



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

**DETERMINACIÓN DE LOS
PUNTOS CRÍTICOS QUE
AFECTAN A LA CALIDAD DEL
ACEITE DE OLIVA VIRGEN DEL
ÁRBOL HASTA LA BODEGA**

Alumno/a: **Bóveda Martínez, Pablo**

Tutor/a: Dr. D. Gabriel Beltrán Maza
 Dra. Dña. Araceli Sánchez Ortiz

Dpto.: Centro IFAPA "Venta del Llano"

Diciembre, 2016



DETERMINACIÓN DE LOS PUNTOS CRÍTICOS QUE AFECTAN A LA CALIDAD DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN DEL ÁRBOL HASTA LA BODEGA

Esta memoria constituye el Trabajo Fin de Máster y se presenta a la Comisión Evaluadora en Jaén a 05 de diciembre del año 2016.

Fdo. Pablo Bóveda Martínez

**GABRIEL BELTRÁN MAZA INVESTIGADOR TITULAR Y
ARACELI SÁNCHEZ ORTIZ, INVESTIGADOR
CONTRATADO DEL CENTRO IFAPA “VENTA DEL
LLANO” DE MENGIBAR, JAEN.**

Como **TUTORES** de D. Pablo Bóveda Martínez, en el Máster Universitario en Olivar y Aceite de Oliva, durante el curso 2015-2016.

INFORMA: Que el presente trabajo fin de máster, ***“Determinación de los puntos críticos que afectan a la calidad del aceite de oliva virgen del árbol hasta la bodega”***, ha sido realizado en los laboratorios del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) de Venta del Llano por el Graduado D. Pablo Bóveda Martínez, para la obtención del Título de Máster Universitario en Olivar y Aceite de Oliva por la Universidad de Jaén, bajo la dirección de los Dres. D. Gabriel Beltrán Maza y Dña. Araceli Sánchez Ortiz.

Jaén, diciembre de 2016

Fdo.: Gabriel Beltrán Maza

Fdo. Araceli Sánchez Ortiz

FINANCIACIÓN. Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto PR.AVA.AVA201601.12 con la cofinanciación al 80% del Fondo Europeo de Desarrollo Regional, dentro del Programa Operativo FEDER de Andalucía 2014-2020.

AGRADECIMIENTOS

Gabriel y Araceli, gracias a ellos he llegado hasta aquí, son dos profesionales a los que se le nota que les gusta su trabajo y con los que ha sido gratificante trabajar por su optimismo y su empeño. Gloria, Almudena, Aymen, Luis, Enrique y Marcela, con ellos pasé incontables horas en el laboratorio, pero el buen equipo, el estupendo ambiente y el genial recibimiento que nos hizo Gloria permitió que el tiempo pasase más rápido que un *Paratarsotomus macropalpis*. Los miembros del IFAPA te reciben como uno más y eso es lo mejor que puede pasar en un lugar de trabajo.

El ambiente que había entre los de clase no era malo, ni pésimo, era buenísimo, mejor rollo no podía haber. Las cenas, quedadas y la celebración de cumpleaños, son detalles que marcan. Y con Claudio, Cristina, Eloi y Teresa tuve la oportunidad de conocer algunos de los mejores sitios de tapeo por Jaén, daba gusto subir las cuestas jienenses con estas compañías.

Miriam, Antonio, André y Víctor entraron como compañeros de piso y salieron como unos buenos amigos. Compañeros de debates, salidas a todas horas, tapeos, charlas, cultura gastronómica y lingüística. Podía haber sido un año normal y gracias a vosotros fue espectacular.

No pueden faltar aquí Noemí y Héctor, gracias por seguir estando aunque este año se pisase más el acelerador y los kilómetros hayan aumentado.

Y sobre todo, agradecerles a mis padres haber estado ahí para ayudarme, hacerme la vida más fácil y permitirme llegar hasta donde estoy ahora. Muchas gracias.

ÍNDICE

Índice

1. RESUMEN	9
2. ANTECEDENTES	13
2.1. SITUACIÓN DEL OLIVAR	15
2.2. ELABORACIÓN DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN	17
2.2.1. Recolección de aceituna.....	17
2.2.2. Transporte de la aceituna	20
2.2.3. Operaciones preliminares: limpieza, lavado, almacenamiento	20
2.2.4. Sistemas de obtención de aceite de oliva.....	22
2.3. EL ACEITE DE OLIVA	28
2.3.1. Composición del aceite.....	28
2.3.2. Calidad del aceite	38
3. OBJETIVOS	41
4. MATERIAL Y MÉTODOS	45
4.1. MATERIAL VEGETAL.....	47
4.2. EXTRACCIÓN DE ACEITE.....	48
4.3. TOMA DE MUESTRAS.....	49
4.5. DETERMINACIONES ANALÍTICAS	51
4.5.1. Determinaciones en fruto.....	51
4.5.2. Determinaciones en aceite	53
4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	63
5. RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	65
5.1. ENSAYO PUNTOS CRÍTICOS	67
5.1.1. Características del fruto	67
5.1.2. Características del aceite.....	69
5.2. EFECTO DEL SISTEMA DE RECOLECCIÓN DEL FRUTO	81
5.2.1. Características del fruto	81

5.2.2. Características del aceite.....	83
6. CONCLUSIONES.....	101
7. BIBLIOGRAFÍA	105

Índice de tablas

Tabla 2. 1. Densidad media de plantación en las explotaciones de olivar de Andalucía.	16
Tabla 2. 2. Superficie de olivar andaluz, según tipos de explotación, en la campaña 2009/10.	17
Tabla 4. 1. Clasificación del índice de madurez de la aceituna.	51
Tabla 5. 1. Datos de la madurez, pesos y relación pulpa/hueso de las aceitunas en los distintos puntos de control crítico.	67
Tabla 5. 2. Porcentaje de humedad de la aceituna en los puntos críticos analizados. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	68
Tabla 5. 3. Concentración de compuestos volátiles en cada punto de control crítico (mg·Kg ⁻¹ aceite). Siendo “ * ” volátiles no deseados y “ ** “ volátiles deseados.	80
Tabla 5. 4. Datos de la madurez, pesos y relación pulpa/hueso de las aceitunas en los puntos de control crítico de cada proceso método de recolección.	81
Tabla 5. 5. Porcentaje de humedad de la aceituna en los distintos puntos de control críticos de cada método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	82
Tabla 5. 6. Porcentaje de humedad de la aceituna, polifenoles totales y valor de K225 en el estudio sistemas de recolección.	90
Tabla 5. 7. Volátiles con la máxima concentración en cada punto de control crítico, según el método de recolección. Siendo “ * ” volátiles no deseados y “ ** “ volátiles deseados.	97
Tabla 5. 8. Volátiles con la mínima concentración en cada punto de control crítico, según el método de recolección. Siendo “ * ” volátiles no deseados y “ ** “ volátiles deseados.	98
Tabla 5. 9. Concentración de compuestos volátiles en cada punto de control crítico de los diferentes estudios de métodos de recolección. (mg·Kg ⁻¹ de aceite). Siendo “ * ” volátiles no deseados y “ ** “ volátiles deseados.	99

Índice de figuras

Figura 2. 1. Consumo mundial de aceite de oliva (Fuente: International Olive Council.	15
Figura 2. 2. Producción de aceite de oliva y aceituna de mesa en Andalucía (Fuente: AICA).....	16
Figura 2. 3. Molino con rueda de piedra cilíndrica.....	23
Figura 2. 4. Molino con rueda de piedra troncocónica.....	23
Figura 2. 5. Molino con rodillos.	23
Figura 2. 6. Molino de martillos.	24
Figura 2. 7. Molino de discos metálicos.	24
Figura 2. 8. Prensa hidráulica.	26
Figura 2. 9. Decánter de 2 fases.	27
Figura 2. 10. Decánter de 3 fases.	27
Figura 2. 11. Centrífuga vertical.	28
Figura 4. 1. Recepción de aceitunas en almazara.	50
Figura 4. 2. Salida de aceitunas de la tolva de almacenamiento.	50
Figura 4. 3. Aceite procesado por centrífuga vertical.	50
Figura 4. 4. Metodología de muestreo.....	50
Figura 4. 5. Espectrómetro de RMN.....	53
Figura 4. 6. Peso de muestra de aceite.....	54
Figura 4. 7. Pipeta y valorante.	54
Figura 4. 8. Color tras valoración.	54
Figura 4. 9. Color, tras la valoración, de la muestra disuelta.....	55
Figura 4. 10. Espectrofotómetro de UV visible Varian Cary 50 Bio.	56
Figura 4. 11. Peso de muestra de aceite.....	57
Figura 4. 12. Agitación de disolución en vórtex.	57
Figura 4. 13. Centrífuga.	57
Figura 4. 14. Diferenciación de 2 fases tras la centrifugación.	58
Figura 4. 15. Disolución final a medir en el espectrofotómetro.....	58
Figura 4. 16. Columnas SPE dispuestas en bomba de vacío.	59
Figura 4. 17. Muestra de aceite.....	59
Figura 4. 18. Cubetas con eluato disuelto en metanol:agua.	59

Figura 4. 19. Peso de muestra de aceite.....	62
Figura 4. 20. Fase estacionaria, gel de sílice.	62
Figura 4. 21. Recogida de eluato en matraces de corazón.	62
Figura 4. 22. Eliminación de disolvente, en el eluato, mediante rotavapor.....	62
Figura 5. 1. Porcentaje de aceite en húmedo y en seco de las aceitunas muestreadas en los distintos puntos críticos. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	68
Figura 5. 2. Valores de acidez de los aceites procedente de frutos tomados en las diferente puntos críticos del proceso de extracción. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	70
Figura 5. 3. Índice de peróxidos de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras hacen referencia a diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	71
Figura 5. 4. Valores de K232 de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	72
Figura 5. 5. Valores de K270 de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	73
Figura 5. 6. Valores de pigmentos carotenoides de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	74
Figura 5. 7. Valores de pigmentos clorofílicos de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	74
Figura 5. 8. Valores de K225 de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	75
Figura 5. 9. Representación de polifenoles totales de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	76

Figura 5. 10. Concentración de etanol de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	77
Figura 5. 11. Concentración de 3-etil-1,5-octadieno de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	78
Figura 5. 12. Concentración de 1-penten-3-ona de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	79
Figura 5. 13. Porcentaje de aceite en húmedo de las aceitunas muestreadas en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	82
Figura 5. 14. Porcentaje de aceite en seco de las aceitunas muestreadas en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	83
Figura 5. 15. Valores de acidez de los aceites procedentes de frutos muestreados en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	84
Figura 5. 16. Índice de peróxidos de los aceites procedentes de frutos muestreados en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	85
Figura 5. 17. Valores de K232 de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	86
Figura 5. 18. Valores de K270 de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	87
Figura 5. 19. Valores de pigmentos carotenoides de los aceites procedentes de frutos tomados en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	88
Figura 5. 20. Valores de pigmentos clorofílicos de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	88

Figura 5. 21. Valores de K225 de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	90
Figura 5. 22. Valores de polifenoles totales de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto control de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	91
Figura 5. 23. Valores de etanol de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto de control de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	95
Figura 5. 24. Valores de 3-etil-1,5-octadieno de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto de control de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	96
Figura 5. 25. Valores de 1 penten-3-ona de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto de control de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$	96

1. RESUMEN

En este trabajo se pretende analizar en qué momento se altera la aceituna desde su recolección hasta la obtención del aceite. Con la intención de obtener un producto en las mejores condiciones posibles para su consumo.

