaboración de AOV como aditivo o coadyuvante tecnológico alimentario autorizado, que no modifica la calidad del aceite

extraído. La dosis máxima establecida para su uso es de 2% con respecto al peso de la pasta de aceituna.

1.3.1.7 Extracción Sólido- Líquido

La extracción sólido- líquido es un proceso u operación continua de separación por centrifugación de las fases que constituyen la pasta de aceituna. La fuerza centrífuga que se ejerce sobre la pasta de aceituna permite la separación del orujo, agua de vegetación y aceite; la fuerza centrífuga es mayor en los componentes más pesados como orujo y agua de vegetación, los cuales ocupan el anillo más próximo a la pared del rotor de la centrifuga horizontal. La densidad del aceite al ser próxima a 0,916 gr/cm³, influye en el proceso de centrifugación, por lo cual ocupa el anillo más próximo al eje de giro de la centrifuga. La humedad de la pasta de aceituna es un factor importante, debido a que si la humedad no es óptima se debe adicionar agua caliente con el fin de favorecer el rendimiento graso, agotando el orujo. Este proceso permite la separación adecuada de las fases, el aceite se separa fácilmente y posterior a la centrifugación se tamiza con el fin de retirar sólidos gruesos que se encuentran en suspensión. (Castillo, Torres, y Álvarez, 2007).

1.3.1.8 Extracción Líquido- Líquido

La separación líquido- líquido es un proceso de limpieza del aceite que se realiza mediante centrífuga vertical; previo al proceso de decantación o almacenamiento. En el proceso de separación de líquidos, se adiciona agua caliente que en contacto directo con el aceite para mejorar la separación de sólidos en suspensión. La temperatura del agua de adición no debe superar la temperatura de 36° C y se debe controlar exhaustivamente. La centrífuga vertical consta de un tambor cónico con discos contiguos que reducen el recorrido de las partículas del aceite por densidad, separando en fases continuas al aceite, el agua y las partículas sólidas (Castillo, Torres, y Álvarez, 2007).

1.3.1.9 Decantación

La decantación es un proceso natural que debido a la diferencia de densidades entre el aceite y otros componentes se separan, depositándose en el fondo del decantador. El sistema de corriente continua permite que el aceite de la parte superior pase la zona media del siguiente decantador, efectivizando el proceso sin producir corriente superficial e impidiendo el retroceso de aceite limpio. El aceite decantado y clasificado se transporta mediante bombas a la bodega de almacenamiento (Castillo, Torres, y Álvarez, 2007).

1.3.1. Almacenamiento

El almacenamiento es la operación final de la elaboración de aceites de oliva, con el fin de conservar el producto en condiciones óptimas evitando su deterioro hasta su consumo. El AOV es considerado como un aceite natural sin conservantes o aditivos, por lo cual se debe evitar su oxidación y alteración de las características organolépticas y calidad en el almacenamiento. En el almacenamiento se debe considerar instalaciones adecuadas para la conservación de aceites, así como unidades de depósito de acero inoxidable, de tamaño adecuado. Los factores que se deben tomar en cuenta para evitar deterioro del producto son luz, temperatura, presencia de metales, compuestos orgánicos propios del aceite ó sedimentos en los depósitos que pueden provocar procesos oxidativos de los lípidos y alteraciones (Espínola, 2015).

II. METODOLOGÍA

La investigación se realizó en el Centro de Investigación y Formación Agraria y Pesquera IFAPA, “Venta del Llano” ubicado en Mengíbar, Jaén. La recolección y selección de la aceituna se realizó en la finca experimental, el procesamiento de extracción de aceite en la almazara y la caracterización del aceite se realizó en el Laboratorio del Centro IFAPA.

2.1 MATERIAL VEGETAL

La recolección de la aceituna se realizó mediante medios mecánicos en la finca experimental del Centro IFAPA, durante la campaña 20017/2018. Los parámetros definidos para la recolección fueron:

- Variedad Picual
- Estado de maduración: medio
- Frutos sanos
- Época de recolección: Diciembre

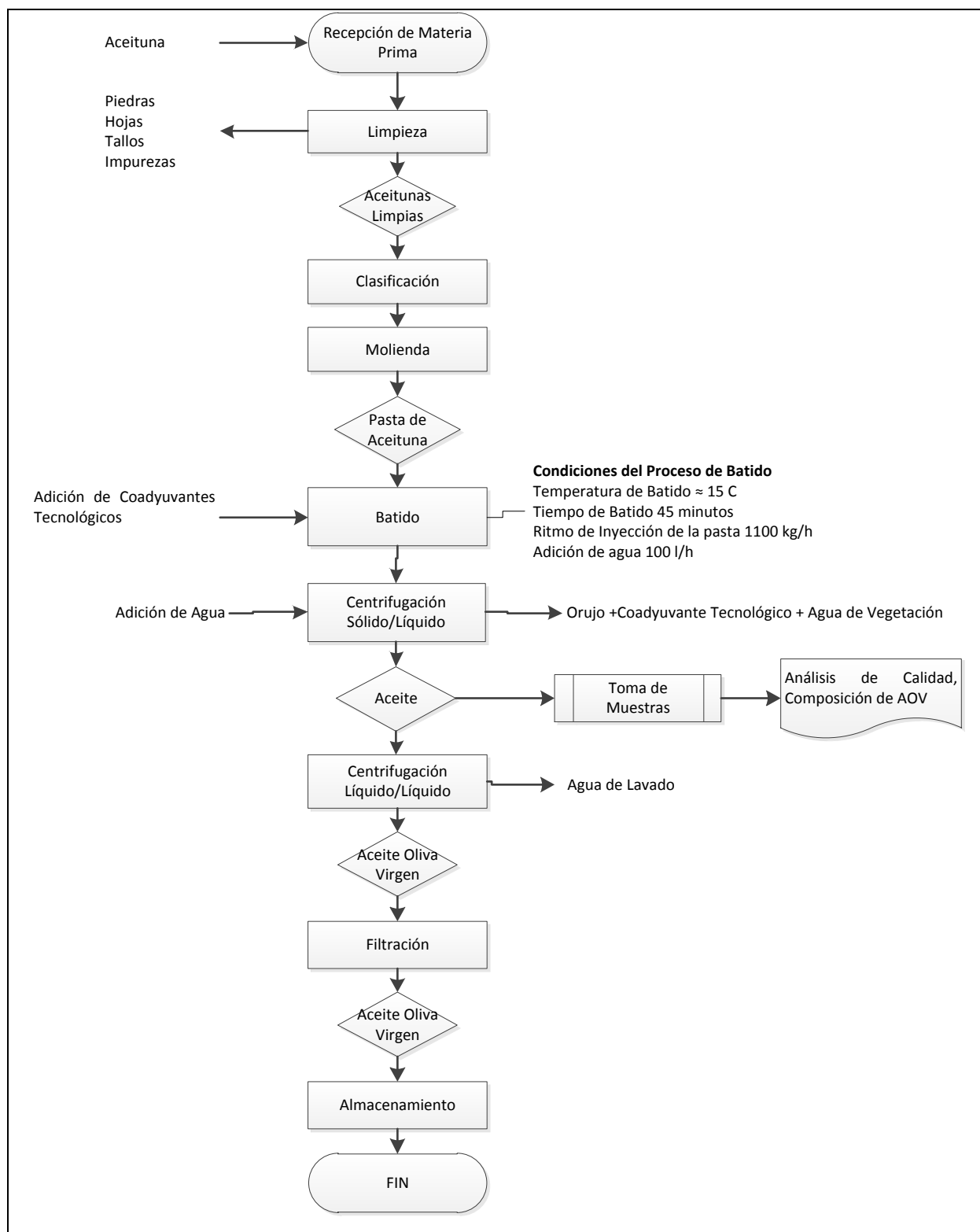
2.2 PROCESO DE EXTRACCIÓN EN ALMAZARA

Una vez recolectadas las aceitunas se transportaron y molturaron en un período menor a 24 horas en la almazara experimental del centro IFAPA “Venta del Llano”, que cuenta con equipos para el proceso de elaboración de aceite de oliva como:

- Molino de martillos Pieralisi equipado con criba de 6 mm
- Tres batidoras Atmospha Module 650, con capacidad de 650 kg y posibilidad de inertización.
- Bomba de inyección de masa al decanter regulable
- Centrífuga horizontal X4 de Alfa Laval
- Centrífuga vertical UVPX 507 de Alfa Laval

El proceso de extracción y toma de muestras se realizó como se observa en la Figura 2.1.

Figura 2.1 Diagrama de Flujo de proceso de Elaboración de Aceite de Oliva Virgen con coadyuvantes tecnológicos en Almazara del Centro IFAPA.



Fuente: Elaboración propia.

2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental se determinó de acuerdo a las dosis de coadyuvantes tecnológicos estudiados, estas se establecieron a través de pruebas preliminares. Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) para un diseño factorial para analizar el efecto de la adición de coadyuvantes tecnológicos en el rendimiento del proceso de extracción y la calidad de aceite de oliva virgen. Se realizaron cuatro ensayos con tres réplicas. El aceite de oliva virgen extraído con la adición de coadyuvantes tecnológicos como talco y arcilla caolinítica, se comparó mediante el programa Infostat 2008, en el cual se realizó el análisis de varianza para determinar la diferencia significativa entre ensayos; se comparó los ensayos por triplicado aplicando el método de Tukey calculando los valores críticos con un 95% de confiabilidad. El talco utilizado es el denominado FC (Mondo Minerals Amsterdam) y arcilla caolinítica empleada es la denominada Koliva Amarilla (Agrovital, España). El diseño experimental se muestra en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1 Diseño Experimental

Tratamientos	Dosis %
Blanco Testigo	---
Talco	0,5
Arcilla Caolinítica	1
Arcilla Caolinítica	2

Fuente: Elaboración propia

2.3.1 Toma de muestras

Durante el procesamiento de la aceituna, se tomaron muestras por triplicado de aceituna, orujo y aceite. Las muestras de materia prima o aceituna se recogieron en la segunda pesadora automática que se encuentra ubicada antes del molino. La toma de muestras de aceituna se realizó homogéneamente, de manera representativa con 3 kg de peso. Las muestras de orujo de oliva de cada ensayo, se tomaron de la tubería que está dispuesta para el transporte de orujo a la deshuesadora, mediante la llave

adecuada al sistema que permite realizar este proceso de manera sencilla. En cambio, las muestras de aceite de cada ensayo se realizó a la salida del decanter; las muestras se envasaron en botellas de vidrio de 1 L y se tomaron 3 muestras de cada ensayo. Los aceites fueron filtrados y almacenados a – 24 °C hasta su análisis.

2.4 DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN EL FRUTO

2.4.1 Criterios de Control para Aceituna

2.4.1.1 Índice de Madurez

El valor del índice de madurez (IM) determina el estado de maduración del fruto por el color del endocarpio y mesocarpio de la aceituna. Uceda y Frías, 1975, establecen que se toma 100 aceitunas de la muestra, posteriormente se clasifica el fruto mediante las clases de maduración de 0 a 7 y se calcula el Índice de Madurez con la siguiente ecuación:

$$IM = \frac{(a*0 + b*1 + c*2 + d*3 + e*4 + f*5 + g*6 + h*7)}{100}$$

En donde Tabla 2.2:

Tabla 2.2 Índice de Madurez determinado por estado de maduración de aceituna

Índice de Madurez		Descripción
a	Clase 0	Piel verde intenso
b	Clase 1	Piel verde amarillento
c	Clase 2	Inicio de envero. Piel verde con manchas rojizas en menos de la mitad del fruto
d	Clase 3	Final de envero. Piel rojiza o morada en más de la mitad del fruto.
e	Clase 4	Piel negra y pulpa blanca.
f	Clase 5	Piel negra y pulpa morada sin llegar a la mitad de la pulpa.
g	Clase 6	Piel negra y pulpa morada sin llegar al hueso.
h	Clase 7	Piel negra y pulpa morada sin llegar al hueso.

Fuente: Obtenida de Civantos (2009)

2.4.1.2 Peso medio de Aceitunas

El peso medio de aceituna se determina por el pesaje en una báscula de precisión de $\pm 0,01$ g de 100 frutos enteros escogidos al azar. Para determinar el peso medio de la aceituna se utiliza la siguiente fórmula:

$$P (g) = \frac{\sum_{i=1}^{100} P_x}{100}$$

Donde:

P = peso medio aceituna (g)

P_x = peso aceituna n (g)

2.4.1.3 Humedad

La determinación de humedad de las muestras de aceituna, se realiza mediante molturación de un porcentaje representativo del fruto en un molino de martillos de acero inoxidable de la marca Abencor. Posteriormente se homogeniza la pasta de aceituna y se pesa 30 g en una báscula con precisión $\pm 0,01$ g. Se prepara la pasta de aceituna (30 g) se coloca y se extiende en papel de poliéster resistente al calor en cápsulas de acero; proceso previo a desecación en estufa de circulación forzada a 105 °C, ± 1 °C, mediante el peso se determina la diferencia entre pesajes continuos que no excedan el 0,05%. La humedad de la aceituna se calcula mediante la fórmula:

$$H (\%) = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$$

Donde:

P_i: peso inicial de la muestra en gramos

P_f: peso final de la muestra en gramos

2.4.1.4 Contenido graso sobre materia seca

La pasta de aceituna desecada se utiliza para determinar el contenido graso, mediante resonancia magnética nuclear Minispec mq10 RMN (Bruker Analytik GmbH, Alemania). La espectroscopia de RMN es un método utilizado para el análisis de lípidos en alimentos, en grasas y aceites; mediante un sistema de campo magnético de baja

intensidad determina el porcentaje de grasas en las muestras sólidas, semisólidas y agua de vegetación. Para la medición del contenido graso mediante RMN se realiza la calibración de la máquina con patrones con una cantidad conocida de aceite. Se procede a tomar las muestras desecadas de 30 g de aceituna molida y homogenizada ligeramente, se introducen en un tubo de cristal de 100 cm³ de volumen, que no superan los 3 cm de altura dentro del mismo. Se realizaron tres mediciones por muestra y se determinó la media de los tratamientos. El contenido graso sobre materia seca se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$GMS (\%) = \frac{GMH}{100 - H} * 100$$

Donde:

GMH: contenido graso sobre materia húmeda

H: humedad

2.5 DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN EL ORUJO

Las muestras de orujo recolectadas durante el proceso de elaboración de los ensayos, se realizaron pruebas de humedad, contenido de materia grasa en húmedo y contenido de materia grasa en seco y se analizaron en el laboratorio del centro IFAPA “Venta del Llano”. De manera que, el contenido graso en orujo determina el rendimiento de aceite en los ensayos con coadyuvantes tecnológicos.