El estudio se realizará en la finca experimental del centro IFAPA "Venta del Llano" en Mengíbar y se centrará en el control de las etapas por las que pasa la aceituna para la obtención de aceite y en el efecto producido sobre el fruto dependiendo de distintos sistemas de recolección: a través de barredora y recolectora de púas en suelo desnudo y mediante la intercepción del fruto con mantones.

Las alteraciones detectadas, al emplear la barredora y la recolectora de púas y las detectadas durante el proceso de obtención de aceite, permitirán identificar los puntos críticos que son necesarios controlar e identificar como se ha realizado la recolección a través de determinados indicadores.

In this Master degree studies, we pretend to analyze when the olive is altered from its collection to the oil production. The intention is to obtain a commodity with the best possible conditions for its consumption.

The study is carried out in the experimental crop of IFAPA "Venta del Llano" center, situated in Mengíbar, and will focus on the stages which olive passes to obtain oil and the effect produced on the fruit depending of the harvesting systems: through an olive sweeper and an olive picker with spikes on bare soil and by the interception of the fruit with canvas.

The alterations detected, during the process of obtaining oil and when olive sweeper and olive picker with spikes are used, will allow to identify the critical points are necessary to control and identify how harvesting has been made through certain indicators.

2. ANTECEDENTES

2.1. SITUACIÓN DEL OLIVAR

El consumo mundial de aceite (Figura 2.1) está aumentando de forma importante con el transcurso de los años (Fuente: International Olive Council). Por ello, hay una tendencia a incrementar la densidad de plantación y la implantación de nuevas variedades que tengan una mayor productividad. Un ejemplo es la variedad 'Askal', la cual se obtuvo de un híbrido F7 de 'Barnea' y 'Manzanillo', seleccionado en condiciones de regadío para la producción de aceite en plantaciones altamente intensificadas (Lavee *et al.*, 2003).

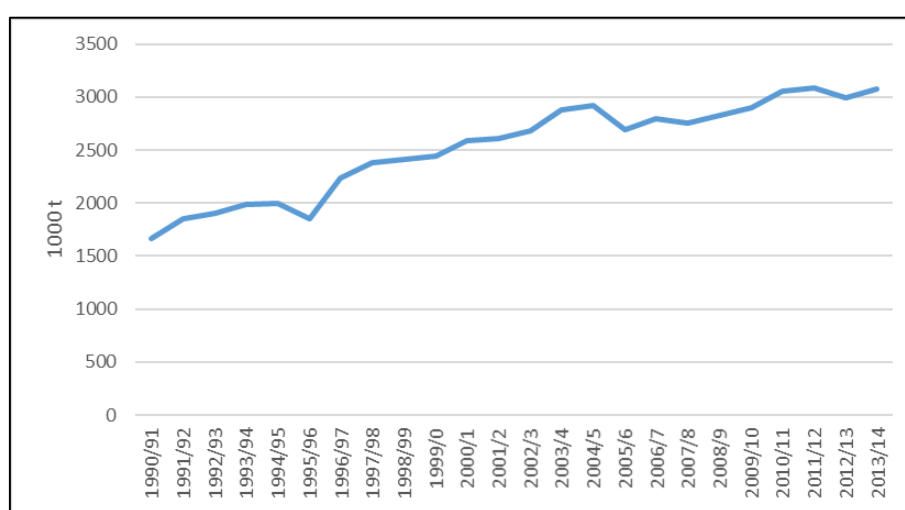


Figura 2. 1. Consumo mundial de aceite de oliva (Fuente: International Olive Council).

Esta tendencia se puede observar al analizar la evolución de la densidad media de plantación en las explotaciones de olivar en Andalucía entre los años 2000 y 2009, que se ha incrementado en un 6,08%, pasando de 126,33 árboles/ha en 2000 a 134,02 árboles/ha en 2009 (Tabla 2.1). Así, se observa que las producciones andaluzas de aceite de oliva y aceituna de mesa entre las campañas 1999/00 y 2013/14 (Figura 2.2) son crecientes.

Tabla 2. 1. Densidad media de plantación en las explotaciones de olivar de Andalucía.

Año	Densidad árboles/ha
2000	126,33
2005	125,39
2009	134,02
Fuente: Consejo de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, 2015	

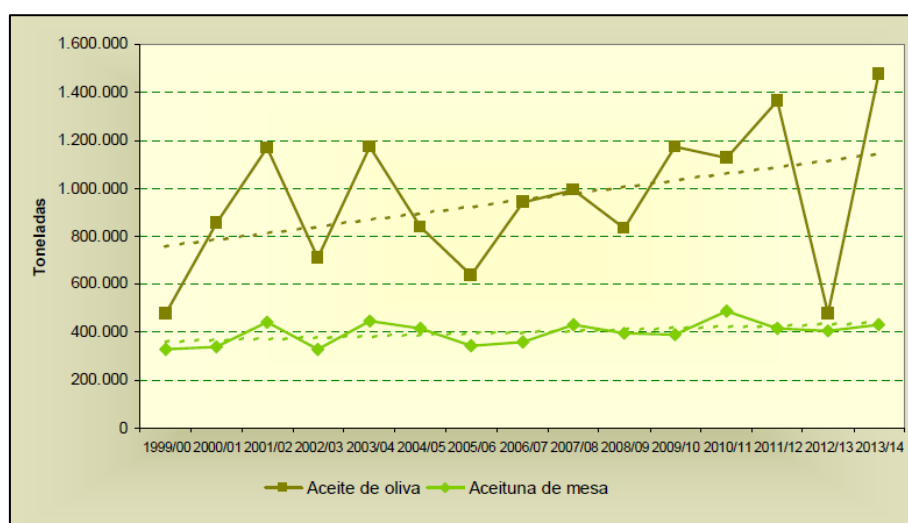


Figura 2. 2. Producción de aceite de oliva y aceituna de mesa en Andalucía (Fuente: AICA).

Pese a esto, el olivar que sigue predominando en el territorio andaluz es el olivar extensivo con densidad igual o inferior a 150 árboles/ha (Tabla 2.2), con 723.018 hectáreas (47,51%) (Consejo de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, 2015)

Tabla 2. 2. Superficie de olivar andaluz, según tipos de explotación, en la campaña 2009/10.

Tipos	Superficie (ha)	%	Rto. Medio Explotaciones en pleno estado productivo (kg aceituna/ha)
Olivar de bajos rendimientos	95.923	6,30%	431,25
Olivar de alta pendiente	354.515	23,30%	3.355,73
Olivar extensivo con densidad inferior o igual a 150 árboles/ha	723.018	47,51%	3.967,49
Olivar extensivo de densidad media	113.629	7,47%	4.111,80
Olivar intensivo	213.361	14,02%	4.831,56
Olivar superintensivo	21.375	1,40%	6.170,80
TOTAL OLIVAR ANDALUZ	1.521.821	100,00%	3.764,95
Fuente: Consejo de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, 2015.			

2.2. ELABORACIÓN DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

2.2.1. Recolección de aceituna

La recolección de las aceitunas se puede considerar la primera etapa de la elaboración del aceite de oliva virgen. Los sistemas de recolección de aceituna se pueden clasificar en función de cómo se lleve a cabo, de forma manual o mecanizada.

❖ Sistemas manuales

- **Ordeño:** consiste en tomar la rama en carga desde su extremo basal, arrastrando la mano hacia el extremo opuesto, de modo que caiga el mayor número de aceituna por cada pasada. El ordeño se puede mecanizar mediante el uso de rastrillos de plástico, que funcionan como un peine y entre los dientes va arrastrando las aceitunas.
- **Vareo:** esta técnica se basa en derribar los frutos con el golpe de una vara sobre las ramas fructíferas, es un método bastante drástico, que usado sin conocimiento puede causar más daños que beneficios, pues se pueden romper los frutos y ramillas. Sin embargo, cuando se conoce la técnica da buenos

resultados, obteniéndose una cosecha rápida, con un mínimo daño de frutos y follaje.

❖ Sistemas mecanizados

- Maquinaria para la recolección de frutos en el árbol

Para este tipo de recolección se diferencian dos métodos de cosecha mecanizada: uno es por vibración de troncos, muy útil en árboles de gran desarrollo, y el otro es mediante la vibración de ramas. Para esto último se utilizan las cosechadoras cabalgantes, que cubren ambas caras del seto y producen un frotamiento mediante varas. Este movimiento provoca que las aceitunas se suelten y caigan (Tapia *et al.*, 2003).

Para conseguir una optimización en la recolección mecanizada con vibrador de troncos Gil *et al.* (2007) se centró en 3 puntos:

- Análisis de la vibración aplicada a los olivos.
- Determinación de tiempos óptimos de vibrado y caracterización del sistema de agarre.
- Análisis de la calidad del aceite en función del sistema y fecha de recolección.

Los resultados a destacar fueron que, ante la vibración, el olivo presenta una menor frecuencia en las ramas que en el tronco. Es importante la altura de agarre del tronco, ya que cuanto más bajo la transferencia de la vibración es mayor. Con respecto al tiempo de vibrado, 12 segundos permiten derribar el 90% de las aceitunas susceptibles a ello, siendo recomendado hacerlo en 2 tiempo de 6 segundos.

- Maquinaria para la recolección de frutos en el suelo

Para la recolección de aceituna de suelo mediante maquinaria, según su funcionamiento, se diferencian 3 tipos:

- Pinchadoras
- Barredoras
- Aspiradoras

Las más empleadas han sido las que usan el principio de barrido; pues las aspiradoras, además de tener una mayor complejidad, requieren una elevada potencia y las pinchadoras suelen ser usadas por su rapidez, pero dañan el fruto (Porrás, 1987).

Por dicho daño, mediante un estudio realizado por Hermoso *et al.* (2016) se estudió el efecto de la pinchadora sobre las aceitunas recién derribadas, ya que su rendimiento horario en la recolección es de interés.

Los ensayos se realizaron durante la campaña 2014-2015, en la comarca del Montsià, al sur de Tarragona, zona en la que es habitual la recogida de aceituna del suelo mediante recolectoras de pinchos. Las variedades utilizadas han sido las tradicionales 'Farga' y 'Morrut'. Se limpió previamente el suelo, los frutos se transportaron en cajas de pequeño volumen y se procesaron antes de 24 horas, mediante sistema "Abencor" en la planta experimental de aceites del IRTA Mas de Bover.

Comprobándose que, el derribo de la aceituna y su recogida inmediata mediante recolectora de púas ha permitido mantener la categoría comercial del aceite, respecto al cosechado directamente del árbol.

Las barredoras pueden ser manuales o autopropulsadas.

Las barredoras manuales son propulsadas por motor y el giro del rodillo recogedor también es mecánico. Pero la dirección y el vaciado de la tolva son manuales. Tienen como ventajas que su tamaño es pequeño, pudiéndose desplazarse por las proximidades del tronco y que realiza cierta limpieza a las aceitunas recogidas, ya que arrastra las aceitunas por una rejilla. Pero su rendimiento es bastante inferior a las propulsadas.

Las barredoras autopropulsadas se diferencian con respecto a las manuales en que el rodillo barredor gira a más revoluciones, su velocidad de avance es mayor, la anchura del rodillo también y arrastra la aceituna por una chapa sin orificios y de forma curva. El rendimiento de esta barredora es superior, pero por sus características recoge más suciedad y tiene menor facilidad para acceder a las zonas difíciles

Con respecto a las aspiradoras, recogen las aceitunas mediante una corriente de aire. Su problema es su complejo funcionamiento, la recogida de elementos de densidad similar a la de la aceituna y su principal problema es la alta potencia que requiere. De ahí que no sea un método muy empleado (Molina *et al.*, 2004).

2.2.2. Transporte de la aceituna

Para que no se pierda la calidad de la aceituna se debe realizar en las mejores condiciones y en la mayor brevedad posible. Para esta práctica, comúnmente, se diferencian las siguientes técnicas:

- En sacos. Es la técnica menos recomendable, ya que, al apilar los sacos se favorecen fermentaciones y se ejerce mucha presión sobre el fruto, facilitando roturas del fruto.
- A granel: esta técnica es adecuada dependiendo de la cantidad que se transporte. Si la capa de aceitunas es excesiva se producen roturas y fermentaciones.
- En cajas o recipientes paletizables: es el mejor método para una adecuada conservación del fruto. Ya que con este método la presión sobre el fruto se reduce considerablemente y su aireación es mayor, reduciendo el calentamiento. Su inconveniente es que, resulta una técnica laboriosa (Molina *et al.*, 2004).

2.2.3. Operaciones preliminares: limpieza, lavado, almacenamiento

❖ Limpieza

Consiste en eliminar pequeñas impurezas, de menor peso que la aceituna (como hojas y ramas), mediante el paso de las aceitunas por una criba y aplicándoles una corriente de aire (Guardia, 2008).

❖ Lavado

Se realiza mediante la aplicación de agua sobre los frutos, eliminando restos de tierra, fitosanitarios y otras impurezas. Es importante separar las

aceitunas de suelo de las de vuelo; debido a que las de suelo llevan más tierra e impurezas, evitando el lavado de las aceitunas de vuelo, ya que en este proceso se favorece la pérdida de compuestos solubles, como los polifenoles (Moya et al., 2007).

Llega un momento en el que es necesario cambiar o tratar el agua de lavado, ya que según Guardia (2008), en ocasiones los niveles de contaminantes que se alcanzan en el agua de las lavadoras son tan altos que la aceituna se contamina durante el proceso de limpieza.

❖ Almacenamiento

Tras la limpieza, el fruto se almacena durante un tiempo variable hasta su almacenamiento. Durante esta fase es importante la aireación del fruto. El almacenamiento se lleva a cabo en tolvas de almacenamiento de acero al carbono y de forma más reciente de acero inoxidable, su capacidad suele oscilar entre 10 y 50 toneladas. Normalmente, el tiempo de almacenamiento no supera las 24 horas antes del procesado de la aceituna. Esto es de tener en cuenta, ya que la disponibilidad de aire para el fruto suele ser reducida en estos sistemas de almacenamiento.

De hecho, Jabeur et al. (2015) estudio como afectaba el almacenamiento de aceitunas, en bolsas de plástico cerradas y en cajas de plástico perforadas, sobre su calidad. Y lo que se observó fue que el almacenamiento de las frutas en cajas de plástico perforadas previene la rápida alteración que se produce en aceites de frutos almacenados en bolsas de plástico cerradas. Esto es debido a que los agujeros de las cajas son muy importantes para permitir la ventilación de las aceitunas, lo que retrasa los procesos de fermentación en los frutos almacenados. Si se empleasen cajas para el almacenamiento de aceitunas para aceite, habría una mejora significativa en la calidad para la industria de aceite de oliva. De hecho, todos los tipos de procesos degenerativos que se desarrollan durante el almacenamiento en un corto periodo de tiempo se producen por el simple amontonamiento de los frutos, en espera de su procesamiento (Rabiei et al., 2011).

Otro factor importante a tener en cuenta es la temperatura de almacenaje de la aceituna. El Departamento de Fisiología y Tecnología de Productos Vegetales

del Instituto de la Grasa ha estudiado a escala de laboratorio las condiciones idóneas de almacenamiento de la aceituna para la obtención de un aceite de calidad (Pérez-Camino et al., 1992; Gutiérrez et al., 1992; García, 1993; García et al., 1994; García et al., 1996). En estos trabajos se puso de manifiesto que la refrigeración a 5 °C de la aceituna 'Picual' en envases plásticos con capacidad para 60 Kg de fruto permitía durante más de 30 días la obtención de aceite de oliva virgen extra.

Esta temperatura para el almacenamiento vuelve a ser confirmada como la idónea en el estudio de Canet y García (1999). Ya que, frutos envasados en contenedores plásticos para 14 Kg y almacenados en una cámara frigorífica a 5 °C por un tiempo máximo de 18 días dieron aceites de la categoría virgen extra.

En algunos casos, la temperatura a la que puede llegar la aceituna puede ser variable, debido a que el almacenamiento del fruto a escala industrial se lleva a cabo en tolvas situadas en el patio. Por lo tanto, ésta dependerá en gran medida de la temperatura ambiente y de las horas que incida el sol sobre ellas. De tal manera que, los estudio anteriores no serían adecuados para describir el comportamiento a nivel industrial.

2.2.4. Sistemas de obtención de aceite de oliva

❖ Molienda

Todos los sistemas actuales empleados para la obtención de aceite a partir de las aceitunas prevén el molido del fruto, ya que gracias a la rotura de las paredes celulares se libera el aceite contenido en el interior de las células. Los sistemas de molienda más comunes son:

- Molino de piedra o “empiedro” El sistema está constituido por un recipiente con bordes de acero laminado y base de granito. En su interior se encuentran unas ruedas de piedra, cilíndricas (Figura 2.3) o troncocónicas (Figura 2.4), que son las que se encargan del molido. Su número varía entre 2-4 y su peso entre 2 y 4 toneladas. Hay que tener en cuenta que, actualmente se encuentra en desuso debido a su reducida capacidad y a que el grado de molienda viene dado en función del tiempo de permanencia del fruto en él.



Figura 2. 3. Molino con rueda de piedra cilíndrica.



Figura 2. 4. Molino con rueda de piedra troncocónica.

- Molino continuo, con rodillo de piedra: Está constituido por dos rodillos en piedra, que rotan en sentido inverso, y puede estar seguido por otro molino de martillos o de discos metálicos. Sus aceites son armoniosos debido a que se extrae una menor cantidad de sustancias amargas.

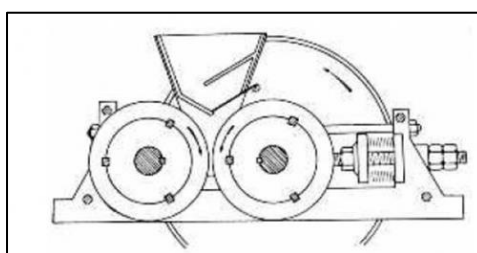


Figura 2. 5. Molino con rodillos.

- Molino de martillos: Está formado por unos martillos que pueden ser fijos o móviles, y que se encuentran encima de un disco rotatorio. Este instrumento tiene una elevada capacidad de trabajo, y a causa de la violenta ruptura de las aceitunas favorece la extracción de los pigmentos clorofílicos y de las sustancias fenólicas. Los aceites obtenidos por este molino poseen características organolépticas muy marcadas, con gran influencia de la sensación de amargo.



Figura 2. 6. Molino de martillos.

- Molino de discos metálicos: realiza un molido de muy buena calidad, ya que no produce emulsiones y tienen la capacidad de extraer grandes cantidades de sustancias fenólicas y pigmentos clorofílicos. Su principal limitación es la fragilidad de los dientes, que se rompen con facilidad en presencia de cuerpos extraños.



Figura 2. 7. Molino de discos metálicos.

❖ El batido

Favorece la extracción del aceite, ya que posibilita la agregación de las gotas de aceite. Se lleva a cabo en contenedores rodeados de una camisa termostatzada y equipados con paletas rotatorias, denominadas batidoras. En el batido se produce una mezcla continua de la pasta de aceituna que conlleva a la producción de los compuestos volátiles responsables de la riqueza aromática de los aceites de oliva. Al mismo tiempo se produce la transformación de los compuestos fenólicos desde la

forma glicosilada (de gran polaridad y por ello con mayor afinidad por la fase acuosa), hacia compuestos menos polares que se van a repartir entre agua y aceite

En el proceso de batido existen dos variables que permiten su regulación, el tiempo y la temperatura. Su regulación adecuada permite optimizar el proceso y las características sensoriales y bioactivas del aceite. es importante controlar el tiempo y la temperatura a la que ésta se desarrolla, ya que es vital para de optimizar la calidad del aceite.

❖ Separación sólido-líquido

Esta operación tiene como objetivo separar el aceite del alpechín y del orujo. Esta fase difiere en su funcionamiento dependiendo si los sistemas son tradicionales o continuos.

- Sistemas tradicionales. La etapa de separación se realiza en 2 fases:
 - La primera consiste en separar los líquidos (aceite y alpechín) de los sólidos (orujo) mediante el uso de prensa hidráulica (Figura 2.8). Para ello, la pasta de aceituna se distribuye a lo largo de los diferentes discos filtrantes (o capachos) mediante una dosificadora. Estos discos se apilan en una bandeja metálica provista de un eje central con diversos orificios a través de los cuales drena la fracción líquida. Y mediante la presión generada (de hasta 400 atmósferas) se drena la fase líquida, mientras que la fase sólida queda retenida.