2.5.1 Humedad

La determinación de humedad en el orujo se realiza mediante la homogeneización de estas muestras, se procede a desecar de 30 g de cada orujo proveniente de los ensayos a 105 °C (± 1 °C) en una estufa con circulación forzada, hasta que la establecer la diferencia entre pesos consecutivos que no excedan del 0,05 %. La humedad se determina mediante la ecuación:

$$H (\%) = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$$

Donde:

P_i: peso inicial de la muestra en gramos

P_f: peso final de la muestra en gramos

2.5.2 Contenido graso sobre materia húmeda y seca

La pasta de orujo de oliva desecada se utiliza para determinar el contenido graso, mediante resonancia magnética nuclear Minispec mq10 RMN (Bruker Analytik GmbH, Alemania). La espectroscopia de RMN es un método utilizado para el análisis de lípidos en alimentos, en grasas y aceites; mediante un sistema de campo magnético de baja intensidad determina el porcentaje de grasas en las muestras sólidas, semisólidas y agua de vegetación. Para la medición del contenido graso mediante RMN se realiza la calibración de la máquina con patrones con una cantidad conocida de aceite. Se procede a tomar las muestras desecadas de 30 g de aceituna molida y homogenizada ligerante, se introducen en un tubo de cristal de 100 cm³ de volumen, que no superan los 3 cm de altura dentro del mismo. Se realizaron tres mediciones por muestra y se determinó la media de los tratamientos. El contenido graso sobre materia seca se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$CGMH (\%) = \frac{CGMH}{100 - H} * 100$$

Donde:

GMH: contenido graso sobre materia húmeda

H: humedad

2.6 DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE CALIDAD DE AOV

2.6.1 Acidez libre

La acidez libre determina la cantidad de ácidos grasos libres, expresado como porcentaje de ácido oleico, se realizó el método establecido por el Reglamento 1830/2015, en cual se realiza una valoración ácido-base en muestra no acuosa, que se disuelve en una disolución de alcohol-éter etílico y utilizando fenolftaleína como indicador. En un matraz Erlenmeyer de 250 ml, se pesa 5g de aceite ($\pm 0,1$ g), se procede a disolver con 50 ml de alcohol etílico-éter etílico (1:1) y posteriormente se neutraliza con hidróxido potásico (KOH) 0,1 N, utilizando fenolftaleína como indicador que permite el cambio de color a rosa; valorando la muestra. La acidez libre calcula el % ácido oleico mediante la ecuación:

$$\text{Grado de acidez (\% \acute{a}cido oleico)} = \frac{V * N * 282}{10 * P}$$

Donde:

V = Volumen de KOH gastado en ml

N = Normalidad de la disoluci3n alcalina utilizada

P = Peso del aceite en gramos

2.6.2 \u00cdndice de per\u00f3xidos

El \u00cdndice de per\u00f3xidos determina el estado de oxidaci3n primaria, es decir, los miliequivalentes de ox\u00edgeno activo por kilogramo de aceite; se realiza el m\u00e9todo establecido por la Uni3n Europea Reglamento 1830/2015. El an\u00e1lisis consiste en pesar 1,5 gramos de aceite ($\pm 0,01$ g) en un matraz de cierre esmerilado de 250 ml, se procede a disolver con 25 ml de \u00e1cido ac\u00e9ticocloroformo (1,5:1), posteriormente se adiciona soluci3n de yoduro pot\u00e1sico sobresaturada y se agita durante un minuto; se coloca en oscuridad durante 5 minutos. Se agrega 75 ml de agua destilada, se agita vigorosamente, se a\u00f1ade almid3n como indicar y se valora con tiosulfato s\u00f3dico 0,002 N, hasta visualizar el cambio de color de violeta a blanco. El \u00cdndice de per\u00f3xidos se establece mediante el c\u00e1lculo con la siguiente f\u00f3rmula:

$$\text{\u00cdndice de per\u00f3xidos (meq } O_2/\text{kg)} = \frac{(V - V_0) * N * 1000}{P}$$

Donde:

V = ml de tiosulfato s\u00f3dico gastado en la muestra

V₀ = ml de tiosulfato s\u00f3dico gastados en la prueba en blanco

N = Normalidad del tiosulfato s\u00f3dico

P = Peso de la muestra en g

2.6.3 Absorbancia UV (K₂₃₂ o K₂₇₀)

K₂₃₂ o K₂₇₀ es un m\u00e9todo de absorbancia a la radiaci3n ultravioleta m\u00e1xima a longitud de onda de 232 y 270 nm, como par\u00e1metro de calidad determinan la presencia de los productos de oxidaci3n primaria y secundaria. Se realiz3 el an\u00e1lisis mediante el m\u00e9todo oficial de la Uni3n Europea, establecido en el Reglamento 1830/2015. En matraz de 10 ml se pesa 0,1000 gramos de aceite ($\pm 0,01$ g), se adiciona ciclohexano hasta enrasar,

se tapa y se agita; posteriormente se coloca la disolución en cubeta UV de 10 mm, primeramente cubeta con ciclohexano y con las muestras de aceite de cada ensayo. Se coloca en espectrofotómetro de marca Varian 50 Bio UV-visible. Los resultados se expresan de la manera siguiente:

$$K_{232 \text{ o } 270} = \frac{L}{C \cdot e}$$

Donde:

L = Lectura a 270 o 232 nm

C = Concentración de la muestra en g/100 ml

e = Espesor de la cubeta en cm

2.6.4 Ésteres alquílicos

Los esteres alquílicos del aceite de oliva virgen de los ensayos se determinaron por cromatografía de gases mediante el análisis establecido por la Unión Europea Reglamento 1830/2015. El procedimiento establece que se debe pesar 0,1 g de aceite ($\pm 0,01$ g) en matraz Erlenmeyer de 25 ml, se adiciona 1 ml de n-hexano/éter etílico y el patrón interno que es heptadecanoato metílico. A la muestra se le adiciona Sudán, con el fin de controlar la elución de los ésteres metílicos y etílicos; en la columna de vidrio se introduce 3 gramos de gel sílice en suspensión con n-hexano/éter etílico 98:2 y se coloca la muestra de aceite preparada anteriormente lo que permitirá transferir por la columna los ésteres junto con 100 ml del disolvente n-hexano/éter etílico 98:2 hasta alcanzar 1 mm por encima del nivel superior del absorbente, abriendo la llave de la columna se recoge en un matraz de corazón de 150 ml las muestras con las fracciones de ésteres. Mediante el rota vapor se elimina el exceso del disolvente, se elimina exceso de humedad con nitrógeno y se adiciona 1 ml de n-heptano, para posteriormente pasar a un vial de 1,5 ml y proceder a lectura en cromatografía de gases. La cromatografía de gases sucede en el equipo Bruker 436 que cuenta con detector de ionización de llama (FID) y un inyector automático Varian PTV, columna capilar Agilent de 15 m de longitud, 320,0 μm de diámetro interno y 0,1 μm de espesor de película, usando como gas portador Helio.

Las condiciones de temperatura del horno son de 80 °C durante 3 min hasta 140 °C incrementando posteriormente hasta 335 °C, y el proceso continua con la inyección de un volumen de 1µL de muestra. El tiempo de análisis fue de 64 minutos. El cálculo de la concentración de esteres se realizó mediante la siguiente formula:

$$\text{Ésteres (} \frac{mg}{kg} \text{)} = \frac{Ax * ms * 1000}{As * m}$$

Donde:

Ax = área del pico de cada éster C16 y C18, en milímetros cuadrados

As = área del pico del patrón interno heptadecanoato metílico, en milímetros cuadrados

Ms=masa del patrón interno heptadecanoato metílico que se ha añadido, en miligramos

m = masa de la muestra tomada para la determinación, en gramos.

2.7 DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE COMPOSICIÓN DE AOV

2.7.1 Compuestos Volátiles

La presencia de los compuestos volátiles (responsables del aroma) en el AOV se forman mediante la ruta de la lipoxigenasa (oxidación enzimática de los ácidos grasos poliinsaturados), siendo los componentes de 6 y 5 átomos los predominantes, caracterizados por ser altamente volátiles, bajo peso molecular y solubilidad en aceite y etanol (Angerosa , 2002). Para determinar compuestos volátiles se toma una muestra de 1,00 gramos de aceite ($\pm 0,01$ g) de cada ensayo, en frascos de vidrio de 10 ml con tapa y posteriormente se eliminaba el exceso de oxígeno con bomba de nitrógeno UN 1066. Se determinan los compuestos volátiles que se encuentran en el espacio de cabeza del frasco de vidrio mediante cromatógrafo de gases Bruker SCION 456 GC-TQ (Bruker, Billerica, MA), °C. La identidad de los volátiles se confirma mediante el uso de utilizo helio como gas transportador, la columna se mantuvo a a 40 °C durante 5 min y se programó un incremento de 4°C por min hasta alcanzar 200 °C. la identidad de los compuestos volátiles fue confirmada mediante el espectrómetro de masas Bruker SCION 456 TQ-SQ (Bruker, Billerica, MA) trabajando en modo EI (70 eV) y el empleo de la librería NIST y los tiempos de retención de los patrones puros. El espectro de masas se obtuvo en modo full-scan. La cuantificación de los compuestos se determinó mediante rectas de calibrado individuales para cada compuesto identificado. Los resultados se expresan como mg/kg mediante el software Bruker Chemical Analysis.

2.7.2 Pigmentos

Los pigmentos como clorofilas y carotenoides se determinan mediante la disolución de una muestra proveniente de los ensayos, de la cual se pesa 1,5000 g ($\pm 0,01$ g) en báscula de precisión, se adiciona ciclohexano hasta enrasar el matraz de 10 ml y se procede a colocar la muestra en cubeta desechable PMMA/759105 y a la lectura espectrofotométrica con el programa Cary Win UV Advanced Reds; que determinó los valores de 472 y 670 nm respectivamente para cada pigmento. Los carotenoides se cuantifican mediante la medida de la absorbancia a 470 nm, que corresponde a la luteína y las clorofílicas por la absorbancia a 670 nm que corresponde a la feofitina. La lectura espectrofotométrica se ha llevado a cabo mediante un espectrofotómetro HP 8452 A (Hewlett Packard).

La concentración de pigmentos clorofílicos y carotenoides se expresa en mg/kg y se determina mediante la fórmula:

$$\text{Carotenos} = \frac{\text{Abs } 470\text{nm} \times 50}{P}$$
$$\text{Clorofilas} = \frac{\text{Abs } 670\text{nm} \times 163,13213}{P}$$

En donde:

Abs 470 nm = absorbancia a la λ de medida de carotenos

Abs 670 nm = absorbancia a la λ de medida de clorofilas

P = peso de la muestra de aceite en gramos

2.7.3 Tocoferoles

El análisis de tocoferoles se realiza mediante el método 2432 de la IUPAC (IUPAC, 1992). Se realiza el pesaje de las muestras con 1,5000 g de aceite ($\pm 0,01$ g) que se enrasa hasta volumen final de 10 ml con Isopropanol 0,5 % en n-hexano fase móvil; que será utilizada en el análisis cromatográfico. Posteriormente, el matraz con la muestra se agita hasta homogenizar y se extraer 1,5 ml a un vial. Mediante el equipo de cromatografía de líquidos (HPLC) constituido de bomba isocrática, Agilent technologies 1200 series, un detector UV de longitud de onda programable, columna Lichrosphere Si60 (Merck) de 250 mm de longitud 4,6 mm de diámetro interno y un tamaño de partícula de 5 μm . Se realiza la detección a una longitud de onda de 296 nm

y a una temperatura de 25 °C. Se inyecta un volumen de muestra de 20 µl y la duración del análisis es de 20 minutos. La identificación de los tocoferoles se realiza determinando los tiempos de retención con los patrones puros (Sigma). La cuantificación se realiza con rectas de calibrado. Los resultados se expresan en mg/kg.

2.7.4 Compuestos Fenólicos

2.7.4.1 Polifenoles Totales

La determinación para el contenido de polifenoles totales se realiza mediante el método establecido por Vázquez-Roncero y otros (1973); con adaptaciones de concentraciones, centrifugación y tiempo. Se pesa 1 g ($\pm 0,01$ g) de aceite en un tubo falcón de 15ml, se adiciona 5 ml de n-hexano, se agita durante 15 segundos, se adiciona 2 ml de metanol:agua (60:40) y se procede a agitar durante 90 segundos. Posteriormente se procede a centrifugar a 4000 rpm durante 6 minutos, con el fin de separar las dos fases líquidas obtenidas. En un matraz aforado de 10 ml se extrae la fase inicial del tubo, esta operación se repite tres veces y se enrasa con agua destilada, dejando en reposo hasta el día siguiente. El contenido se coloca en vasos de plástico, para la dilución en matraces de 50 ml; las concentraciones dependen del valor de amargor K_{225} , se adiciona 2,5 ml de reactivo Folin-Ciocalteu y se agita. Posteriormente, se adiciona 5 ml de NaOH al 6% y se procede a enrasar el matraz. La solución se lee en espectrofotómetro Varian 50 Bio UV-visible, mediante el programa Cary Win UV Advanced Reds. Para el cálculo de los polifenoles totales se utiliza la ecuación:

$$\text{Polifenoles totales (ppm)} = \text{Lectura espectrofotometro} * F$$

Donde:

F = Valor numérico dependiendo del amargor del aceite Amargor (K_{225})

2.7.4.2 Polifenoles Cualitativos

La determinación para el contenido de polifenoles cualitativos se establece por Beltrán (2000), en el cual se pesa 1,5 g ($\pm 0,01$ g) de aceite en un tubo falcon de 15ml, se adiciona 100 µl de ácido siríngico como patrón, se elimina exceso de metanol con nitrógeno, se adiciona 1 ml de Hexano HPLC y se procede a agitar durante 15

segundos. Posteriormente se añade 1,25 ml de MeOH HPLC: H₂O (60:40), se agita nuevamente durante 30 segundos, se procede a centrifugar a 4000 rpm durante 6 minutos, en un matraz de bola de 2,5 ml se extrae la fase inicial del tubo, esta operación se repite dos veces y se enrasa con metanol:agua (60:40) y se extrae con pipeta de cristal pasando a vial de 1,5 ml la solución. Se inyectan las muestras en el cromatógrafo Hewlet Packard 1110 con Bomba Cuaternaria, con termotización de columna, que cuenta con un muestreador automático con diodearray y fluorescencia. Mediante la columna de RP18 Pecosphere de 83 mm, 4,6 mm de un tamaño de partícula 3 µm, se realiza la separación. La detección se realiza a 280 nm para los compuestos fenólicos, a 25 °C para el muestreador y el equipo de termotización de la columna; con velocidad de flujo de 0,45 mL/min. La fase móvil está constituida por A=ácido acético(2%) en H₂O y B= ácido acético(2%) en Metanol, para un período de análisis de 70 minutos con el siguiente gradiente de 90 % a 10 % B durante 10 min., 80% A 20 % durante 2 min, 60 % A /40 % B durante 10 min. ,50% A /50 %B en 10 min. y 0% A /100% B en 10 min. , de manera que se inyectaron 20 mL del extracto. Por lo cual, se determinaron los espectros UV-Visible para la caracterización de cada uno de los compuestos fenólicos separados durante el análisis, en el rango de 190 a 400 nm, por medio del detector diodearray del cromatógrafo líquido. La identificación de los compuestos fenólicos se realiza determinando los tiempos de retención con los patrones puros (Sigma), de manera que la cuantificación de las áreas de cada compuesto se determina mediante el software Agilent ChemStation. Los resultados se expresan en mg/kg.