Figura 2. 8. Prensa hidráulica.

- Y en la segunda fase, a partir de la fase líquida obtenida, se separa el aceite del alpechín mediante una centrífuga vertical (Figura 2.11).

La limitación del sistema de separación por presión se encuentra en la discontinuidad a la que está sujeta esta operación y a la imposibilidad de una limpieza completa de las superficies de drenaje

- Sistemas continuos

Las operaciones de extracción del aceite se llevan a cabo de forma continua mediante la ayuda de separadores mecánicos. La maquinaria a emplear son las centrífugas de eje horizontal (también conocidas como decantadores), en función del tipo de separación que realicen se pueden encontrar los siguientes tipos:

- Decantador de 2 salidas: a través de esta máquina se obtiene aceite y por otro alpeorujo (mezcla de alpechín y orujo). Es el de uso mayoritario en España, no requiere de adición de agua de forma sistemática y elimina la producción del principal efluente líquido, el alpechín. Los aceites obtenidos mediante esta tecnología presentan una mayor intensidad del verde y del amargo.

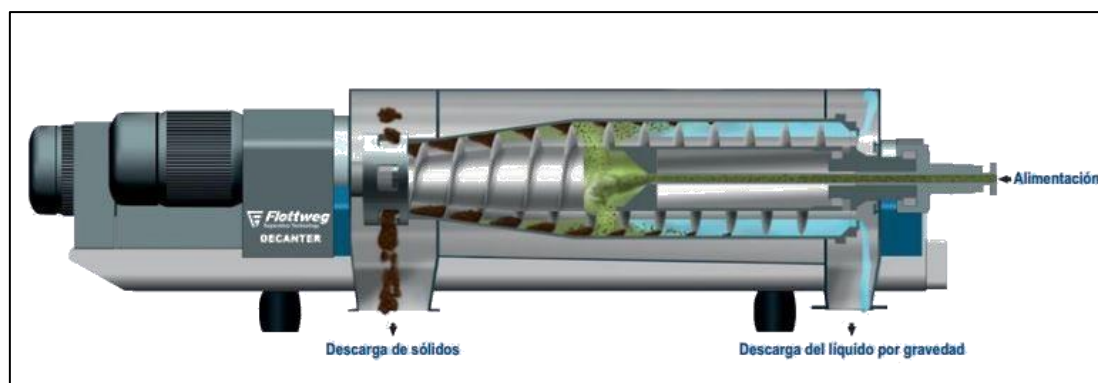


Figura 2. 9. Decánter de 2 fases.

- Decantador de 3 tres salidas: permite la separación de la pasta de aceituna en sus tres fracciones: la fracción oleosa, la acuosa y la sólida (orujo). En estos sistemas es necesaria la adición de agua para facilitar la separación de las diferentes fracciones. En la actualidad, en España su uso es minoritario.

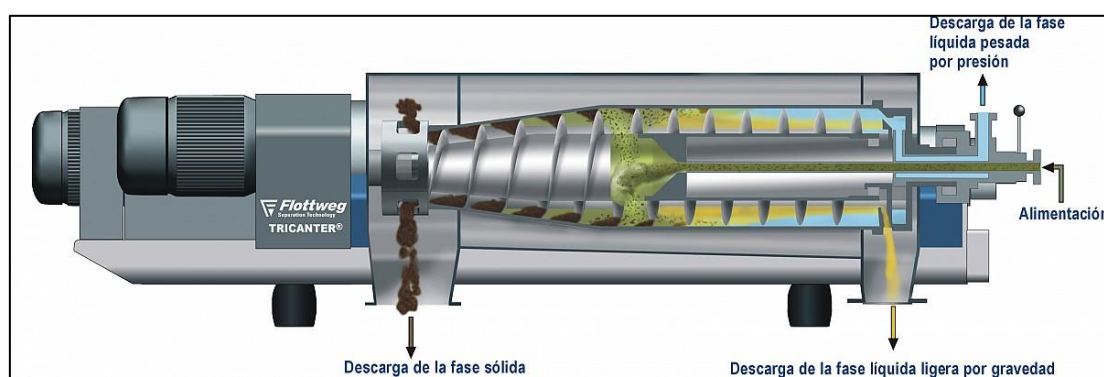


Figura 2. 10. Decánter de 3 fases.

Es importante controlar el agua añadida, ya que la adición de ésta afecta a la calidad del aceite y especialmente a su contenido en compuestos fenólicos, que disminuye de manera proporcional a la cantidad de agua que se le añade al sistema.

• CLARIFICACIÓN

El aceite obtenido del decantador todavía presenta humedad y partículas que han de ser eliminadas antes de su almacenamiento. Para ello,

se lleva a cabo la etapa de clarificación, la cual se puede llevar a cabo mediante centrífugas verticales (Figura 2.11) o a través de decantadores naturales (Cerretani, 2009). El sistema más extendido es el de la centrifugación vertical.

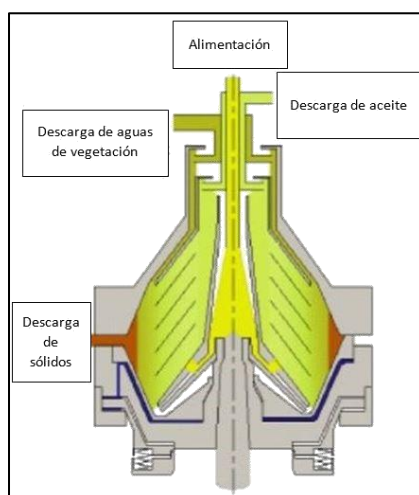


Figura 2. 11. Centrífuga vertical.

2.3. EL ACEITE DE OLIVA

2.3.1. Composición del aceite

En los aceites de oliva, existen dos fracciones bien diferenciadas (Lozano *et al.*, 2009): una fracción mayoritaria, saponificable, que es la parte propiamente grasa, y una segunda fracción, muy pequeña respecto al peso total del aceite, (entre el 1% y el 2%), llamada fracción insaponificable, de enorme importancia en cuanto a los componentes saludables que contiene.

2.3.1.1. Fracción saponificable

Entre los constituyentes de la fracción saponificable están los triglicéridos, que suponen el componente principal del aceite de oliva, y en una proporción mucho menor, se encuentran, los diglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos libres.

❖ Ácidos grasos.

El aceite de oliva es una grasa vegetal que se diferencia de otras grasas vegetales en su alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados. La presencia de ácidos grasos libres le confiere al aceite su carácter más o menos ácido,

dependiendo de la mayor o menor concentración de éstos. Pero salvo en contadas ocasiones, los ácidos grasos, no se encuentran como ácidos grasos libres, y cuando lo están es tan sólo en pequeñas concentraciones, debido a que en su gran mayoría los ácidos grasos se encuentran formando ésteres, habitualmente combinados con glicerina, en forma de triglicéridos. También pueden formar ésteres con alcoholes grasos de estructura lineal (ceras) o terpénica (ésteres de terpenos y ésteres de esteroides).

Los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva son: mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), heptadecanoico (C17:0), heptadecenoico (C17:1), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoléico (C18:2), linolénico (C18:3), araquídico (C20:0), eicosenoico (C20:1), behénico (C22:0) y lignocérico (C24:0). Su concentración va a depender principalmente de los siguientes factores: latitud, condiciones climáticas, variedad y grado de madurez de las aceitunas recogidas.

❖ Triglicéridos

Son los componentes más abundantes de la parte saponificable. Los triglicéridos son ésteres provenientes de la unión del triálcohol glicerina (1, 2, 3-propanotriol), con ácidos grasos, ya sean los tres iguales con el mismo número de átomos de carbono, dos iguales y uno diferente, o bien los tres diferentes.

Aunque los triacilglicéridos del aceite de oliva muestran una asimetría en la distribución de los ácidos grasos, encontramos una única molécula simétrica, la trioleína OOO, formada por glicerol esterificado con tres moléculas de ácido oleico, que representa la mitad del total de estos compuestos.

❖ Mono y Di-glicéridos

La presencia de mono- y di-acilglicéridos es debida, en parte, a una incompleta biosíntesis, pero principalmente a la hidrólisis del aceite.

En el aceite de oliva virgen, las concentraciones de diglicéridos varían entre 1 y 2,8 %. Los monoglicéridos están presentes en cantidades mucho menores (menos del 0,25 %).

Las cantidades relativas de 1,2-diacilglicéridos con 1,3-diacilglicéridos, nos sirve para conocer las condiciones a las que ha sido sometida la aceituna y la edad de ciertos aceites. Ya que los 1,2-diacilglicéridos presentes en el aceite recién prensado tienden a isomerizarse a la forma más estable 1,3-diacilglicéridos. De esta forma se observa un incremento de 1,3- diacilglicéridos en el aceite, lo que nos indica una merma en la calidad.

2.3.1.2. Fracción insaponificable

Representa sobre el 2% del peso del aceite de oliva, en el que se incluye una gran variedad de compuestos químicos.

Esta fracción minoritaria puede dividirse en dos grupos:

- Compuestos que están químicamente relacionados con los ácidos grasos, como pueden ser: fosfolípidos, ceras y ésteres de esteroides.
- Compuestos que no están químicamente relacionados con los ácidos grasos: hidrocarburos, alcoholes alifáticos, esteroides libres, tocoferoles, clorofilas, carotenoides y compuestos fenólicos.

❖ Compuestos que están químicamente relacionados con los ácidos grasos.

- Fosfolípidos

En la estructura de los fosfolípidos el ácido oleico es el ácido graso predominante, y el patrón de ácidos grasos es similar al de los triglicéridos. Los principales fosfolípidos encontrados en el aceite de oliva son: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y fosfatidilserina (*Cert et al.*, 1994).

- Ceras

Las ceras son ésteres de alcoholes grasos con ácidos grasos. Las principales ceras de los aceites de oliva son de número de carbono par, es decir, los ésteres de C-36 a C-46. Se producen mediante una esterificación entre alcoholes presentes en el aceite y los ácidos grasos libres.

Por lo tanto, cuando se produce una hidrólisis de los triglicéridos se produce un aumento en la velocidad de esterificación. Este incremento depende de la concentración de especies reactivas y de las condiciones de almacenamiento (Mariani y Venturini, 1996). Por ejemplo, se observa un incremento en ceras, tras el almacenamiento, en el aceite de oliva virgen usado como cobertura de conservas vegetales envasadas en vidrio (Mucciarella y Marsilio, 1997).

- Ésteres De Esteroles

La estructura de los esteroides es una estructura esteroidea que deriva del ciclopentanoperhidrofenantreno con diferentes radicales y, entre ellos grupos alcohólicos o hidroxilos.

Los esteroides pueden estar presentes de forma libre o esterificada. La esterificación de los esteroides se produce entre los grupos hidroxilos de éstos y de los ácidos grasos libres. Aproximadamente, el 10-15% de los esteroides totales están presentes como esteril ésteres.

- ❖ Compuestos que no están químicamente relacionados con los ácidos grasos

- Hidrocarburos

Los hidrocarburos presentes en el aceite de oliva pueden ser de diversa naturaleza: terpénicos, esteroideos o policíclicos aromáticos.

- Hidrocarburos terpénicos

Los hidrocarburos hallados en mayor cantidad para el aceite de oliva son: escualeno y β -caroteno.

El escualeno es un triterpeno lineal polímero del isopreno. Está presente en todos los aceites y grasas vegetales, especialmente en el aceite de oliva, y es un precursor bioquímico de la biosíntesis de los esteroides. Es el principal constituyente de la materia insaponificable, pudiendo llegar a suponer hasta un 40% del peso total de esta fracción.

El β - caroteno es un terpenoide que se encuentra en concentraciones que varía de 0,5 a 4 mg/kg.

- Hidrocarburos esteroides

Los hidrocarburos esteroides no se encuentran de forma natural, o se encuentran en muy bajas cantidades en los aceites de oliva virgen. Esto es debido a que estos hidrocarburos aparecen en los procesos de refinado, durante el cual, tiene lugar la deshidratación de los esteroides, por acción del calentamiento. El hidrocarburo más significativo que se forma en el refinado es el estigmasta-3,5-dieno a partir del β -sitosterol (Cert et al, 1994). Este compuesto sirve para evidenciar la presencia de aceite refinado en aceite de oliva virgen.

- Hidrocarburos policíclicos aromáticos

Se han encontrado en aceite de oliva en cantidades muy reducidas. Según Tiscornia *et al.* (1982), estos compuestos proceden mayoritariamente de la contaminación que hayan sufrido los aceites que de metabolitos propiamente dichos. Algunos de los hidrocarburos aromáticos presentes son: naftaleno, fenantreno, fluorantreno, 1,2-benzoantraceno, criseno y perileno (Fedeli, 1977).

- Alcoholes grasos

Los alcoholes grasos son constituyentes importantes ya que pueden emplearse para diferenciar los diferentes tipos de aceites. Pueden ser lineales (alifáticos), diterpénicos o triterpénicos.

- Alcoholes alifáticos

Los alcoholes alifáticos son compuestos de estructura lineal precursores de la formación de ceras. Así, un alto contenido de alcoholes y unas condiciones climáticas secas y altas temperaturas puede traer como consecuencia que el contenido en ceras aumente con el tiempo. Pero respecto a la cantidad, el contenido total de este grupo de compuestos está en torno a 350 mg/kg de aceite, nunca en cantidades superiores.

- Alcoholes diterpénicos

En el aceite de oliva se conocen dos alcoholes diterpénicos: el fitol y el geranilgeraniol. Paganuzzi (1979) ha informado de una concentración de fitol en el aceite de oliva de 120-180 mg/kg.

- Alcoholes triterpénicos

Es una fracción compleja en la que aún muchos de los compuestos no han sido identificados. Están presentes en concentraciones que varían de 1000 a 1500 mg/kg de aceite. Los principales alcoholes triterpénicos que están presentes en los aceites de oliva son: β -amirina, butirospermol, cicloartenol y 24-metilencicloartenol.

- Esteroles libres

Pueden estar presentes en su forma libre o esterificada con ácidos grasos. La diferencia entre los diferentes esteroles está en el número y posición de los dobles enlaces y en la naturaleza de la cadena lateral. Los principales esteroles del aceite de oliva son: β -sitosterol (el cual representa el 75-90% de la fracción total de esteroles), Δ -5-avenasterol y campesterol.

El contenido total de esteroles se relaciona con la acidez libre; por lo tanto, los aceites con un porcentaje alto de ácidos grasos libres tienen un alto valor de esteroles totales.

Diversos autores (Mariani et al., 1991; Gutiérrez et al., 1999), destacan que los esteroles se sintetizan en las primeras etapas de desarrollo y más tarde se van diluyendo en la grasa del fruto; lo cual implica que, se aprecia una tendencia a disminuir conforme aumenta el índice de madurez de la aceituna.

La composición en esteroles también se ve afectada por el periodo de almacenamiento de las aceitunas y por como se tratan. Esto se observa en las aceitunas de suelo, en las cuales el estigmasterol alcanza niveles mayores si las comparamos con las de vuelo. En el caso del almacenamiento, si es largo, se puede producir un aumento significativo del contenido total de esteroles. Y durante el procesado de las aceitunas se producen unas pérdidas significativas de esteroles, siendo más pronunciadas en la fracción de esteroles libres.

- Tocoferoles

Se han identificado varios tocoferoles aislados y se han designado como α , β , γ y δ -tocoferol. Se diferencian unos de otros en la posición de los grupos metilos sustituyentes. En el aceite de oliva, están presentes sólo en su forma libre (no esterificada).

El principal homólogo de las formas de vitamina E presente en el aceite de oliva es el α -tocoferol y representa aproximadamente el 90-95% de los tocoferoles totales, las formas β y γ se encuentran por debajo del 10% y la forma δ en proporciones muy bajas. Algunos autores, incluso, afirman que la forma δ -tocoferol no está presente en el aceite de oliva (Micali y Curro, 1984; Dionisi y col., 1995; Rovellini y col., 1997).

El contenido en estos compuestos disminuye con la maduración del fruto del olivo. La concentración de tocoferol es mayor cuando las aceitunas se recogen en el primer periodo de campaña y hacia el final de la recogida de las aceitunas se reduce el contenido.

Tienen una importante actividad como agentes antioxidantes naturales y confieren estabilidad a la grasa o aceite que los posee. Químicamente el α -tocoferol es la forma de la vitamina E que ejerce una acción antioxidante más importante, ya que reacciona con los radicales peróxido de los ácidos grasos, que son los productos primarios de la autooxidación de la grasa, y detiene así la alteración en las primeras etapas.

- Dialcoholes triterpénicos

Los más abundantes son: eritrodiol y uvaol.

También se pueden encontrar ácidos hidroxiterpénicos pentacíclicos, que son la forma oxidada de los dialcoholes triterpénicos. Entre estos compuestos, podemos diferenciar: ácido oleanólico, ácido maslínico, ácido ursólico, ácido botulínico, ácido 2 α -hidroxiursólico y ácido deoxiursólico.

- Pigmentos

El color del aceite de oliva virgen va desde verde (oscuro a claro) al dorado o amarillo, y es considerado un parámetro importante de calidad,

enumerándose como uno de los atributos para evaluar el aceite. Estos colores son debidos al contenido en pigmentos presentes en los aceites

Los pigmentos se pueden dividir en dos grupos: clorofilas y feofitinas por un lado y los carotenoides por otro. Los pigmentos responsables del color verde son las clorofilas, el paso a verde pardo se debe a la degradación de la clorofila a feofitina (Barreiro, 2006) y el color amarillo a la presencia de carotenoides. La concentración de los pigmentos está limitada en cada estado de madurez y es la que determinará el color del fruto.

- Compuestos fenólicos

Están presentes en el mesocarpio de la aceituna, y no se encuentran en ningún otro aceite vegetal. Son considerados como una parte importante del sistema químico de defensa del fruto. Se les atribuyen funciones diversas, entre las que podemos citar su actividad antimicrobiana (Fleming *et al.*, 1973, Mahjoub y Bullerman, 1987; Tranter *et al.*, 1993; Tassou y Nychas, 1995; Aziz y col., 1998), y protección frente al daño oxidativo al limitar los efectos de la luz UV (Galli y Visioli, 1999).

Afectan a la estabilidad frente a la oxidación, sabor y aroma del aceite obtenido del fruto, y han sido identificados como los principales responsables de las propiedades antioxidantes del aceite de oliva virgen extra. Por otra parte, los polifenoles también contribuyen a las propiedades organolépticas de los aceites de oliva vírgenes, participando así de los atributos positivos que permiten la clasificación de los aceites por un panel de catadores. Se han relacionado con la astringencia y el amargo, sabor característico de los aceites obtenidos de aceitunas verdes o en envero.

Es importante la cantidad de agua utilizada durante el proceso de extracción, ya que, afecta a su concentración; separándose más polifenoles del aceite cuando la cantidad de agua es elevada. De hecho, los aceites producidos en sistemas de dos fases, no emplean agua caliente, no hay aguas de desecho, y por lo tanto, tienen concentraciones más altas en compuestos fenólicos, por lo que son más estables ante la autooxidación.

Según su estructura química, se diferencian los siguientes polifenoles:

- Ácidos fenólicos

Están presentes en muy pequeñas cantidades, inferiores a 1 mg de analito/ kg de aceite de oliva. Los ácidos fenólicos se han asociado con las cualidades sensoriales y organolépticas (sabor, astringencia y dureza), así como con las propiedades antioxidantes. Es de especial interés resaltar que, de estos compuestos se deriva una función protectora frente a enfermedades que pueden estar relacionados con el daño oxidativo (enfermedad coronaria, accidentes cerebrovasculares y el cáncer).

- Alcoholes fenólicos

Los alcoholes fenólicos son: hidroxitirosol, tirosol y etanol glucósido. Éstos son identificados durante el almacenamiento del aceite de oliva (Segura et al., 2010). Los compuestos alcoholes fenólicos son conocidos como los compuestos con la actividad oxidante más potente (Artajo et al., 2006).

- Secoiridoides

Los secoiridoides junto con los lignanos son los más abundantes en el aceite de oliva virgen. Están formados por un fenil etil alcohol (hidroxitirosol y tirosol), ácido elenólico y en ocasiones por un residuo glucosídico.

El principal secoiridoide presente en el aceite de oliva es la oleuropeína. Gran parte del tirosol y el hidroxitirosol provienen de su hidrólisis. Las variedades de frutos pequeños se caracterizan por su alto contenido en oleuropeína, mientras que ocurre lo contrario con las variedades de frutos grandes, por lo que, aceites que proceden de distintas variedades pueden presentar una composición similar.

Se ha relacionado a los derivados de los secoiridoides con el amargor del aceite. García *et al.* (2001) encontraron una buena correlación entre el amargor del aceite y el contenido de derivados secoiridoides del hidroxitirosol. También se ha relacionado el atributo picante, con el contenido en derivados del ligustrósido y el contenido de la forma aldehídica de la oleuropeína aglicona.

- Lignanós

Según Owen *et al.* (2000), la cantidad de lignanos presentes en el aceite de oliva virgen puede ser hasta de 100 mg/ kg, pero hay variaciones considerables entre distintos aceites. Brenes *et al.*, sugieren que la cantidad de lignanos pueden utilizarse como marcador varietal.