2.7.4.3 Amargor K₂₂₅

El análisis de amargor K₂₂₅ se determina mediante el método de Gutiérrez y Perdiguero (1992). La muestra de cada ensayo es pesada 1 g de aceite (± 0,1 g) en botecitos de vidrio, se utiliza columnas de extracción en fase sólida SPE C18 (Baker, J.T) que se activa con metanol 5 ml, se realiza la adición de 5ml de n-hexano por la columna; se procede a adicionar el aceite disuelto en 5 ml de n-hexano y se coloca en la columna SPE, se lava el vial con hexano hasta eliminar cualquier resto de grasa en el relleno de la misma. Se realiza una elución los compuestos amargos retenidos en la columna con

metanol: agua (50:50) que se hace pasar en volúmenes de 5 ml en cuatro ocasiones. El eluato se acumula en matraz hasta aforar hasta volumen final de 25 ml con metanol: agua (50:50). Se coloca en cubeta desechables y espectrofotómetro Varian 50 Bio UVvisible determina mediante la medida a 225 nm.

2.7.5 Ácidos Grasos

Los ácidos grasos, compuestos orgánicos presentes en fracción lipídica, cadena larga que estructuralmente está formada por una cadena hidrocarbonada y un grupo carboxílico. El número de enlaces de la cadena hidrocarbonada determina la clasificación de los ácidos grasos en (Lozano , Segura , y Fernández , 2010). Mediante el método establecido por el reglamento Europeo 2568/91, se determina la composición de ácidos grasos. En matraz se pesa 0,3 gramos de aceite ($\pm 0,01$ g), se coloca en placas de destilación con temperatura de 250 °C y con el fin de realizar una destilación lenta y condensador de agua. Se adiciona 2,5 ml de metilato sódico durante 10 minutos hasta ebullición. Se retira la muestra y se enfría; se traspasa la solución a tubo de cristal y se adiciona 2 ml de Heptano HPLC, se repite el procedimiento 3 veces hasta enjuagar bien. Se enrasa el tubo de cristal con la muestra con salmuera que permitirá la separación del disolvente orgánico de la fase acuosa, agitar lentamente y dejar en reposo 24 horas. Las obtener fases separadas se extrae y se coloca en vial de 1,5 ml. La separación se realiza mediante cromatógrafo de gases de la marca Perkin-Elmer Autosystem que tiene un detector de ionización de llama (FID) e inyector automático. Está constituido por una columna capilar BPX70 de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro y 25 μ m de película (SGE Scientific Pty Ltd Australia) el gas portador es helio y la temperatura en el horno es de 198 °C (isoterma); la temperatura del inyector modo Split /splitless, es de 235 ° y la temperatura en el detector es de 245°C. La muestra se inyecta en volumen de 2 mL y cada determinación se realiza en 40 minutos. La lectura y cuantificación de datos obtenidos del análisis de ácidos grasos se realiza mediante el programa Star Varian Interactive Graphics.

III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERÍSTICAS DEL FRUTO

Las características de la aceituna recolectada en la campaña 2017/2018, en la finca experimental del IFAPA, se muestran en la Tabla 3.1

Tabla 3.1 Características de la aceituna de variedad “Picual” (N=3), utilizada como materia prima para realizar los ensayos del efecto de la adición de arcillas caoliníticas en el rendimiento del proceso de extracción y la calidad del AOV.

	Peso medio (g)	IM	Humedad (%)	CGMH (%)	CGMS (%)
Aceituna	3,12	3,47	44,17±1,24	25,54±0,53	45,76±1,15

Fuente: Elaboración propia

Donde:

IM= Índice de Madurez

CGMH=Contenido graso de materia húmeda

CGMS= Contenido graso de materia seca

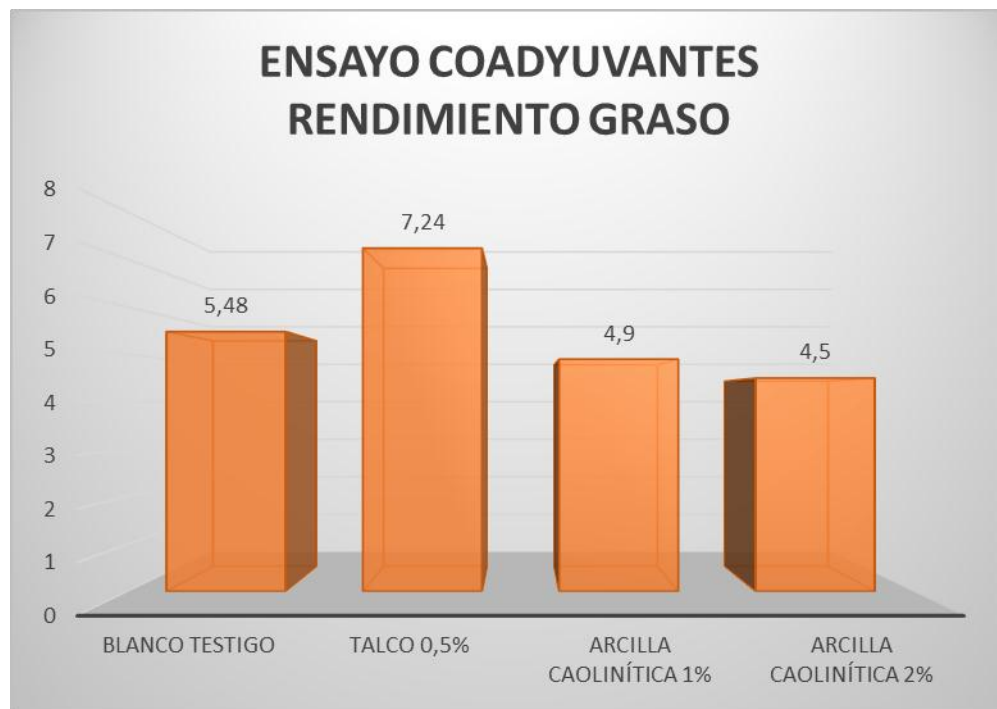
Barranco (2004), el peso medio de las aceitunas provenientes de la variedad “Picual” es de 3,2 gramos, presenta un alto contenido graso y extractabilidad buena. Algunas variedades de aceitunas presentan cambio de color como “Picual”, “Hojiblanca”, “Lechín” entre otras; el valor óptimo de índice de madurez es 3,5. Las aceitunas de la campaña 2017/2018 presentaron un peso promedio de 3,12 que en correlación con la información de Barranco (2004), se encuentra dentro de un menor rango establecido en cuanto al peso medio del fruto; el peso de las aceitunas puede verse afectado por deshidratación provocada por la época de recolección y el estado de madurez. Por lo cual, al determinar la humedad del fruto que es del 44% y el índice de madurez del 3,47, se corrobora que se encuentra dentro de los límites establecidos para un estado de maduración óptimo para su variedad y que el contenido de humedad es bajo debido a la época de recolección. Tapia y Arancibia (2008), determinan que las aceitunas de la variedad “Picual” al ser recolectadas en estado de madurez entre 3-4, su humedad

fluctúa entre el 54%, el contenido graso en húmedo es del 20% y el contenido graso de materia seca en 42%. Al comparar los valores con la bibliografía anterior, se determina que los valores son mayores ya que en el análisis de contenido graso, realizado a través de Resonancia Magnética o RMN, la aceituna de la variedad “Picual” presentó 26% de contenido graso en húmedo y 46% de contenido graso en materia seca. En cualquier caso se trata de un fruto con humedad baja.

3.2 CARACTERÍSTICAS DEL ORUJO

El orujo de oliva está constituido por la materia seca de la cual se ha extraído aceite, con gran cantidad de agua y residuo graso (Cegarra , Alburquerque , Gonzálvez, y García, 2004). En pastas difíciles, el rendimiento graso de la pasta de aceituna decrece debido a la disgregación y retención de las gotas de aceite, así como la formación de micro emulsiones con la fase acuosa. Con el fin de facilitar el proceso de extracción de aceite, se adiciona coadyuvantes tecnológicos que permiten la recuperación de la fase oleosa evitando altas temperaturas y períodos de tiempo prolongados en la batidora, que posteriormente serán eliminados en el proceso de centrifugación junto con el orujo. El Reglamento CE 1513/2001 y BOE 2015, establecen que se autoriza el uso de talco y la arcilla caolinítica como coadyuvantes tecnológicos en el proceso de extracción de aceite de oliva vírgenes. En base al Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) 2011, los porcentajes de adición de coadyuvantes tecnológicas están definidos para talco entre 1-3% y para arcilla caolinítica máximo 2%. En la presente investigación, la dosificación de talco es de 0,5% y de arcilla caolinítica de 1% y 2%, respectivamente. Para determinar la influencia de los coadyuvantes sobre el rendimiento graso de la aceituna en el proceso de extracción se analiza las características del orujo de oliva. En la Tabla 3.2 se muestra los resultados de H, CGH y en la Figura 3.2 se determina la variación de CGMS en los diferentes ensayos.

Figura 3.2 Efecto del empleo de Coadyuvantes tecnológicos con respecto a CGMS en las muestras de Orujo de Oliva (N=3).



Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.2 Características del orujo de oliva de variedad “Picual”. Análisis del comportamiento de parámetros como humedad, contenido graso húmedo y contenido graso en materia en las muestras (N=3).

Tratamiento Orujo/ Coadyuvante	Humedad (%)	CGH (%)	CGMS (%)
Blanco Testigo	63,11±0,36	2,02±0,10	5,48±0,31
Talco 0,5%	61,11±0,35	2,82±0,10	7,24±0,21
Arcilla Caolinítica 1%	61,14±1,01	1,91±0,04	4,90±0,17
Arcilla Caolinítica 2%	62,19±0,47	1,70±0,08	4,50±0,22

Fuente: Elaboración propia

Una vez comparados los valores del estudio, se observó las diferencias significativas. Se comparó mediante el análisis de Tukey con el 95% de confiabilidad y al 5% de error, es decir valor de $p = 0,05$. Se determinó que los porcentajes de desviación estándar menor al 10%, se encuentran dentro de los parámetros de aceptabilidad. Como se observa en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3 Análisis de varianza de características del orujo de oliva de variedad “Picual” con coadyuvantes tecnológicos. Análisis del comportamiento de parámetros como humedad (Desviación estándar: 0,98%), contenido graso húmedo (Desviación estándar: 4,07%) y contenido graso en materia seca (Desviación estándar: 4,24%) en las muestras (N=3).

Tratamientos	Humedad (%) Rango		P Valor	CGH (%) Rango			P Valor	CGMS (%) Rango			P Valor
Blanco Testigo		B	0,0152			C	<0,001		B		<0,0001
Talco 0,5%	A				B					C	
Arcilla Caolinítica 1%	A			AB				AB			
Arcilla Caolinítica 2%	AB			A				A			

Fuente: Elaboración propia

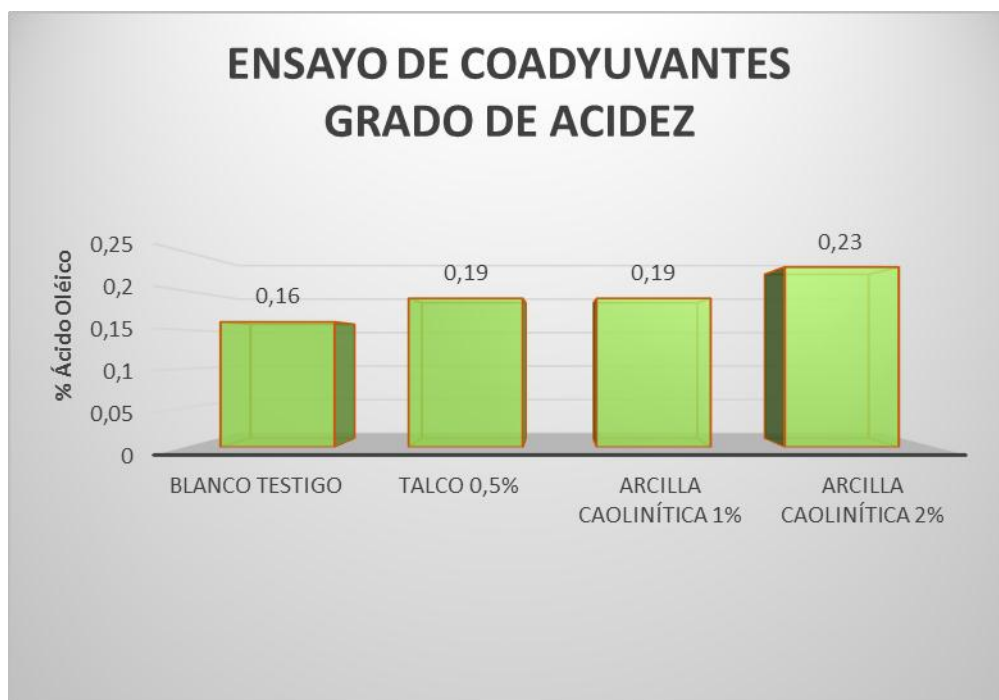
El orujo contiene porcentajes de aceite a consecuencia de los procedimientos mecánicos, la humedad del orujo está directamente ligada a estos procesos; así como a la humedad del agua de vegetación y la adición de agua en las operaciones de batido y centrifugación. Civantos (2009), expone que los porcentajes establecidos para orujo obtenido mediante un decanter de 2 fases, en cuanto a humedad es de 55-61%, contenido graso en húmedo 2,3-3,4% y el contenido de grasa en materia seca entre 6,0-7,5%. En cambio en el estudio de García, Ramos y Ballesteros (2005), estipulan que la humedad en orujo de Jaén es de 60% y el contenido graso húmedo es 2,20% mediante análisis utilizando RMN. En general, la utilización de arcilla caolinítica permitió la obtención de mejores rendimientos industriales. El aumento de la dosis de arcilla caolinítica dio lugar a valores de CGMS más bajos, sin que haya diferencias significativas entre las dosis envasadas. Sin embargo, la adición de talco presentó peores rendimientos, estos resultados de baja eficiencia en la extracción podría explicarse por la humedad reducida en el fruto. En conclusión, el contenido graso de los orujos para los ensayos de arcilla caolinítica es menor respecto del tratamiento con talco. Este comportamiento diferente entre talco y arcillas caoliníticas podría indicar un mejor funcionamiento de las arcillas a humedades de fruto más bajas mientras que el uso del talco no sería recomendable en estas circunstancias ya que requería una humedad más elevada en el fruto.