- Flavonoides

Se subdividen en flavonas, flavonoles, flavanones, y flavanoles. Los flavonoides han aparecido en un gran número de publicaciones sobre sus efectos beneficiosos para la salud.

- Compuestos volátiles y aromáticos

El aceite de oliva presenta una gran cantidad de compuestos aromáticos de diversa naturaleza. Se producen por acción de enzimas, como la enzima lipoxigenasa que actúa durante el aplastamiento de la fruta del olivo y la pasta de aceitunas en la malaxación y se incorporan a la fase oleosa...

Existen diferencias cuantitativas entre los componentes volátiles de las distintas variedades de aceitunas, debido a que la actividad enzimática está determinada genéticamente en cada cultivar. E incluso se observan cambios dentro de la misma variedad, ya que factores como el grado de maduración de la aceituna, la gestión del riego, y el proceso de extracción (en particular, la molienda, malaxación y el tipo de sistema de centrifugación empleados) afectan en la presencia cuantitativa de estos compuestos.

Mientras que los compuestos fenólicos contribuyen al amargor del aceite, los compuestos volátiles son los principales responsables del atributo del verdor del aceite de oliva virgen. Por lo que, con el transcurso de la pérdida de volátiles también pierde verdor el aceite.

Se han identificado más de cien compuestos volátiles y aromáticos, y el rango de la concentración de éstos es muy amplio. Por lo tanto, podrían ser usados para la identificación de la variedad de aceituna y origen geográfico, puesto que se producen variaciones en función de estos factores, así como el estado de madurez del fruto (Godoy, 2013).

2.3.2. Calidad del aceite

Se diferencian varios tipos de calidad en el aceite:

❖ Calidad reglamentaria

Se diferencian distintos tipos de aceite de oliva según el reglamento (CEE) N° 2568/91 de la comisión de 11 de julio de 1991 (Comisión Europea, 2016). En él se recogen todos los parámetros físicos, químicos y los límites para realizar su clasificación.

❖ Calidad nutricional y terapéutica.

La calidad nutricional y terapéutica de un aceite de oliva está directamente relacionada con su composición, tanto en la fracción saponificable como en la insaponificable.

De la fracción saponificable cabe destacar el ácido oleico, es un ácido graso monoinsaturado cuya presencia es muy importante. Según Grande (1989), la ingesta de éste reduce el nivel de la tasa de colesterol total, pero la cifra de colesterol en la lipoproteína de alta densidad (HDL), el llamado colesterol bueno, se eleva significativamente.

Con respecto a la fracción insaponificable, la presencia de ésta en el aceite reporta muchas ventajas:

Los tocoferoles: aseguran una defensa antioxidante de la célula, protegiendo el organismo frente a enfermedades coronarias, diabetes, artritis y senilidad. (Ruiz, 2004).

El β -caroteno y los carotenoides: presentan una actividad provitamina A (Mataix y Carazo, 1995), y reducen el riesgo de la aparición de cáncer (Salkeld, 1991).

La fracción fenólica: tienen un papel protector frente a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Lamuela et al., 2004), inhibidor sobre la agregación plaquetaria y el crecimiento de células carcinógenas y preventivo sobre la aparición de especies reactivas del oxigenadas (ERO).

❖ Calidad culinaria

Está relacionada con la calidad nutricional y terapéutica. Para la definición de su calidad hay que distinguir su uso en crudo y en fritura.

Cuando se usa en crudo, los caracteres sensoriales son los que han de definir la calidad.

Cuando se usa en fritura, las calidades quedan definidas en función de parámetros como la resistencia a la termoxidación, vida útil en sucesivas frituras, penetración de la grasa ligada al consumo de aceite. Es decir, queda definida por su comportamiento a la fritura (Real, 2014).

❖ Calidad comercial

Este tipo de calidad es más difícil de precisar, ya que los aspectos a observar son muy variados y subjetivos. Hay otros parámetros de carácter hedonístico o preferencial, como el color o los sabores más o menos suaves, que además pueden variar entre regiones o países (Hueso, 2015).

3. OBJETIVOS

El aceite de oliva virgen extra es el aceite de máxima calidad, que se diferencia del resto por sus características sensoriales y la presencia de componentes con propiedades nutricionales y sensoriales. Existen un gran número de estudios que han descrito como afectan algunos factores agronómicos (Humanes y Civantos, 2001) y tecnológicos en la calidad del aceite producido (Fernández *et al.*, 2008; Guneser *et al.*, 2016). Además, en los últimos años se han introducido notables mejoras en los sistemas de recolección (Ramírez *et al.*, 2015) y la tecnología de las almazaras (Rodrigues, 2016), favoreciendo a la producción de aceite de la máxima calidad. A pesar de ello y de que se ha llevado a cabo una intensa labor de divulgación en los últimos años, en la provincia de Jaén y en Andalucía en general, el porcentaje medio de aceite de oliva virgen extra producido entre 2005 y 2014 es del 30 y 41 %, respectivamente (MAPAMA, 2016). Por lo tanto, parece necesario establecer en que etapas desde la recolección hasta la extracción pueden afectar negativamente a la obtención de aceite de oliva virgen extra.

Por lo tanto, en este trabajo se llevará acabo el análisis de los puntos de control crítico en la elaboración del aceite desde que se recoge el fruto hasta que se elabora el aceite y la influencia de las diferentes técnicas de recolección en las características del aceite. Los objetivos específicos son:

- ❖ Analizar las alteraciones que sufre el aceite, desde que el fruto se recolecta en el árbol hasta su extracción en almazara (incluyendo transporte, limpieza y almacenamiento).
- ❖ Establecer el efecto de tres sistemas de recolección del fruto (vibrador, barredora autopropulsada y pinchadora de aceitunas) en la calidad del aceite, analizando las etapas desde la recolección hasta la extracción del aceite (

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL VEGETAL

El presente trabajo se realizó durante la campaña 2015/2016. La aceituna fue recolectada de árboles de la variedad 'Picual', procedentes de la finca experimental del centro IFAPA "Venta del Llano" en Mengíbar (Jaén). Los olivos se cultivaron en condiciones de riego deficitario y aplicando técnicas agronómicas tradicionales. Se llevaron a cabo dos ensayos independientes correspondientes a la evaluación de los puntos críticos y al estudio de diferentes sistemas de recolección. La fecha de cada uno de los experimentos fue:

- Del 9 de diciembre de 2015 al 10/12/2015 para el estudio puntos críticos.
- Del 10 de diciembre de 2015 al 11/12/2015 para el estudio sistemas de recolección.

❖ Estudio puntos críticos

Para la toma de muestra del árbol, se recolectó el fruto mediante ordeño manual con objeto de determinar el potencial del fruto. El resto del fruto (6000 kg aprox.) fue recolectado mediante el empleo de un vibrador de tronco autopropulsado Pellenc Maxi 1200 (Pellenc, España) y recepción sobre mantones. Una vez recolectados los frutos se depositaron en 'mantillas' de rafia de 2,70 x 2,70 m, para su elevación al remolque de transporte. El fruto fue transportado mediante remolque hasta la recepción en almazara.

❖ Estudio sistemas de recolección

Se han ensayado tres sistemas de recolección:

- Recolección de frutos del árbol mediante vibración e interceptación con mantones o lienzos. (Árbol)
- Recolección de frutos del árbol derribados sobre suelo desnudo mediante barredora autopropulsada. (Barredora)
- Recolección de frutos del árbol derribados sobre suelo desnudo mediante recolectoras de púas Felipe Borrás (recolectora de púas).

En los tres casos el derribo del fruto se llevó a cabo mediante vibrador autopropulsado Pellenc Maxi 1200 (Pellenc, España). La barredora autopropulsada

utilizada fue Moresil 3700 Plus (Moresil, España). La recolección con recolectora de púas se llevó a cabo por personal propio de la empresa Felipe Borrás empleando recolectoras de púas manuales tipo nº 2.

Dentro de la parcela de olivar seleccionada, los sistemas de recolección se ensayaron en filas de olivos consecutivas, repitiéndose el orden en las siguientes filas utilizadas.

Una vez recolectados los frutos de los diferentes sistemas de recolección, se depositaron en 'mantillas' de rafia de 2,70 x 2,70 m, para su elevación al remolque de transporte. En ese momento se tomaron muestras de 5 kg de fruto para su caracterización y la extracción del aceite a nivel de laboratorio.

El fruto de cada uno de los sistemas de recolección (aprox. 1600 kg) fue transportado, de forma independiente, en un remolque hasta la almazara experimental del IFAPA Centro Venta del Llano localizada dentro del mismo recinto.

4.2. EXTRACCIÓN DE ACEITE

❖ Extracción a escala de Laboratorio.

Los frutos recién recolectados fueron extraídos mediante sistema Abencor (Abengoa, Sevilla) en el que el fruto fue molturado en molino de martillos con un tamaño de criba de 6 mm. De la pasta homogenizada se tomaron 800 g que fueron batidos en termobatidora a 28 °C durante 40 minutos. La extracción se llevó a cabo por triplicado. La pasta batida fue centrifugada durante 3 min, recogiendo el mosto oleoso. El mosto oleoso se dejó decantar, recogiendo el aceite que fue filtrado de forma inmediata y almacenado a -24 °C hasta su análisis.

❖ Extracción a escala Industrial.

En la almazara experimental del IFAPA Centro Venta del Llano. Para este trabajo se ha utilizado la línea Pieralisi (España) equipada con un molino de martillos con una criba 'ovalada' de 5 mm, una batidora de tres cuerpos

dispuestos en serie con una capacidad de 500 kg cada uno, un decánter de dos fases SPI110 de 45000 kg de capacidad teórica/día y una centrifuga vertical Plutone sin adición de agua.

Las condiciones de elaboración se fijaron para la molturación con un tiempo de batido de 40 min y una temperatura de 25 °C. El ritmo de inyección de pasta al decánter fue de 850 kg/h.

4.3. TOMA DE MUESTRAS

En los 2 estudios a realizar ha sido necesario realizar un muestreo en distintos puntos del proceso de obtención del aceite (Figura 4.4).

❖ Estudio puntos-críticos

Se tomaron muestras de fruto por triplicado, de 5kg en los siguientes puntos de control:

- Directamente del árbol, recolección mediante ordeño.
- En la recepción de la almazara tras el transporte (Figura 4.1).
- A la salida de la limpiadora.
- Tras ser almacenadas en tolva durante 24 horas (Figura 4.2).

A las muestras de fruto se les determinó el índice de madurez, peso medio, relación pulpa/hueso, humedad, contenido graso y se llevó a cabo la extracción del aceite a escala de laboratorio para a continuación ser analizado.