3.3 DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE CALIDAD DEL AOV

3.3.1 Grado de Acidez

El grado de acidez determina la cantidad de ácidos grasos libres, expresado como porcentaje de ácido oleico; es el primer criterio de calidad para categorizar a los aceites de oliva y determinar alteraciones (Borskou, 1996). De acuerdo al Reglamento (CEE) No 2568/91(2016), el grado de acidez para Aceite de Oliva Extra Virgen es $\leq 0,8$ y para Aceite de Oliva Virgen $\leq 2,0$. Como se establece en la tabla , el grado de acidez de los aceites analizados se encuentra en valores $\leq 0,25$ en todos los ensayos, es decir que cumple con el reglamento vigente y se pueden clasificar como vírgenes extra. Se observa un ligero incremento de acidez del aceite al añadir coadyuvantes tecnológicos, alcanzando valores más elevados el aceite con adición del 2% de arcilla caolinítica, Figura 3.3.

Figura 3.3. Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de calidad en AOV. Análisis de Grado de Acidez en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3)



Fuente: Elaboración propia

Una vez comparados los valores del estudio, se observó las diferencias significativas. Se comparó mediante el análisis de Tukey con el 95% de confiabilidad y al 5% de error, es decir valor de $p = 0,05$. Se determinó que los porcentajes de desviación estándar menor al 10%, se encuentran dentro de los parámetros de aceptabilidad. Como se observa en la Tabla 3.4 y Tabla 3.5.

Tabla 3.4 Análisis de varianza para Grado de Acidez de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	0,01			
REPETICION	3	0,01	2,3E-03	9,57	0,0050
ENSAYO	3	0,01	2,3E-03	9,57	0,0050
ERROR	8	1,9E -03	2,3E-04		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.5 Determinación Analítica de Calidad del Aceite de Oliva Virgen. Análisis de Grado de Acidez en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3). Desviación Estándar 7,97%.

Tratamientos	Grado de Acidez	Rango	
Blanco Testigo	0,16±0,02	A	
Talco 0,5%	0,19±0,02	AB	
Arcilla Caolinítica 1%	0,19±0,02	AB	
Arcilla Caolinítica 2%	0,23±0,00		B

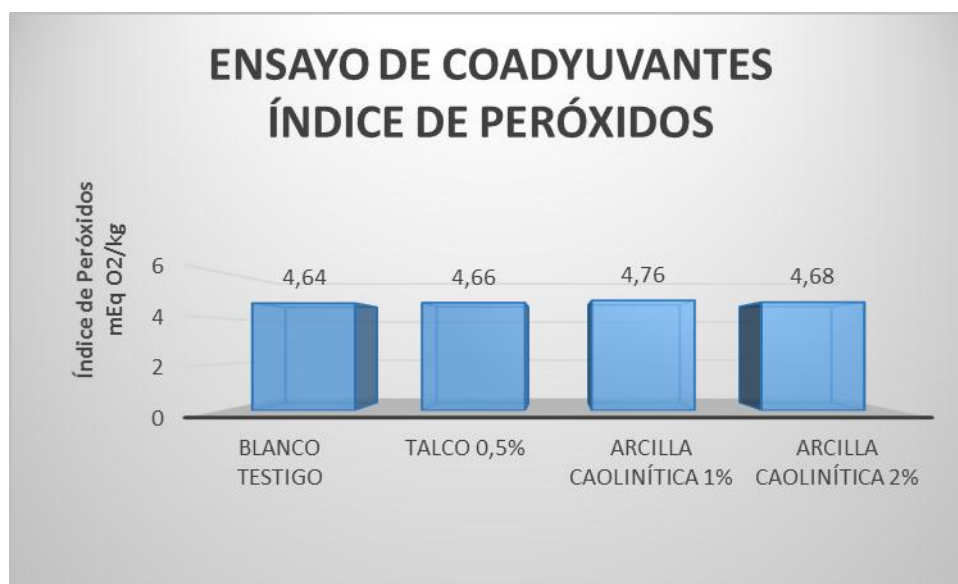
Fuente: Elaboración propia

En definitiva, las muestras de aceite analizadas presentan un bajo grado de acidez dentro de los límites establecidos por el Reglamento (CEE) No 2568/91 (2016). Para los aceites vírgenes extra, la adición de coadyuvantes en el proceso de extracción da lugar a un ligero incremento del grado de acidez, en especial en el ensayo con arcilla caolinítica al 2%. Este no efecto sobre la acidez de los coadyuvantes tecnológicos confirma la premisa de que estos no deben afectar a los parámetros de calidad.

3.3.2 Índice de Peróxidos

El índice de peróxidos determina el estado de oxidación primaria, es decir, los miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de aceite. Este análisis detecta la oxidación lipídica inicial y determina la estabilidad oxidativa en el AOV. De acuerdo al Reglamento (CEE) No 2568/91 (2016), el índice de peróxidos para Aceite de Oliva Vírgenes es ≤ 20 . Como se establece en la Figura 3.4, el índice de peróxidos se encuentra en valores ≤ 6 mEqO₂ /kg en todos los ensayos, por lo cual los aceites pueden ser clasificados como vírgenes extra.

Figura 3.4 Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de calidad en AOV. Índice de Peróxidos en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).



Fuente: Elaboración propia

Una vez comparados los valores del estudio, se observó las diferencias significativas. Se comparó mediante el análisis de Tukey con el 95% de confiabilidad y al 5% de error, es decir valor de $p = 0,05$. Se determinó que los porcentajes de desviación estándar menor al 10%, se encuentran dentro de los parámetros de aceptabilidad. Como se observa en la Tabla 3.6 y Tabla 3.7.

Tabla 3.6 Análisis de varianza para Índice de Peróxidos de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	0,07			
REPETICION	3	0,02	0,01	1,38	0,3176
ENSAYO	3	0,02	0,01	1,38	0,3176
ERROR	8	0,05	0,01		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.7 Determinación Analítica de Calidad del Aceite de Oliva Virgen. Índice de Peróxidos en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3). Desviación estándar 1,60%.

Tratamientos	Índice de Peróxidos	Rango
Blanco Testigo	4,64±0,07	A
Talco 0,5%	4,66±0,01	A
Arcilla Caolinítica 1%	4,76±0,11	A
Arcilla Caolinítica 2%	4,68±0,05	A

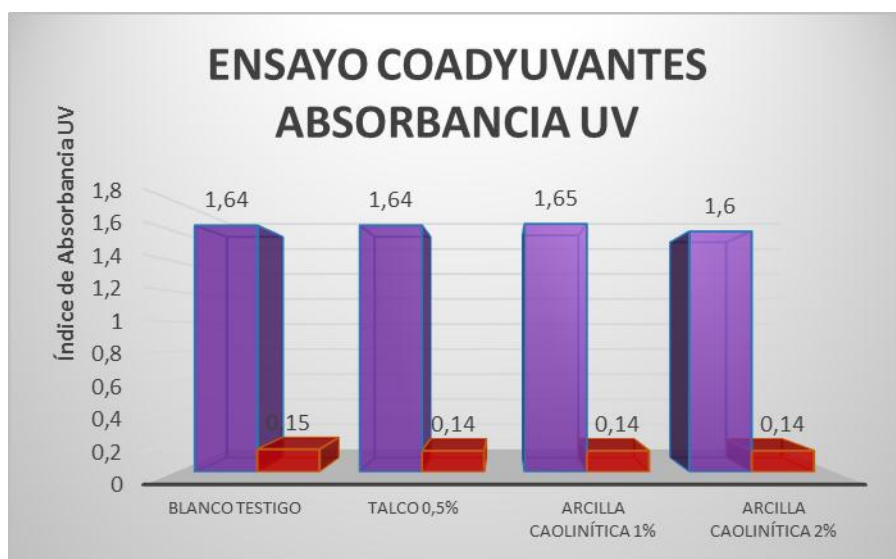
Fuente: Elaboración propia

Los peróxidos son compuestos de la reacción de oxidación primaria producida por la acción del oxígeno sobre los ácidos grasos en el aceite de oliva virgen, es decir, en la cadena de ácido graso se produce una autooxidación lipídica, en la que se extrae un hidrógeno alílico por factores como altas temperaturas, humedad, iones metálicos que favorecen la oxidación e incidencia de luz. Esta fase inicial desencadena la generación de radicales libres que en contacto directo con el oxígeno general peróxidos o compuestos de oxidación primaria (Scrimgeour, 2005). En general, las muestras de aceite de oliva vírgenes presentan un bajo índice de peróxidos dentro de los límites establecidos por el Reglamento (CEE) No 2568/91(2016). Para los aceites vírgenes extra, la adición de coadyuvantes en el proceso de extracción no tiene efecto sobre el índice de peróxidos del aceite, lo que confirmaría que los coadyuvantes no afectan a la calidad del aceite de oliva virgen. La oxidación lipídica es un proceso que produce compuestos de oxidación primaria y secundaria, que afectan las propiedades del aceite, por lo cual este parámetro se complementa con el análisis de K₂₃₂ - K₂₇₀.

3.3.3 Absorbancia UV (K_{232} - K_{270})

K_{232} o K_{270} es un método de absorbancia a la radiación ultravioleta máxima a longitud de onda de 232 y 270 nm, como parámetro de calidad determinan la presencia de los productos de oxidación primaria y secundaria, respectivamente como productos del almacenamiento del aceite. De acuerdo al Reglamento (CEE) No 2568/91 (2016), K_{232} para Aceite de Oliva Virgen Extra es $\leq 2,50$ y para Aceite de Oliva Virgen es $\leq 2,60$. En el caso de K_{270} para Aceite de Oliva Virgen Extra es $\leq 0,22$ y para Aceite de Oliva Virgen es $\leq 0,25$. Como se establece en la Tabla y en la Figura 3.5, K_{232} se encuentra en valores $\leq 1,65$ y K_{270} se encuentra en valores $\leq 0,15$ en todos los ensayos, por lo que los aceites analizados se clasifican dentro de la categoría de vírgenes extra.

Figura 3.5 Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de calidad en AOV. Absorbancia UV K_{232} - K_{270} en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).



Fuente: Elaboración propia

Una vez comparados los valores del estudio, se observó las diferencias significativas. Se comparó mediante el análisis de Tukey con el 95% de confiabilidad y al 5% de error, es decir valor de $p = 0,05$. Se determinó que los porcentajes de desviación estándar menor al 10%, se encuentran dentro de los parámetros de aceptabilidad. Como se observa en la Tabla 3.8, Tabla 3.9 y Tabla 3.10.

Tabla 3.8 Análisis de varianza para Absorbancia UV K_{232} de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	0,01			
REPETICION	3	0,01	1,7 E-03	2,32	0,1520
ENSAYO	3	0,01	1,7 E-03	2,32	0,1520
ERROR	8	0,01	7,3 E-04		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.9 Análisis de varianza para Absorbancia UV K_{270} de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	8,9E-04			
REPETICION	3	2,9E-04	9,7E-05	1,30	0,3406
ENSAYO	3	2,9E-04	9,7E-05	1,30	0,3406
ERROR	8	6,0E-04	7,5E-05		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3. 10 Determinación Analítica de Calidad del Aceite de Oliva Virgen. Absorbancia UV K_{232} - K_{270} en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).Desviación estándar K_{232} :1,66%. Desviación estándar K_{270} :6,22%.

Tratamientos	K_{232}	Rango	K_{270}	Rango
Blanco Testigo	1,64±0,01	A	0,15±0,01	A
Talco 0,5%	1,64±0,03	A	0,14±0,01	A
Arcilla Caolinítica 1%	1,65±0,02	A	0,14±0,00	A
Arcilla Caolinítica 2%	1,60±0,04	A	0,14±0,01	A

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo a Landines y Zambrano (2009), la oxidación lipídica produce diversos compuestos que afectan la calidad del aceite por acción directa del oxígeno sobre los ácidos grasos. A partir de la fase de iniciación o auto oxidación lipídica se generan los peróxidos, dando paso a formación de hidroperóxidos y a la oxidación secundaria en la cual se producen compuestos secundarios como aldehídos, cetonas, alcoholes y polímeros; responsables de alteraciones en las características organolépticas como sabor y olor de los Aceites de Oliva Vírgenes. Por lo cual, en este ensayo se determina

que no existe presencia de oxidación lipídica de los AOV mediante el análisis de absorbancia UV K_{232} para determinar compuestos de oxidación primaria y mediante el análisis de absorbancia UV K_{270} para compuestos de oxidación secundaria. La adición de coadyuvantes en el proceso de extracción no afectó a los valores de $K_{232} - K_{270}$ de los aceites analizados, de acuerdo con las características especificadas que deben cumplir cualquier coadyuvante tecnológico autorizado. Las muestras de aceite de oliva vírgenes presentan un índice de absorbancia UV $K_{232} - K_{270}$ dentro de los límites establecidos por el Reglamento (CEE) No 2568/91 como aceite de oliva virgen extra.

3.3.4 Ésteres etílicos de Ácidos Grasos

Los ésteres etílicos de ácidos grasos en aceite de oliva, aparecen por fermentación aerobia de la pulpa de la aceituna o materia orgánica, por ruptura de los tejidos en la recolección y transporte de aceituna en mal estado, en el proceso de molienda, en la centrifugación y almacenamiento (Narváez , Sánchez, Torres, y Ponce, 2017). De acuerdo al Reglamento (CEE) No 2568/91 (2016), los ésteres etílicos de los ácidos grasos para Aceite de Oliva Virgen Extra es ≤ 35 mg/kg. En el ensayo con coadyuvantes tecnológicos, los valores obtenidos para la analítica de ésteres etílicos de ácidos grasos en las muestras se encontraba por debajo de 3mg/kg, el límite de detección del método analítico. Tabla 3.11.

Tabla 3.11 Determinación Analítica de Calidad del Aceite de Oliva Virgen. Ésteres etílicos de Ácidos Grasos en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).

Tratamientos	Ésteres Etílicos de Ácidos Grasos
Blanco Testigo	< 3 mg/kg
Talco 0,5%	< 3 mg/kg
Arcilla Caolinítica 1%	< 3 mg/kg
Arcilla Caolinítica 2%	< 3 mg/kg

Fuente: Elaboración propia

Moreda y Ortega (2015), determinan que la presencia de ésteres metílicos en el AOV se correlaciona con las características del fruto y los ésteres etílicos se encuentran

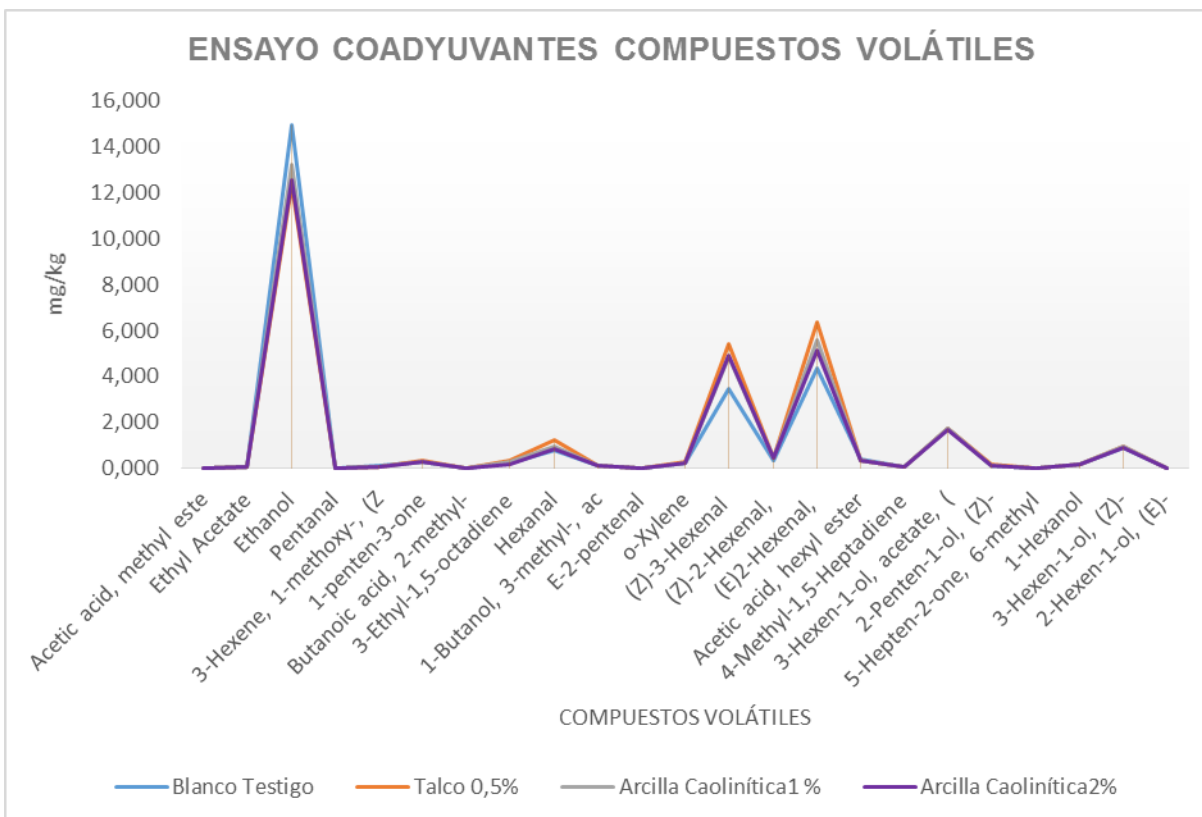
asociados a la calidad del fruto y el procesamiento. Por lo cual, el incremento de ésteres etílicos en el AOV se debe a malas prácticas de manufactura en almazara; así como al contenido de alcoholes de cadena corta como metanol y etanol, que se encuentran en función del estado de madurez de la aceituna y que forman parte de la fracción volátil de los aceites. La adición de coadyuvantes en el proceso de extracción no afectó a la concentración de ésteres etílicos en ácidos grasos en los aceites. Las muestras de aceite de oliva vírgenes analizados presentan un valor < 3 mg/kg por debajo de los límites establecidos por el Reglamento (CEE) No 2568/91 (2016), para la categoría de aceites de oliva virgen extra. Debido a lo reciente de la adopción de este parámetro de calidad, no existen trabajos en los que se describa el efecto de los coadyuvantes tecnológicos en la concentración de ésteres etílicos.

3.4 DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE COMPOSICIÓN DEL AOV

3.4.1 Compuestos Volátiles

Los ácidos grasos que constituyen los lípidos se degradan biológicamente por vías oxidativas. En el caso de los AOV es esencial la ruta de la lipoxigenasa debido a que es responsable de la generación de compuestos volátiles relacionadas con atributos sensoriales positivos (Espínola, 2015). Los aldehídos mayoritarios pertenecientes a un grupo de los compuestos volátiles, son el trans-2-hexenal, el hexanal y el cis-3-hexenal. La influencia del estado del fruto y la variedad, determinan la presencia de altas concentraciones de alcoholes como cis-3-hexenol, trans-2-hexenol y hexanol; así como trans-3-hexenal, cis-2-hexenol y trans-3-hexenol conocidos como volátiles verdes, en los cuales su concentración depende de la variedad (Aparicio, Morales, y García, 2012). En la Figura 3.6, se muestra la variación de la concentración de los principales compuestos volátiles del AOV en función de la adición o no de coadyuvantes tecnológicos.

Figura 3.6 Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Compuestos volátiles en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).



Fuente: Elaboración propia

Espínola (2015), la concentración de compuestos volátiles como hexanal, cis-3-hexenal, trans-2-hexenal, Acetato de cis-3-hexenilo, trans-2-hexenol y cis-3-hexenol y acetato de hexilo confieren al AOV, descripciones sensoriales positivas como son las características de verde manzana, herbáceo, afrutado (banana), césped, verde hoja, dulce. En la presente investigación, se observa la presencia de compuestos volátiles positivos en las muestras de aceite de oliva virgen de forma mayoritaria, Tabla 3.12. La determinación analítica de composición de la fracción volátil con respecto a los compuestos volátiles refleja diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. En el caso de hexanal, volátil relacionado con el atributo positivo verde manzana y herbáceo, la utilización de coadyuvantes tecnológicos incrementó la concentración en el aceite, alcanzando la mayor concentración en el aceite con talco al 0,5%. Sin embargo, en el ensayo blanco/ testigo la concentración es baja en este compuesto por el estado de maduración.

En el caso de compuestos volátiles como 3-Hexene, 1-methoxy-, (Z) la mayor concentración en blanco seguido de arcillas caoliníticas al 1 y 2%; (Z)-3-Hexenal, (Z)-2-Hexenal y 2-Hexen-1-ol, (E) mayor concentración en ensayo con coadyuvantes especialmente en talco, mostrando diferencias significativas. Sánchez y Salas (2003), exponen que compuestos volátiles pertenecientes al grupo de aldehídos como el hexanal, cis-3-hexenal y 2 trans-e hexenal (componente mayoritario); grupo de alcoholes como hexanol, cis-3-hexenol y trans-2 hexenol, así como sus ésteres, acetato de hexilo y acetato de cis-3-hexenilo, compone el 60-80% del total de los compuestos volátiles presentes en el aceite. Los compuestos volátiles presentes de forma natural en las aceitunas, responsables de los atributos positivos son metabolitos secundarios que se generan en la molienda de frutos y posteriormente, continúa con el batido de la pasta, proceso en el cual se activan las enzimas que actúan sobre los ácidos grasos y aminoácidos, por presencia de oxígeno (Espínola, 2015). En conclusión, la adición de coadyuvantes en el proceso de batido presenta diferencias significativas en cuanto a la presencia y concentración de ciertos compuestos volátiles como atributos positivos en su mayoría. Por lo tanto, las concentraciones de compuesto volátiles en los ensayos de arcilla caolinítica al 1% en comparación con talco 0,5% varían entre ellas en cantidades mínimas, siendo superior en el caso de talco; sin embargo, la presencia de los dos coadyuvantes presenta concentraciones mayores con respecto al ensayo blanco testigo.

Tabla 3.12 Análisis de varianza. Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Compuestos volátiles en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).

Tratamiento	Acetic acid, methyl este	Rango		P Valor	Ethyl Acetate	Rango	P Valor	Ethanol	Rango		P Valor	Pentanal	Rango	P Valor	
Minuto	3,115				3,958			5,379			6,282				
Desviación estándar	10,33%				6,21%			6,27%			10,40%				
Blanco Testigo	0,025±0,002	A		0,0225	0,052±0,001	A	0,1985	14,936±0,154		B	0,018	0,024±0,005	A	0,1091	
Talco 0,5%	0,035±0,003		B		0,047±0,002	A			12,312±0,345	A			0,031±0,002		A
Arcilla Caolinitica 1%	0,029±0,001	A	B		0,048±0,001	A			13,192±0,754	A		B	0,029±0,001		A
Arcilla Caolinitica 2%	0,031±0,005	A	B		0,050±0,006	A			12,533±1,432	A			0,028±0,003		A

Tratamiento	3-Hexene, 1-methoxy-, (Z)	Rango		P Valor	1-penten-3-one	Rango		P Valor	Butanoic acid, 2-methyl-	Rango		P Valor	3-Ethyl-1,5-octadiene	Rango		P Valor
Minuto	7,132				7,651				8,749				9,529			
Desviación estándar	2,59%				7,41%				32,58%				24,86%			
Blanco Testigo	0,102±0,002		B	0,0036	0,318±0,003	A	0,134	0,011±0,002	A	0,3777	0,251±0,013	A	B	0,0292		
Talco 0,5%	0,091±0,000	A			0,336±0,009	A		0,011±0,001	A		0,330±0,020		B			
Arcilla Caolínica 1%	0,094±0,002	A			0,301±0,010	A		0,011±0,001	A		0,276±0,011	A	B			
Arcilla Caolínica 2%	0,095±0,004	A			0,287±0,044	A		0,011±0,000	A		0,208±0,022	A				

Tratamiento	Hexanal	Rango		P Valor	1-Butanol, 3-methyl-, ac	Rango	P Valor	E-2-pentenal	Rango	P Valor	o-Xylene	Rango	P Valor
Minuto	9,832				11,4			11,646			11,982		
Desviación estándar	27,22%				2,88%			35,48%			2,98%		
Blanco Testigo	0,782±0,002	A	B	0,0459	0,104±0,003	A	0,1918	0,024±0,001	A	0,6999	0,254±0,004	A	0,1187
Talco 0,5%	1,222±0,017		B		0,100±0,003	A		0,026±0,002	A		0,271±0,006	A	
Arcilla Caolínítica 1%	0,958±0,019	A	B		0,099±0,002	A		0,021±0,001	A		0,264±0,006	A	
Arcilla Caolínítica 2%	0,827±0,021	A			0,102±0,004	A		0,023±0,002	A		0,258±0,012	A	

Tratamiento	(Z)-3-Hexenal	Rango		P Valor	(Z)-2-Hexenal	Rango		P Valor	(E)2-Hexenal	Rango		P Valor	Acetic acid, hexyl ester	Rango		P Valor
Minuto	12,704				14,451				15,013				17,053			
Desviación estándar	5,46%				4,99%				10,42%				2,28%			
Blanco Testigo	3,493±0,041	A		0,0001	0,350±0,005	A		0,0003	4,378±0,083	A		0,0139	0,377±0,007	A	0,0511	
Talco 0,5%	5,418±0,209		B		0,482±0,015		B		6,378±0,103		B		0,364±0,010	A		
Arcilla Caolinitica 1%	4,831±0,298		B		0,457±0,032		B		5,593±0,168	A	B		0,357±0,008	A		
Arcilla Caolinitica 2%	4,932±0,354		B		0,458±0,025		B		5,121±1,098	A	B		0,357±0,008	A		

Fuente: Elaboración propia

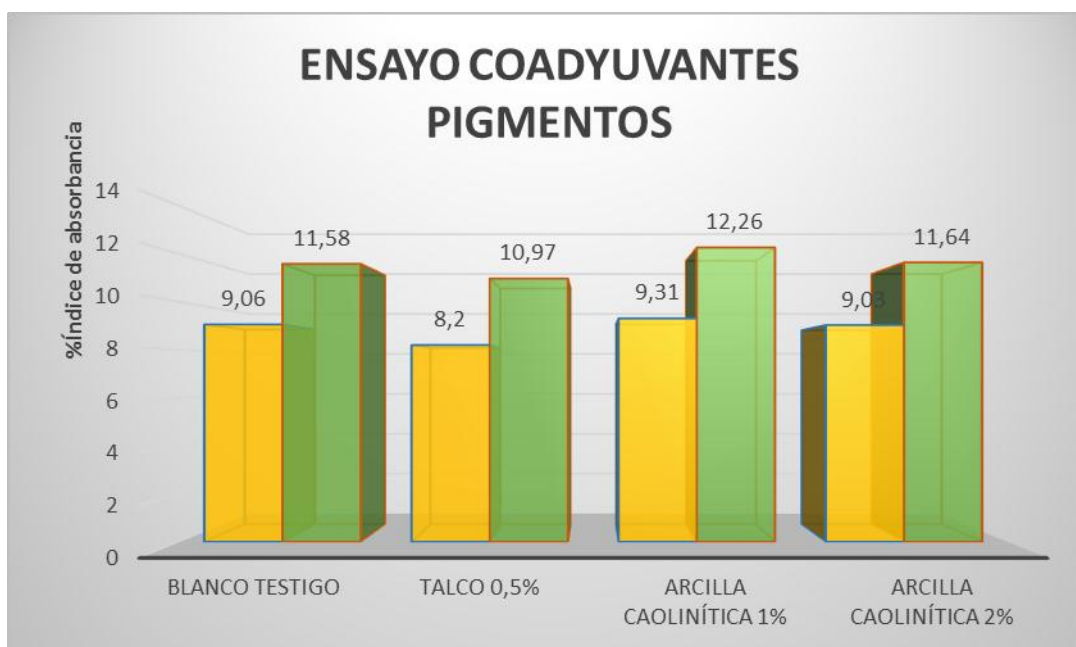
Tratamiento	4-Methyl-1,5-Heptadiene	Rango			P Valor	3-Hexen-1-ol, acetate, (	Rango		P Valor	2-Penten-1-ol, (Z)-	Rango		P Valor	5-Hepten-2-one, 6-methyl	Rango		P Valor			
Minuto	18,218					18,639					19,182					19,398				
Desviación estándar	4,14%					2,58%					26,75%					36,70%				
Blanco Testigo	0,076±0,002	A			0,0015	1,758±0,063	A	0,4303	0,136±0,002	A	0,0746	0,004±0,000	A	0,8066						
Talco 0,5%	0,089±0,004		B	C		1,715±0,049	A		0,174±0,009	A		0,005±0,000	A							
Arcilla Caolinítica 1%	0,092±0,004			C		1,713±0,020	A		0,148±0,001	A		0,005±0,0000	A							
Arcilla Caolinítica 2%	0,081±0,003	A	B			1,697±0,354	A		0,124±0,003	A		0,005±0,000	A							

Tratamiento	1-Hexanol	Rango			P Valor	3-Hexen-1-ol, (Z)-	Rango	P Valor	2-Hexen-1-ol, (E)-	Rango		P Valor
Minuto	20,51					21,536			22,128			
Desviación estándar	1,61%					3,98%			6,44%			
Blanco Testigo	0,170±0,003			C	0,0002	0,928±0,014	A	0,073	0,031±0,000	A		0,0095
Talco 0,5%	0,160±0,002		B			0,962±0,024	A		0,040±0,001		B	
Arcilla Caolinítica 1%	0,153±0,002	A				0,965±0,003	A		0,037±0,001	A	B	
Arcilla Caolinítica 2%	0,157±0,003	A	B			0,880±0,069	A		0,035±0,005	A	B	

3.4.2 Pigmentos

Los pigmentos son compuestos que pertenecen a la fracción insaponificable del AOV, se dividen en Carotenoides y Clorofilas que se encuentran de forma indirecta en la aceituna. Los carotenoides son pigmentos responsables de la coloración amarilla y anaranjada de los frutos, en este grupo se encuentran los hidrocarburos y las xantofilas. En cambio, las clorofilas son los pigmentos fotosintéticos de mayor importancia (Fuentes, 2013).