❖ Estudio sistemas de recolección

Para este caso, en las 3 líneas diferenciadas (árbol, barredora y pinchadora), se realizan 3 muestreos de fruto, de 5kg cada uno, en cada uno de los siguientes puntos de control:

- De las mantillas de rafia, inmediatamente después de recolección.
- Tras ser almacenadas en tolva durante 24 horas (Figura 4.2).

El fruto fue caracterizado según la metodología anteriormente descrita y se llevó a cabo la extracción del aceite a escala de laboratorio para su posterior análisis.

Además, en este experimento se llevó a cabo la toma de muestras de aceite extraído en la almazara a la salida de la centrifuga vertical. Estas muestras de aceite se tomaron por triplicado (Figura 4.3).



Figura 4. 1. Recepción de aceitunas en almazara.



Figura 4. 2. Salida de aceitunas de la tolva de almacenamiento.



Figura 4. 3. Aceite procesado por centrifuga vertical.

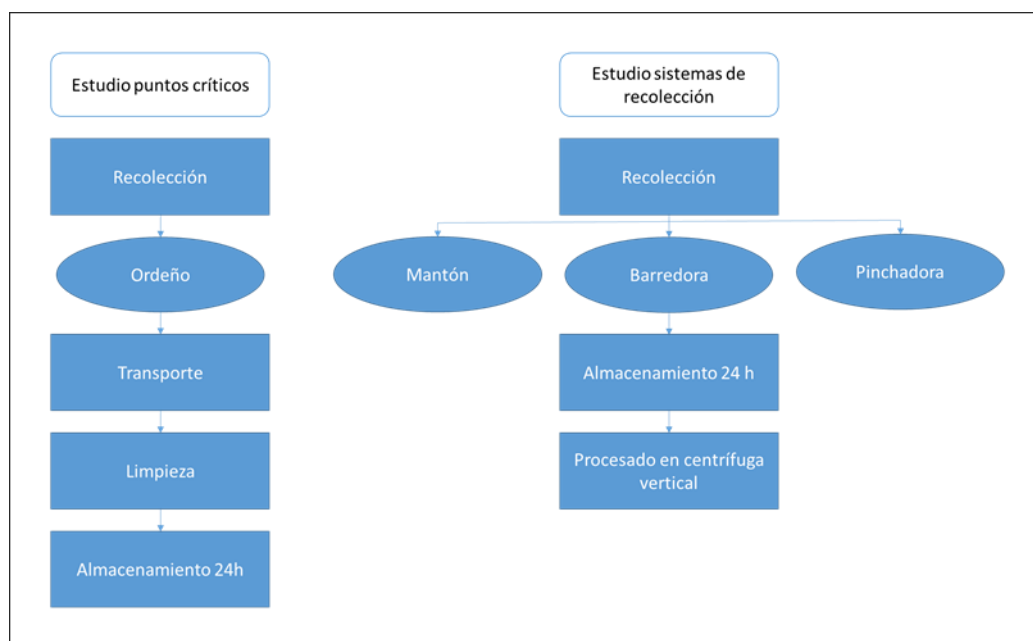


Figura 4. 4. Metodología de muestreo.

4.5. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

4.5.1. Determinaciones en fruto

❖ Índice de madurez

El índice de madurez (IM) permite conocer el momento óptimo de recolección de la aceituna según la variedad. Los valores del índice de madurez pueden encontrarse entre 0 hasta 7 (Tabla.4.1) (Beltrán *et al.*, 2008).

Tabla 4. 1. Clasificación del índice de madurez de la aceituna.

Clasificación de las aceitunas según su estado de maduración	
Clase 0	Piel verde intensa
Clase 1	Piel verde amarillenta
Clase 2	Piel verde con manchas rojizas en menos de la mitad del fruto. Inicio de envero
Clase 3	Piel rojiza o morada en más de la mitad del fruto. Final de envero
Clase 4	Piel negra y pulpa blanca
Clase 5	Piel negra y pulpa morada, sin llegar a la mitad de la pulpa
Clase 6	Piel negra y pulpa morada, sin llegar al hueso
Clase 7	Piel negra y pulpa morada totalmente hasta el hueso

❖ Peso medio

Para obtener el peso medio de la aceituna se pesa en una balanza una muestra homogeneizada de 100 aceitunas y se referencia el peso a estos.

$$\text{Peso medio} = \frac{\text{peso total aceitunas}}{\text{número total de aceitunas}}$$

❖ Relación pulpa-hueso

Para la relación pulpa hueso se tiene que pesar 100 aceitunas y deshuesarlas. Los huesos se colocan en la estufa a 40°C durante toda una noche y después se sacan para volver a pesarlos. Para obtener la relación se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{Relación pulpa} - \text{hueso} = \frac{\text{peso aceitunas} - \text{peso huesos}}{\text{peso huesos}}$$

❖ Humedad

La humedad de la masa de la aceituna se determinó de la siguiente manera: se pesó 30 gramos de pasta de aceituna y se introdujo en una estufa a 105 °C hasta pesada constante. Finalmente, se calcula el porcentaje de humedad de la pasta a partir de su pérdida de peso. Para ello, se emplea la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{peso pasta húmeda} - \text{peso pasta seca}}{\text{peso pasta húmeda}}$$

❖ Contenido graso

Para el contenido graso de la aceituna sobre seco hemos utilizado el equipo de análisis de Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) (Figura 4.5). Es un método rápido y muy fiable en los resultados, la determinación de aceite en las aceitunas se realiza mediante la medida de la energía emitida por la muestra molida y seca de la pasta de las aceitunas, que ha sido sometida a impulsos electromagnéticos (Guillén y Ruiz, 2001). Los resultados se expresaron como porcentaje relativo sobre peso fresco o peso seco.



Figura 4. 5. Espectrómetro de RMN.

4.5.2. Determinaciones en aceite

❖ Determinación del grado de acidez

La acidez libre o grado de acidez tiene como objetivo la determinación de los ácidos grasos libres en el aceite de oliva.

Se lleva a cabo mediante el método oficial de la Unión Europea, Reglamento 702/2007 (Comisión Europea, 2007), en el que se realiza una valoración ácido-base en una muestra no acuosa, disuelta en una disolución de éter dietílico y etanol, empleando fenolftaleína como indicador.

Para su determinación se pesan $5 \pm 0,01$ g de aceite previamente filtrado (Figura 4.6), en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se realiza una disolución de 50 mL éter dietílico y etanol (1:1), la cual ha sido neutralizada con hidróxido potásico (KOH) 0,1 N a través del viraje débil del indicador fenolftaleína (Figura 4.7). A continuación, a esta disolución se le añade la muestra de aceite y se realiza una valoración con la misma base anterior, hasta que de nuevo vuelve a producirse el viraje del indicador hacia una coloración rosa (Figura 4.8) persistente durante unos segundos.

La acidez libre se expresa en % de ácido oleico mediante la ecuación:

$$\text{Grado de acidez (\% ácido oleico)} = \frac{V \times N \times 282}{10 \times P}$$

Siendo:

- V = Volumen del hidróxido potásico (KOH) gastado en mL.
- N = Normalidad de la disolución alcalina utilizada.
- P = Peso del aceite filtrado en g.



Figura 4. 6. Peso de muestra de aceite.



Figura 4. 7. Pipeta y valorante.



Figura 4. 8. Color tras valoración.

❖ Determinación del índice de peróxidos

El índice de peróxidos evalúa el grado de oxidación primaria de un aceite, e indica el estado de conservación del mismo. La determinación se hace según método oficial de la Unión Europea, del Reglamento 2568/91 (Comisión Europea, 1991). Su determinación se realiza mediante una iodometría por retroceso, en la que la muestra disuelta en un disolvente orgánico es tratada con yoduro potásico en exceso, valorándose el yodo liberado con tiosulfato sódico en presencia de almidón como indicador del punto final.

Para su realización, se pesan $1,50 \pm 0,01$ g de aceite filtrado en un matraz de 250 mL de cierre esmerilado. Se disuelve en 25 mL de una mezcla de ácido acético-cloroformo (1,5:1), se le añade 1 mL de solución sobresaturada de yoduro potásico, se agita durante un minuto y se mantiene 5 minutos en la oscuridad. Pasado este tiempo, se agregan 75 mL de agua destilada y se agita vigorosamente,

valorándose con tiosulfato sódico 0,002 N y almidón como indicador. El punto final se reconoce cuando se produce el cambio de color de violeta a blanco sucio (Figura 4.9).

Se debe realizar lo mismo, pero sin aceite, para una prueba en blanco.

El resultado final se expresa en miliequivalentes de oxígeno activo por kg de materia grasa, según la expresión:

$$\text{Índice de peróxidos} = \frac{(V - V_0) \times N \times 1000}{P}$$

Dónde:

- V = mL de tiosulfato gastados en la muestra.
- V₀ = mL de tiosulfato gastados en la prueba en blanco.
- N = Normalidad del tiosulfato sódico. P = Peso de la muestra en g.

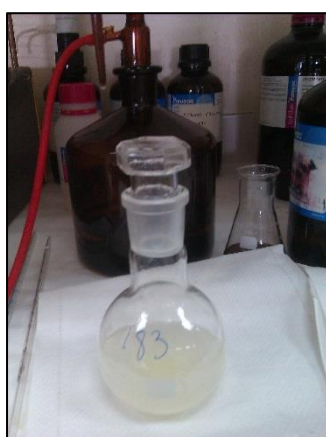


Figura 4. 9. Color, tras la valoración, de la muestra disuelta.

❖ Determinación de la absorbancia en el ultravioleta a 270 nm y 232 nm

Se ha realizado siguiendo el método oficial de la Unión Europea, descrito en el anexo correspondiente del Reglamento 2568/91 (Comisión Europea, 1991). Estima el estado de oxidación real del aceite, mediante la medida de la absorción molecular, en la zona del ultravioleta, de sistemas cromóforos como los dienos y trienos conjugados a través de la medida de la absorción específica, de una disolución de la materia grasa al 1 % en ciclohexano, en una cubeta de 10 mm de paso óptico.

Para su ejecución se pesan $0,1 \pm 0,001$ g de aceite filtrado en un matraz de 10 mL. Se agrega ciclohexano hasta el enrase, se tapa y se agita. Empleando ciclohexano como referencia se llenan las cubetas, una con el disolvente solo y otra con la disolución de la muestra y se mide la extinción a 232 y 270. Se ha utilizado un espectrofotómetro de UV visible Varian Cary 50 Bio (Figura 4.10).

Los resultados se expresan de la siguiente manera:

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

Dónde:

- L = Lectura a 270 o 232 nm.
- C = Concentración de la muestra en g/100 mL.
- e = Espesor de la cubeta en cm.



Figura 4. 10. Espectrofotómetro de UV visible Varian Cary 50 Bio.