Figura 3.7 Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Pigmentos en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).



Fuente: Elaboración propia

Una vez comparados los valores del estudio, se observó las diferencias significativas. Se comparó mediante el análisis de Tukey con el 95% de confiabilidad y al 5% de error, es decir valor de $p = 0,05$. Se determinó que los porcentajes de desviación estándar menor al 10%, se encuentran dentro de los parámetros de aceptabilidad. Como se observa en la Tabla 3.13 para análisis de varianza para Carotenos 472nm y la Tabla 3.14 de análisis de varianza para Clorofilas 670nm de ensayo de coadyuvantes.

Tabla 3.13 Análisis de varianza para Carotenos 472nm de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	4,75			
REPETICION	3	2,12	0,71	2,15	0,1724
ENSAYO	3	2,12	0,71	2,15	0,1724
ERROR	8	2,63	0,33		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.14 Análisis de varianza para Clorofilas 670nm de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	6,82			
REPETICION	3	2,53	0,84	1,57	0,2709
ENSAYO	3	2,53	0,84	1,57	0,2709
ERROR	8	4,29	0,54		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.15 Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Pigmentos en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3). Desviación estándar Carotenos 472nm: 6,44%. Desviación estándar Clorofilas 670nm: 6,30%.

Tratamientos	Carotenos 472nm	Rango	Clorofilas 670 nm	Rango
Blanco Testigo	9,06±0,30	A	11,58±0,41	A
Talco 0,5%	8,20±0,15	A	10,97±0,33	A
Arcilla Caolinítica 1%	9,31±0,23	A	12,26±0,24	A
Arcilla Caolinítica 2%	9,03±1,07	A	11,64±1,35	A

Fuente: Elaboración propia

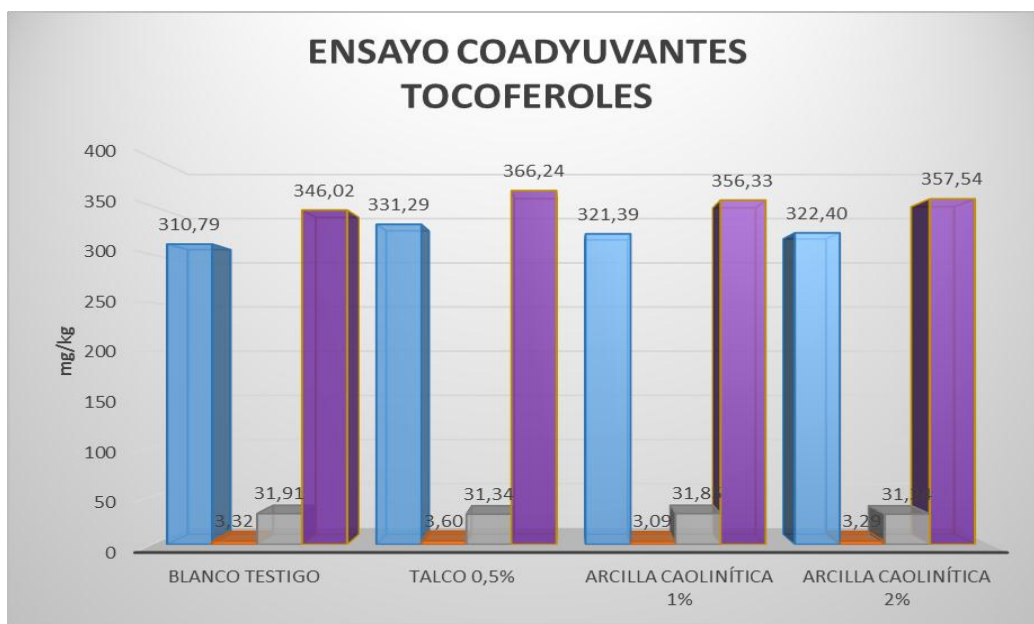
Beltrán, Sadkaoui, Aymen y Jiménez, 2007, declaran en su investigación sobre pastas difíciles de aceituna que el talco como coadyuvante tecnológico permite la aglutinación de pequeñas gotas de aceite, facilitando su extracción, adicional produce una clarificación del aceite y un descenso de sólidos y grasas en el orujo. En general, los pigmentos clorofílicos y carotenoides del aceite no se vieron afectados por el empleo de coadyuvantes tecnológicos. Sin embargo, en el ensayo con talco al 0,5% la presencia de carotenos y pigmentos es ligeramente menor, debido a la presencia del

coadyuvante. La utilización de arcillas caoliníticas dio lugar a un ligero incremento del contenido de pigmentos siendo alcanzando la concentración más elevada a una dosis del 1%. En conclusión, la adición de coadyuvantes no afectó de forma significativa al contenido de carotenos y clorofilas del aceite de oliva virgen. No se ha descrito el efecto de la utilización de las arcillas caoliníticas sobre el nivel de pigmentos de los aceites de oliva vírgenes.

3.4.3 Tocoferoles

Los tocoferoles son compuestos heteroácidos con alto peso molecular, presentes naturalmente en AOV que evitan los procesos de oxidación lipídica, atrapan radicales libres, atribuyen al aceite estabilidad oxidativa y de la degradación termo-oxidativa; considerados antioxidantes lipídicos (Kalogeropoulos, et al., 2007). En el AOV están presentes por α , β , γ ; diferenciados principalmente por la posición de grupos metilos sustituyentes, presentes en aceite de oliva en forma no esterificada. En AOV, el α -tocoferol constituye entre el 90-95% de los tocoferoles totales, y β , γ representan el 10% (Lozano, Segura, y Fernández, 2012).

Figura 3.8 Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Tocoferoles en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).



Fuente: Elaboración propia

Una vez comparados los valores del estudio, se observó las diferencias significativas. Se realizó la comparación con el método de Tukey con el 95% de confiabilidad y al 5% de error, es decir valor de $p = 0,05$. Se determinó que los porcentajes de desviación estándar menor al 10%, se encuentran dentro de los parámetros de aceptabilidad. Como se observa en la Tabla 3.20 para análisis de varianza para tocoferoles de ensayo de coadyuvantes.

Tabla 3.16 Análisis de varianza para Tocoferol α de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	677,76			
REPETICION	3	634,69	211,56	39,20	<0,0001
ENSAYO	3	634,69	211,56	39,20	<0,0001
ERROR	8	43,08	5,38		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.17 Análisis de varianza para Tocoferol β de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	0,84			
REPETICION	3	0,41	0,14	2,51	0,1321
ENSAYO	3	0,41	0,14	2,51	0,1321
ERROR	8	0,43	0,05		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.18 Análisis de varianza para Tocoferol γ de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	1,78			
REPETICION	3	0,63	0,21	1,45	0,3003
ENSAYO	3	0,63	0,21	1,45	0,3003
ERROR	8	1,15	0,14		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.19 Análisis de varianza para Tocoferoles Totales de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	664,48			
REPETICION	3	618,42	206,14	35,80	0,0001
ENSAYO	3	618,42	206,14	35,80	0,0001
ERROR	8	46,06	5,76		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.20 Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Tocoferoles en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).

Tratamientos	Tocoferol α	Tocoferol β	Tocoferol γ	Tocoferoles Totales
Blanco Testigo	310,79 $\pm$ 2,41	3,32 $\pm$ 0,02	31,91 $\pm$ 0,32	346,02 $\pm$ 2,63
Talco 0,5%	331,29 $\pm$ 3,06	3,60 $\pm$ 0,36	31,34 $\pm$ 0,07	366,24 $\pm$ 3,49
Arcilla Caolinítica 1%	321,39 $\pm$ 1,19	3,09 $\pm$ 0,14	31,85 $\pm$ 0,55	356,33 $\pm$ 0,86
Arcilla Caolinítica 2%	322,40 $\pm$ 2,22	3,29 $\pm$ 0,25	31,84 $\pm$ 0,42	357,54 $\pm$ 1,80

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.21 Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Rangos establecidos mediante análisis de varianza para Tocoferoles en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3). Desviación estándar Tocoferol α : 0,72%. Desviación estándar Tocoferol β : 6,98%. Desviación estándar Tocoferol γ : 1,20%. Desviación estándar Tocoferoles Totales: 0,67%.

Tratamientos	Rango Tocoferol α			Rango Tocoferol β			Rango Tocoferol γ			Rango Tocoferoles Totales		
Blanco Testigo	A			A			A			A		
Talco 0,5%			C	A			A					C
Arcilla Caolinítica 1%		B		A			A				B	
Arcilla Caolinítica 2%		B		A			A				B	

Fuente: Elaboración propia

El contenido de α -Tocoferol como antioxidante lipofílico, Mataix, 2001, determina que los valores en su investigación oscilaron entre 311- 339 mg/kg en aceite de oliva extra virgen de variedad “Picual”. Sin embargo, los tratamientos tecnológicos influyen sobre la concentración del α -Tocoferol decreciendo cuando la extracción de aceite se realiza en temperaturas $\leq 9^{\circ}\text{C}$ y en a temperaturas $>33^{\circ}\text{C}$.

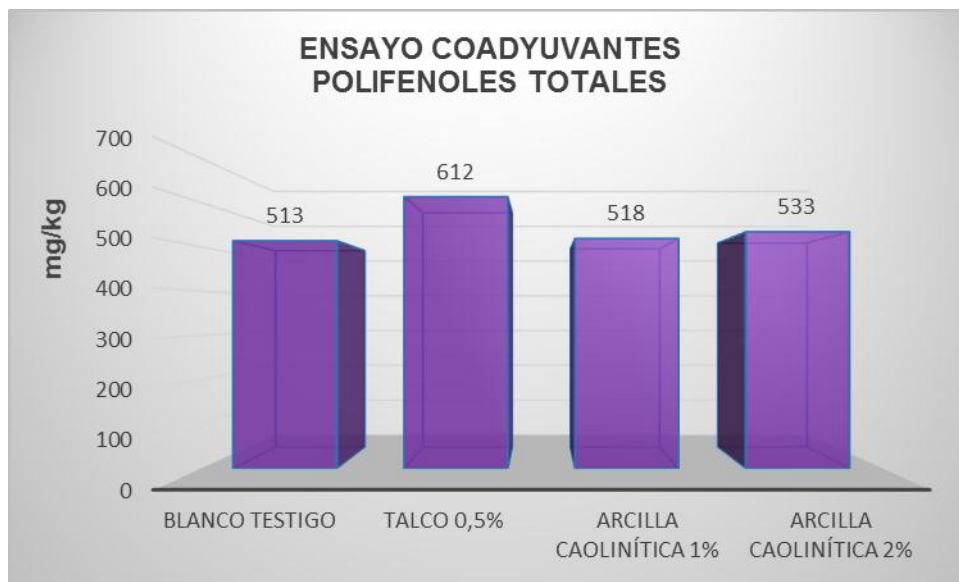
El tocoferol mayoritario es el α -Tocoferol, se observa como la adición de coadyuvantes tecnológicos incrementa el contenido de α -Tocoferol y tocoferoles totales, en especial en el caso de los aceites con talco al 0,5%; presentando diferencias significativas con respecto al testigo y los ensayos con arcilla caolinítica. En el caso de los aceites extraídos con arcilla caolinítica, la dosis no dio lugar a diferencias significativas en la concentración de tocoferoles la adición de coadyuvantes naturales como talco y arcillas caoliníticas.

3.4.4 Compuestos fenólicos

3.4.4.1 Polifenoles Totales

Los compuestos fenólicos presentes en el AOV, se generan en el mesocarpio de la aceituna como sistema químico de defensa con acción antimicrobiana y antioxidante, responsables de la estabilidad oxidativa y de características organolépticas como sabor y aroma de los AOV (Mínguez y Garrido, 1986). La concentración de fenoles totales en AOV se encuentra entre 200- 1500 mg/kg, dependen principalmente de la maduración del fruto, variedad del fruto, condiciones climáticas y cultivo, sistema y proceso de extracción (Gutiérrez, Ríos, y Gómez, 2003).

Figura 3.9 Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Polifenoles Totales en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).



Fuente: Elaboración propia

Una vez comparados los valores del estudio, se observó las diferencias significativas. Se realizó la comparación con el método de Tukey con el 95% de confiabilidad y al 5% de error, es decir valor de $p = 0,05$. Se determinó que los porcentajes de desviación estándar menor al 10%, se encuentran dentro de los parámetros de aceptabilidad. Como se observa en la Tabla 3.22 para análisis de varianza para polifenoles totales de ensayo de coadyuvantes.

Tabla 3.22 Análisis de varianza para Polifenoles Totales de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	11	29613,00			
REPETICION	3	12369,67	4123,22	1,91	0,2060
ENSAYO	3	12369,67	4123,22	1,91	0,2060
ERROR	8	17243,33	2155,42		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.23 Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Polifenoles Totales en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3). Desviación estándar: 8,94%

Tratamientos	Polifenoles Totales	Rango
Blanco Testigo	465±71	A
Talco 0,5%	556±49	A
Arcilla Caolinítica 1%	518±31	A
Arcilla Caolinítica 2%	533±14	A

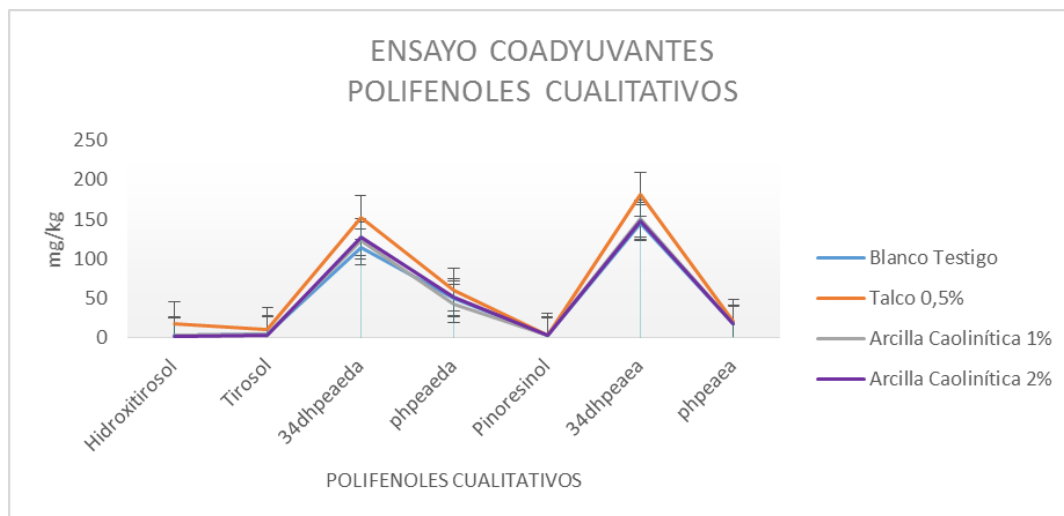
Fuente: Elaboración propia

Amirante y otros (2002), el proceso de batido de la pasta influye en la calidad del aceite y en la concentración de compuestos fenólicos. Las condiciones de batido permiten el rendimiento graso de la pasta, por lo cual al aumentar la temperatura en pequeña proporción en el batido la concentración de polifenoles, amargor y la estabilidad al enranciamiento es mayor. Aguilera y otros (2015), exponen en el proceso de batido que la adición de talco a la pasta así como las condiciones del proceso dan lugar a un aumento en el contenido de polifenoles de aceite de oliva virgen. En este trabajo se observa como los aceites extraídos con adición de coadyuvantes mostraron una concentración de polifenoles más elevada aunque sin diferencias significativas respecto al testigo. Las concentraciones de polifenoles más elevadas se obtuvieron para el tratamiento con talco, de acuerdo con los resultados previamente descritos (Aguilera y otros, 2015). No existen trabajos previos sobre el efecto de las arcillas caoliníticas en la fracción fenólica del aceite.

3.4.4.2 Polifenoles Cualitativos

Los polifenoles pertenecen a la fracción minoritaria que compone al AOV, constituido por diversos compuestos, que actúan con mecanismos específicos, de acuerdo a su estructura, y también pueden actuar combinados. En la presente investigación, se determinó la presencia de polifenoles con respecto al uso de coadyuvantes tecnológicos presentando diferencias significativas en los tratamientos. Como se observa en la Figura 3.10

Figura 3.10 Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Polifenoles Cualitativos en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).



Fuente: Elaboración propia

Torres (2013), expone que la determinación de compuestos fenólicos, en especial, los alcoholes fenólicos como hidroxitirosol y tirosol, son compuestos a los que factores como la temperatura influye positivamente. En cambio en los compuestos fenólicos pertenecientes a los ácidos fenólicos los factores como temperatura y tiempo de batido afectan negativamente. Los principales compuestos fenólicos en los aceites analizados son los derivados de la oleuropeína (3,4 DHPEA-EDA y 3,4-DHPEA-EA) y los derivados del ligustrósido (P-HPEA-EDA y P-HPEA-EA). En el ensayo con coadyuvantes se establece que las concentraciones de hidroxitirosol y tirosol, se encuentran en mayor cantidad en el aceite de oliva virgen extraído con talco 0,5%. Como se observa en la Tabla 3.24 en las cuales se realiza el análisis de varianza, determinando diferencia significativa con el resto de tratamientos. De forma similar, se observa el mismo comportamiento por los principales compuestos fenólicos analizados, los secoiridoides derivados de la oleuropeína (3,4 DHPEA-EDA y 3,4-DHPEA-EA) y los derivados del ligustrósido (P-HPEA-EDA y P-HPEA-EA), así como el pinoresinol que están presentes en mayor concentración en los aceites extraídos con talco al 0,5%. La adición de arcillas caolínicas incremento el contenido de los principales compuestos fenólicos del aceite aunque sin diferencias significativas respecto del testigo. En general, no se observaron diferencias significativas entre las dosis de arcillas caolínicas estudiadas.

Tabla 3.24 Análisis de varianza. Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Polifenoles Cualitativos en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).

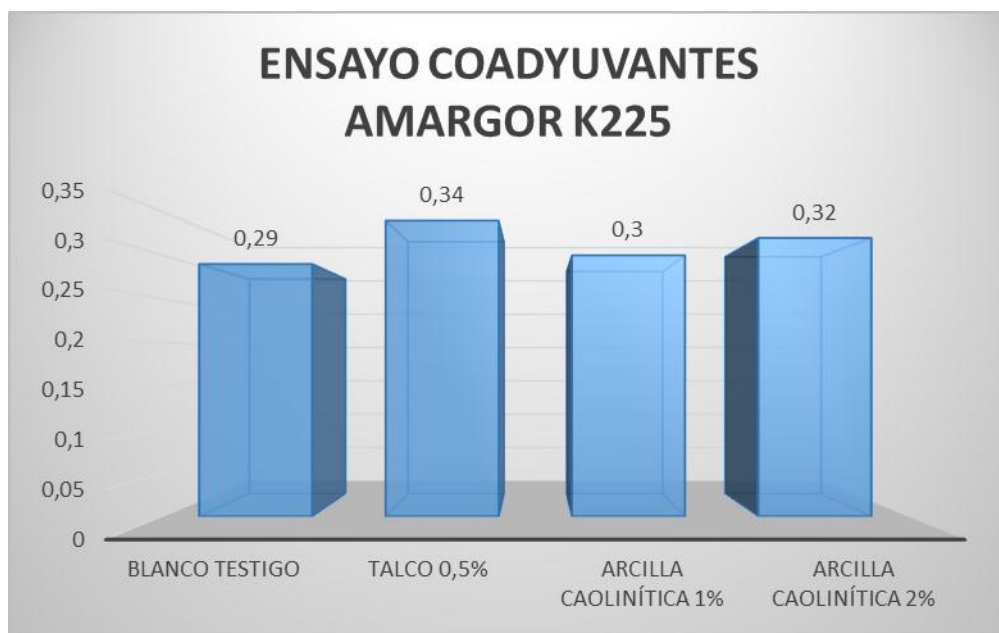
Tratamientos	Hidroxitirosol	Rango		P Valor	Tirosol	Rango		P Valor	34dhpeaeda	Rango		P Valor	phpeaeda	Rango		P Valor
Desviación estándar	62,24%				40,02%				10,14%				6,23%			
Blanco Testigo	2,26±5,84	A		0,0083	3,26±2,62	A		0,0078	114 ±9	A		0,0365	50 ±2	A		0,001
Talco 0,5%	16,86±1,98		B		9,95±1,21		B		152 ±14		B		60 ±4		B	
Arcilla Caolinítica 1%	2,19±5,74	A			3,48±2,84	A			123±18	A	B		43±4	A		
Arcilla Caolinítica 2%	1,46±0,03	A			2,43±0,01	A			127±10	A	B		50 ±3	A		

Tratamientos	Pinoresinol	Rango		P Valor	34dhpeaea		Rango		P Valor	phpeaea		Rango		P Valor
Desviación estándar	7,23%				7,97%					8,88%				
Blanco Testigo	2,12±0,18	A		0,0023	146±10	A		0,0218	17±2	A	0,0738			
Talco 0,5%	2,76±0,21		B		182±19		B		20±2	A				
Arcilla Caolinítica 1%	2,11±0,13	A			151±10	A	B		16±1	A				
Arcilla Caolinítica 2%	2,06±0,12	A			148±8	A			17±1	A				

3.4.4.3 Amargor K₂₂₅

El amargor K₂₂₅, es un parámetro que mide el atributo de amargo en el aceite de oliva virgen y se encuentra relacionado con las características sensoriales. Se ha establecido que el amargor K₂₂₅ se encuentra en valores $\geq 0,25$ - 0,36 (muy amargo (Uceda, Aguilera, Beltrán, y Jiménez, 2000). Por lo cual, se compara estos valores establecidos con la Figura 12.3. Determinando que en los ensayos con coadyuvantes tecnológicos, la medición analítica de amargor K₂₂₅ se encuentra en valores superiores a $\geq 0,29$.

Figura 3.11 Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Amargor K₂₂₅ en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).



Fuente: Elaboración propia

Una vez comparados los valores del estudio, se observó las diferencias significativas. Se realizó la comparación con el método de Tukey con el 95% de confiabilidad y al 5% de error, es decir valor de $p = 0,05$. Se determinó que los porcentajes de desviación estándar menor al 10%, se encuentran dentro de los parámetros de aceptabilidad. Como se observa en la Tabla 3.26 para análisis de varianza para amargor K₂₂₅ de ensayo de coadyuvantes.

Tabla 3.25 Análisis de varianza para Amargor K₂₂₅ de Ensayo de Coadyuvantes

F.V	G.L	S.C	C.M	F	P. VALOR
TOTAL	10	0,01			
REPETICION	3	4,5E-03	1,5E-03	15,55	0,0018
ENSAYO	3	4,5E-03	1,5E-03	15,55	0,0018
ERROR	7	6,7E-04	9,6E-05		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.26 Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Amargor K₂₂₅ en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3). Desviación estándar: 3,11%.

Tratamientos	Amargor K ₂₂₅	Rango		
Blanco Testigo	0,29±0,01	A		
Talco 0,5%	0,34±0,01	AB		
Arcilla Caolinítica 1%	0,30±0,01		BC	
Arcilla Caolinítica 2%	0,32±0,01			C

Fuente: Elaboración propia

Los aceites con un amargor más elevados fueron extraídos con la adición de talco, mientras que en el caso de las arcillas caoliníticas se observó un ligero incremento del amargor con respecto al testigo. Hermoso y otros autores, 1991, determinan que el contenido de polifenoles, amargor, estabilidad y características organolépticas presentan disminución y por lo tanto diferencias significativas por la solubilidad de los compuestos, influenciada por el agua adherida y su efecto sobre la pasta de aceituna durante los procesos de extracción. De acuerdo Cert y otros autores, 1996, su investigación expone que la adición de talco en el procesamiento de aceite de oliva vírgenes se incrementa el contenido en fenoles y se incrementa el amargor y el atributo picante de los aceites, aumentando la estabilidad de los aceites. La determinación analítica de amargor K₂₂₅, en este ensayo de aceites de oliva vírgenes con presencia de coadyuvantes tecnológicos aunque presento diferencias significativas entre tratamientos estas son mínimas y podrían asociarse con la variabilidad del fruto. En cualquier caso, no se han descrito trabajos previos sobre las características organolépticas de los aceites extraídos con arcillas caoliníticas.

3.4.5 Ácidos Grasos

Los ácidos grasos son componentes orgánicos de cadena larga, compuestos por un grupo carboxílico y una cadena hidrocarbonada. De acuerdo a Boskou, el ácido graso mayoritario en AOV es el ácido oléico (monoinsaturado), en el grupo de saturados son los ácido palmítico y estéarico; por último se encuentran porcentajes limitados de linoleico y linolénico como polinsaturados. Por lo cual, la presencia de ácidos grasos monoinsaturados confiere al aceite mayor estabilidad a los procesos oxidativos, que provocan el enranciamiento del aceite (Torres, 2013).

Los ácidos grasos presentes en los lípidos del AOV, se oxidan biológicamente mediante 4 vías pero la más importante es la ruta de la lipoxigenasa que genera compuestos volátiles, así como también influyen en el aumento de ácidos y presencia de peróxidos (Espínola, 2015). Según Aguilera (2006), los ácidos grasos son los principales precursores de los compuestos volátiles, al encontrarse relacionados directamente con ácido linoléico, linolénico y aminoácidos, que en la ruta de la lipoxigenasa se utilizan como sustratos.

En la Tabla 3.27 se muestra la comparación de los resultados obtenidos de los aceites analizados. En general, a pesar de que el análisis de varianza determinará diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al contenido de ácidos grasos, éstas se pueden explicar por la variabilidad del propio fruto y no por el efecto de la adición de coadyuvantes tecnológicos.

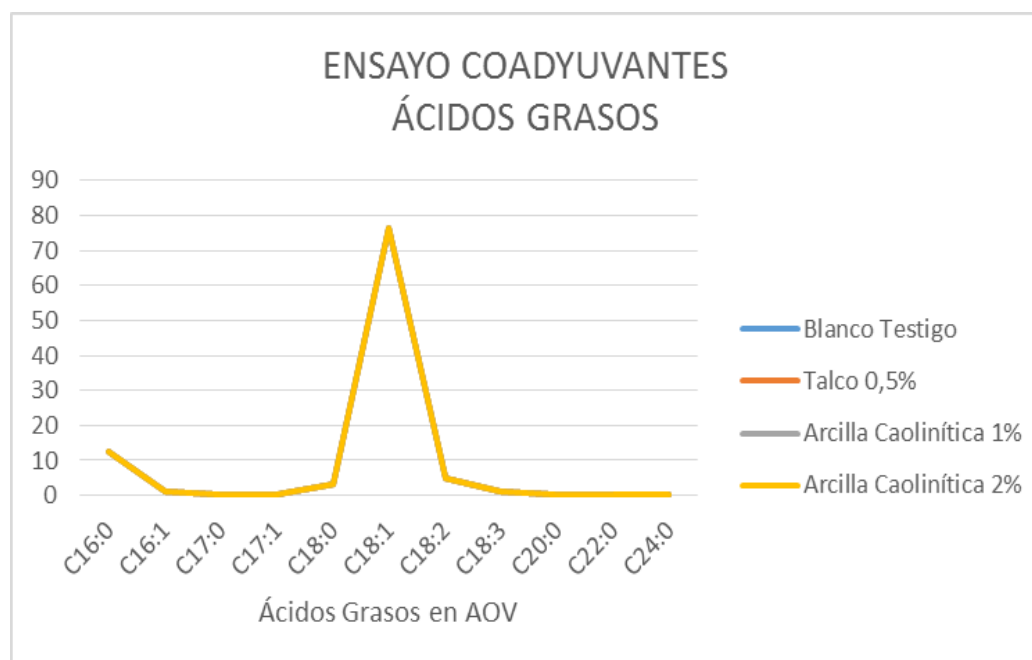
Tabla 3.27 Análisis de varianza. Determinación Analítica de Composición del Aceite de Oliva Virgen. Ácidos Grasos en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3).

Tratamientos	C16:0	Rango			P Valor	C16:1	Rango			P Valor	C17:0	Rango			P Valor	C17:1	Rango			P Valor
Desviación estándar	0,16%					0,50%					3,90%					2,03%				
Blanco Testigo	12,43±0,01			C	0,0012	1,25±0,00		B	0,0008	0,08±0,00	A	0,5099	0,10±0,00	AB		0,034				
Talco 0,5%	12,33±0,04	A				1,21±0,01	A			0,08±0,00	A		0,09±0,00	AB						
Arcilla Caolínica 1%	12,38±0,01	AB				1,23±0,01		B		0,08±0,01	A		0,09±0,00	A						
Arcilla Caolínica 2%	12,43±0,01		BC			1,24±0,00		B		0,08±0,00	A		0,10±0,00		B					

Tratamientos	C18:0	Rango			P Val or	C18:1	Rang o	P Valor	C18:2	Rango			P Valor	C18:3	Rango	P Valor			
Desviación estándar	0,13%					0,08%			0,14%					2,47%					
Blanco Testigo	3,27±0,00		B		0,00 01	76,23±0,01	A		0,005 5	4,98±0,00			D	<0,000 1	0,99±0,00	A	0,319 4		
Talco 0,5%	3,26±0,01	A				76,48±0,08		B			4,82±0,01	A						1,01±0,01	A
Arcilla Caolinítica 1%	3,25±0,01	A				76,47±0,06		B			4,87±0,01		B					1,01±0,01	A
Arcilla Caolinítica 2%	3,30±0,00			C		76,32±0,06	A	B			4,91±0,01				C			1,04±0,05	A

Tratamientos	C20:0	Rango	P Valor	C22:0	Rango	P Valor	C24:0	Rango	P Valor
Desviación estándar	2,53%			2,08%			15,84%		
Blanco Testigo	0,20±0,00	A	0,8649	0,09±0,00	A	0,3058	0,33±0,02	A	0,1373
Talco 0,5%	0,20±0,00	A		0,09±0,00	A		0,40±0,01	A	
Arcilla Caolínica 1%	0,20±0,01	A		0,09±0,00	A		0,29±0,06	A	
Arcilla Caolínica 2%	0,20±0,01	A		0,09±0,00	A		0,30±0,08	A	

Figura 3.12 Ensayo de Coadyuvantes. Determinaciones analíticas de composición en AOV. Ácidos Grasos en muestras del Ensayo con Coadyuvantes Tecnológicos (N=3)



Fuente: Elaboración propia

IV.CONCLUSIONES

- La utilización de arcilla caolinítica permite mejorar el rendimiento del proceso de extracción respecto al testigo y el tratamiento con adición de talco para frutos de baja humedad.
- Los mejores agotamientos se obtuvieron con la dosis más elevada de arcilla caolinítica. Los elevados contenidos grasos observados en los orujos procedentes de la extracción con adición de talco podrían explicarse por la escasa humedad del fruto utilizado en los ensayos.
- La utilización de arcillas caoliníticas y talco no influyen sobre la calidad del aceite de oliva virgen. Todos los aceites analizados fueron clasificados dentro de la categoría virgen extra según los límites establecidos en el Reglamento (CEE) No 2568/91 (2016).
- En general, los coadyuvantes tecnológicos incrementaron en el aceite la presencia de los compuestos minoritarios analizados como compuestos volátiles, pigmentos, tocoferoles y compuestos fenólicos.
- En el caso de las arcillas caoliníticas la dosis que permitió obtener una concentración más elevada de compuestos volátiles, pigmentos, tocoferoles y compuestos fenólicos en los aceites extraídos fue de 1%.
- La adición de talco al 0,5%, determinó un aumento de la presencia de compuestos minoritarios como compuestos volátiles, tocoferoles y compuestos fenólicos.
- En definitiva, las arcillas caoliníticas en el caso de pastas procedentes de frutos de baja humedad mejoran el rendimiento del proceso de extracción para una dosis del 1%, sin afectar a la calidad del aceite y mejorando el contenido de compuestos minoritarios del aceite respecto del batido tradicional.

BIBLIOGRAFÍA

- AESAN. (2011). Líneas Directrices de la documentación precisa para la evaluación de coadyuvantes tecnológicos que se pretenden emplear en la alimentación. *Revista del Comité Científico de la AESAN- Agencia Española de Seguridad alimentaria y Nutrición.*, 79-93.
- Aguilera, M., Beltrán, G., Sánchez-Villasclara, S., Uceda, M., y Jiménez, A. (2010). "Kneading olive paste from unripe 'Picual' fruits: I. Effect on oil process yield". *Journal of Food Engineering* , 533-538.
- Aguilera, M., Jiménez, A., y Beltrán, G. (2010). Condiciones de batido de la pasta de aceituna en frutos de Picual de recolección temprana. *Vida Rural*, 32-35.
- Aguilera, P. (2006). *Influencia de las condiciones de batido de la pasta en los compuestos volátiles de oxidación del aceite de oliva virgen*. Jaén: Universidad de Jaén.
- Alarcón, J., Panez, R., Romos, P., Valle, E., y Yon, A. (2010). Determinación de Índice dePeróxidos en Aceites y Grasas. *UNFV*.
- Álvarez, M. (2017). El olivar en el mundo: más de 1.500 millones de olivos que abastecen de aceite a 174 países. *Interempresas- Industria del Aceite*.
- Amirante, P., Catalana, P., Amirante, R., Clodobeo, M., Leone, A., y Tamborino, A. (2002). Prove sperimentali di Estazione di oli da olive snocciolate. *Olive e olio*, 16-22.
- Angerosa , F. (2002). Influence of volatile compounds on virgen olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of lipid Science Technology*, 639-660.
- Aparicio, R., Morales, M., y García, D. (2012). Towards new analyses of aroma and volatiles to understand sensory perception of olive oil. *Eur.J. Lipid Sci. Technol.*, 1114-1125.
- Barranco , D., y Rallo, L. (1984). *Fichas Varietales de Olivo*. Córdoba: Departamento de Agronomía de la Universidad de Córdoba.
- Beltrán , G., Uceda , M., Hermoso , M., y Frías , L. (2008). *El cultivo del Olivo. Maduración*. Madrid: Mundi-Prensa. .

- Beltrán, G., Sadkaoui, A., Mohamed , A., y Jiménez, A. (2017). Las pastas difíciles: qué son, por qué se producen y cómo se tratan. *Industria de Aceite*.
- Borskou, D. (1996). *Olive Oil Chemistry and Technology*. Illinois: AOCS PRESS.
- Canet, M. (2004). Procedimiento para la industrialización de subproductos de almazara y productos obtenidos. *Agricultura y Ganadería*.
- Castillo, E., Torres, V., y Álvarez, B. (2007). El aceite de oliva y la salud. Proceso industrial y puntos críticos de control en almazaras. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 256-264.
- Castiñeira, M. (1989). La RMN de pulsos en industrias agroalimentarias. *Revist. Agroquim*, 449-469.
- Castro, E., Cara, C., Ruíz, E., Moya, M., y Romero, I. (2007). La poda del Olivar como materia prima para Biocombustible. *Dossier Biocombustible*, 524-528.
- Cegarra , J., Albuquerque , J., González, J., y García, D. (2004). Tratamiento del orujo de oliva de dos fases mediante compostaje. *Olivae: revista oficial del Consejo Oleícola Internacional*, 12-17.
- Cert, A., Albam, J., Moreda, W., y Pérez, M. (1996). Effect of talc adition and operating mode on the quaility and oxidative stability of virgen oils obtained by centrifugation. *Food Chem*, 3930-3034.
- Civantos, L. (2008). *Obtención del Aceite de Oliva Virgen*. Madrid- España: Agrícola Española S.A.
- Clodoveo, M. (2012). Malaxation: Influence on virgin olive oil quiality. *Trends in Food Science and Technology*, 13-23.
- COI. (2017). *Producción de Aceites de Oliva*. Consejo Oleícola Internacional.
- Della Porta, G. (2015). *El Aceite de Oliva Extra Virgen*. Lombardia: Babelcube Inn.
- Di Giovacchino, L. (1994). *Resultados obtenidos de la extracción del aceite de las aceitunas con un nuevo decantador de dos fases*. *Olivae* N 50, 42-44.
- Domínguez, P., Ávila, F., Carmona, C., Macías, H., Escalera, F., y Mendoza, M. (2015). *EFFECT OF DIETARY OREGANO OIL ON THE QUANTITY OF*

AEROBIC MESOPHILIC DETECTED IN FRESH AND FROZEN BROILER BREAST. Abanico Veterinario.

- Espínola, F. (2015). *Compuestos volátiles del aceite de oliva virgen y su relación con el análisis sensorial.* Jaén: AMV Ediciones.
- Fuentes, M. (2013). *Caracterización de los Aceites de Oliva Vírgenes producidos en la zona oleícola de Tierra de Barros.* Badajoz: Universidad de Extremadura.
- Gandul, B., Gallardo, L., Garrido, J., y Minguez, M. (1991). Control de pigmentos clorofílicos y carotenoides por HPLC en el aceite de oliva virgen. *Institutos de la Grasa y sus Derivados*, 56-60.
- García, A., Ramos , N., y Ballesteros, E. (2005). Estudio comparativo de distintas técnicas analíticas (espectroscopía de NIR y RMN y extracción mediante Soxhlet) para la determinación del contenido graso y de humedad en aceitunas y orujo de Jaén. *Grasas y Aceites*, 220-227.
- Garrido, A., Fernandez, M., y Adams, M. (1997). *Table Olives Production and Processing.* Londres: Chapman&Hall.
- Gimeno, E., Castellote, A., Lamuela-Raventos, R., De la Torre, M., y López, M. (2002). The effects of harvest an extraction method on antioxidants content in Virgin Oil. *Food Chem*, 207-211.
- Gutiérrez, F., Ríos, J., y Gómes, L. (2003). Main Polyphenols in the Bitter Taste of Virgin Olive Oil. Structure Confirmation by on-line high perfomande Liquid Chromatography Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Food Chem*, 6021-6025.
- Hermoso, M., González, J., Uceda, M., García, A., Morales, J., Frías, L., y Fernández, A. (1991). *Elaboración de Aceite de Oliva de Calidad.* Andalucía: Consejería de Agricultura y Pesca.
- Inajeros- García, A., Salvador, M., y Fregapane, G. (2011). Effect of crushing on olive paste and virgin olive oil minor components. *European Food Research*, 441-451.
- Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Mylona, A., Ioannou, M., y Andrikopoulos, N. (2007). Recovery and distribution of natural antioxidants (α -tocopherol, polyphenols

- and terpenic acids) after pan-frying of Mediterranean finfish in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 509-517.
- Kotsiou, K., y Tasioula-Margari, M. (2016). Monitoring the phenolic compounds of Greek extra virgin olive oils during storage. *Food Chem*, 255-262.
- Laboratorio CSR Servicios. (2006). *CALCULO DEL INDICE DE MADUREZ* . Linares- España: Laboratorio de Análisis.
- Lozano , J., Segura , A., y Fernández , A. (2010). “Composición del aceite de oliva”. *El aceite de oliva virgen: el tesoro de Andalucía*, 197-224.
- Lozano, J., Segura, A., y Fernández, A. (2012). Composición del Aceite de Oliva. 197-224.
- Martínez, F., Moyano, M., Alba, J., Ruíz, M., Hidalgo, F., y Heredia, F. (1999). Método rápido de obtención de aceite de oliva virgen para determinación de acidez. *Grasas y Aceites*, 122-126.
- Mínguez, M., y Garrido, J. (1986). Composición y evolución de clorofilas y carotenoides durante el desarrollo y maduración de los frutos del olivo. *Grasas y Aceites*, 337-342.
- Molina, J. (2013). *Obtención de aceites de oliva vírgenes*. Andalucía- España: IC Editoriales.
- Moreda, W., y Ortega, J. (2015). Qué hacemos con los ésteres etílicos. *Olimerca*.
- Moreno, A., y López, M. (2017). *Elaboración de aceites de oliva vírgenes*. Navarra: Mundi-Prensa.
- Moya, A., y Mateo, S. (2014). *Aprovechamiento de Residuos del Olivar*. Jaén: Universidad de Jaén.
- Narváez , P., Sánchez, F., Torres, A., y Ponce, L. (2017). Producción de ésteres metílicos en ácidos grasos. *Ingeniería e Investigación*, 41-50.
- Nates, J. (2012). España, el mayor exportador de aceite de oliva del mundo. *Suplemento Empresa- Economía*.
- Sadkaoui, A., Jiménez, A., Pacheco, R., y Beltrán, G. (2016). Micronized natural talc with a low particle size and a high carbonate rate is more effective at breaking

- down oil-in-water emulsion. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 545-552.
- Sánchez, J., y Salas, J. (2003). *Biogénesis del aroma del aceite de oliva- Manual del Aceite de Oliva*. Madrid: AMV y Mundi-Prensa.
- Scrimgeour, C. (2005). *Chemistry of Fatty Acids. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. In F. Shahidi, Bailey's Industrial Oil and Fats Products, Edible Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects*. New York: John Wiley and Sons.
- Tapia, F., y Arancibia, V. (2008). Variedades Picual. *INIA Intihuasi*.
- Tapia, F., Astrorga, M., Ibacache, A., Martínez, L., Sierra, C., Quiroz, C., y Riveros, F. (2003). *Manual del Cultivo del Olivo*. La Serena- Chile: Ideograma Ltda.
- Tello, J. (2016). Evolución y control en el tiempo de los parámetros analíticos dinámicos y su afectación a la calidad de los aceites almacenados. *Industrias del Aceite-Laboratorio J. A Tello*.
- Torres, A. (2013). *Influencia de los factores tecnológicos en la calidad y en el contenido antioxidante del Aceite de Oliva Virgen*. Jaén: Universidad de Jaén.
- Torres, J. (2012). Índice de Peróxidos. *Universidad de Cartagena*.
- Tsimidou, M. (2013). Analytical Methodologies: Phenolic Compounds relates to Olive Oil Taste Issues. *New York: Springer*, 311-333.
- Uceda, M., Aguilera, M., Beltrán, G., y Jiménez, A. (2000). *Aceites de Oliva Virgenes Extra*. Mengibar: Junta de Andalucía
- Vilar , J., y Cárdenas, R. (2012). *"El sector internacional de elaboración de aceite de oliva"*. Jaén: Gea Westfalia .