❖ Determinación del contenido en polifenoles totales

La determinación del contenido en polifenoles totales se ha realizado siguiendo el método descrito por Vázquez et al. (1973), modificado.

Para su realización se pesan $1 \pm 0,01$ g de aceite en un tubo de centrifugación de plástico (Figura 4.11). Éste se disuelve en 5 mL de n-hexano y se agita durante 15 segundos en un vórtex (Figura 4.12). Luego se lleva a cabo una extracción líquido-líquido añadiendo un volumen de 2 mL de metanol: agua (60:

40), agitando durante 90 segundos con un vórtex y realizando una centrifugación a 4000 rpm durante 6 minutos (Figura 4.13) para obtener dos fases líquidas diferenciadas (Figura 4.14). Los extractos, situados en la parte baja, se recogen en un matraz aforado, esta operación se realiza 3 veces. Finalmente, se lleva a un volumen final de 10 mL con agua destilada y se deja decantar con el fin de separar los restos de aceite que pueden quedar en el extracto.

Después de la extracción de los polifenoles del aceite se realiza la dilución de lectura, por ello se toma un matraz aforado de 50 mL, al que se agregan 35 mL de agua destilada, la cantidad de extracto metanólico correspondiente y 2,5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu

Posteriormente se agita la disolución y se dejan tres minutos para que se desarrolle la reacción. A continuación, se añaden 5 mL de disolución NaOH al 5-6 % (p/v) para crear el medio básico. Se lleva a un volumen final de 50 mL con agua destilada y se agita para homogeneizar la mezcla (Figura 4.15).

Después de 10 minutos de tiempo de reacción se mide la absorción a una longitud de onda de 725 nm. Como blanco se emplea una disolución preparada de igual forma a la que no se le añade el extracto de polifenoles.

Para la medida de la absorbancia espectrofotométrica se emplea un espectrofotómetro de UV visible Varian Cary 50 Bio (Figura 4.10). Los resultados se expresan en mg ácido caféico /kg de aceite, esta cuantificación se ha llevado a cabo mediante rectas de calibrado.

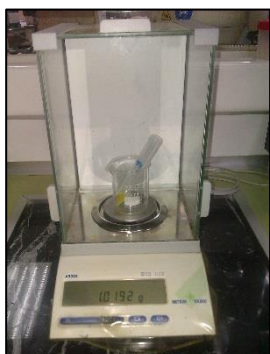


Figura 4. 11. Peso de muestra de aceite.



Figura 4. 12. Agitación de disolución en vórtex.



Figura 4. 13. Centrifuga.



Figura 4. 14. Diferenciación de 2 fases tras la centrifugación.



Figura 4. 15. Disolución final a medir en el espectrofotómetro.

❖ Determinación del amargor (K₂₂₅)

La determinación del amargor medido como K₂₂₅ se ha realizado según el método desarrollado por Gutiérrez et al. (1992).

Para ello se emplea una bomba de vacío donde se sitúan las columnas de extracción en fase sólida (SPE) con un relleno de Octadecyl C18 (Figura 4.16), teniendo éste un volumen de 6 mL y un peso de fase estacionaria de 500 mg. El cual se activa con metanol (5 mL), para posteriormente acondicionarla con 15 mL de n-hexano.

Luego se pesa $1 \pm 0,01$ g de aceite (Figura 4.17) que se disuelve en 5 mL de n-hexano, se vierte en la columna SPE, se lava el vial con hexano que se hace pasar por la columna. A continuación, se hace pasar n-hexano a través de la columna hasta eliminar cualquier resto de grasa en la fase estacionaria de la columna.

Seguidamente, mediante la utilización de 20 mL de metanol: agua (50:50), se eluyen los compuestos amargos retenidos en la columna. El eluato se recoge en matraz aforado y se lleva a un volumen final de 25 mL con metanol: agua (50:50).

Finalmente se lleva a cabo la medida de las muestras (Figura 4.18) a 225nm, en un espectrofotómetro de UV visible Varian Cary 50 Bio (Figura 4.10), para obtener el K₂₂₅.



Figura 4. 16. Columnas SPE dispuestas en bomba de vacío.



Figura 4. 17. Muestra de aceite.



Figura 4. 18. Cubetas con eluato disuelto en metanol:agua.

❖ Determinación de la composición de tocoferoles

Para esta determinación se utiliza el método número 2432 de la IUPAC (IUPAC, 1987). Se pesan $1,50 \pm 0,01$ g de aceite que se lleva a un volumen final de 10 mL con la fase móvil Isopropanol 0,5 % en n-hexano.

A continuación, para medir α , β , γ y tocoferoles totales se ha utilizado un cromatógrafo de líquidos (HPLC) Agilent technologies 1200 series, equipado con inyector automático. La columna utilizada ha sido Lichrosphere Si60 (Merck) de 250 mm de longitud, 4,6 mm de diámetro interno y un tamaño de partícula de 5 μ m. La detección se ha llevado a cabo a una longitud de onda de 296 nm y a una temperatura de 25 °C. Se ha inyectado un volumen de muestra de 20 μ L y la duración del análisis ha sido 20 minutos.

La identificación de los tocoferoles se ha realizado comparando los tiempos de retención con los patrones puros (Sigma). La cuantificación se ha llevado a cabo mediante rectas de calibrado. Los resultados se expresan en mg/kg.

❖ Determinación de los pigmentos

El contenido de los pigmentos clorofílicos y carotenoides se ha realizado mediante el método propuesto por Minguez et al (1991). Este consiste en determinar la absorbancia de una disolución de aceite de oliva, en ciclohexano, a la longitud de onda de máxima absorción del componente mayoritario para la fracción clorofílica y la carotenoide.

Se pesa $1,5 \pm 0,01$ g de aceite filtrado en un matraz aforado de 10 cm³, se enrasa con ciclohexano, se tapa y se agita, con lo cual el aceite se homogeniza con el ciclohexano. Después se pasan las muestras de aceite disueltas en ciclohexano a cubetas y se dispondrá de una cubeta con solo ciclohexano, la cual será para hacer la prueba en blanco. Posteriormente las cubetas se introducen en el espectrofotómetro de UV visible Varian Cary 50 Bio (Figura 4.10), a la longitud de onda de 670 nm (para determinar los compuestos clorofílicos) y a la longitud de onda de 470 nm (para los compuestos carotenoides).

La concentración de dichos compuestos se calcula aplicando la siguiente fórmula (Papaseit, 1986):

$$C_p = \frac{A_\lambda \times V_f}{\epsilon_{1\%} \times P_a} \times 10000$$

Siendo:

- C_p : concentración de pigmento en la muestra (mg de pigmento / kg de aceite).
- A_λ : absorción medida a la longitud de onda λ (670 nm clorofilas y 470 nm carotenoides).
- V_f : volumen tomado para la medición (cubeta de 1 cm de espesor).
- $\epsilon_{1\%}$: absorbancia específica de una disolución al 1% medida en una cubeta de 1 cm. $\epsilon_{1\%}=2000$ para carotenos (luteína) y 613 para clorofilas (feofitina).
- P_a : peso de la muestra de aceite en gramos.

❖ Determinación de los compuestos volátiles

La determinación de compuestos volátiles se realiza por cromatografía gaseosa en base al método de descrito por Sánchez *et al.* (2012).

El análisis de la fracción volátil de las muestras se llevó a cabo mediante la técnica de micro extracción en fase sólida (SPME) y análisis por cromatografía de gases de alta resolución con detección por ionización de llama (HRGC-FID). Se pesa 1g de aceite en viales de 10 mL y, tras un acondicionamiento de 10 min en bloque calefactor a 40 °C, los compuestos volátiles del espacio de cabeza fueron adsorbidos durante 50 min también a 40 °C en fibras de SPME del tipo DVB/Carboxen/PDMS 50/30 μ m (Supelco Co., Bellefonte, PA). Los componentes

volátiles fueron desorbidos directamente en el inyector de un equipo Varian CP 3800 a 250 °C y cromatografiados mediante columna Supelcowax 10 (30 m x 0.25 mm, 0,25 µm, Sigma-Aldrich Co.LLC). Se empleó helio como gas portador. Las temperaturas del inyector y detector fueron de 250 °C, y la temperatura del horno se programó en isoterma a 40 °C durante 5 min aumentando posteriormente en un gradiente de 4 °C/min hasta 200 °C.

❖ Determinación de los ésteres etílicos

La determinación de los esteres alquílicos se realiza por cromatografía gaseosa siguiendo el método de evaluación del Consejo Oleícola Internacional (T 20/ Doc. N° 31). (COI, 2012)

Se pesa, en balanza de precisión, 0,1 g de aceite en un matraz Erlenmeyer (Figura 4.19). Se añaden 25 µL de heptadecanoato etílico 0,0005% (m/V) (patrón interno), dos gotas de disolución saturada de Sudán I y 1 mL de fase móvil: éter dietílico:hexano (98:2), calidad cromatográfica.

Se hace pasar la muestra por una columna (previamente preparada con la fase estacionaria gel de sílice (60 µm) (Figura 4.20), para lo que se usan aproximadamente 100 mL de fase móvil. Se recoge el eluato en matraces de corazón con cuello esmerilado (Figura 4.21).

Las fracciones recogidas se llevan al rotavapor donde se elimina el disolvente (Figura 4.22). Para tener una mayor seguridad, se pasarán las muestras por una corriente de N₂ tras pasar por el rotavapor.

Finalmente se añade 1 mL de n-heptano (calidad cromatográfica) al matraz, con lo que se recoge la muestra preparada para la cromatografía y se lleva a un vial.

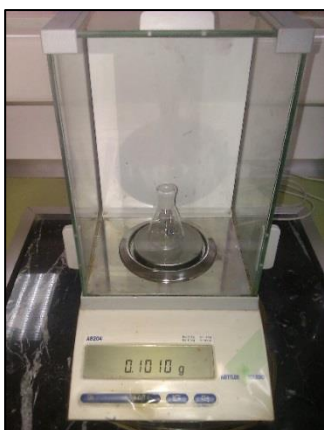


Figura 4. 19. Peso de muestra de aceite.



Figura 4. 20. Fase estacionaria, gel de sílice.

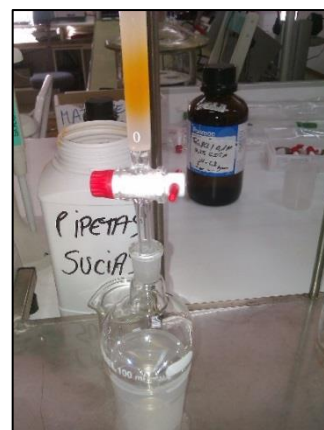


Figura 4. 21. Recogida de eluato en matraces de corazón.



Figura 4. 22. Eliminación de disolvente, en el eluato, mediante rotavapor.

La separación cromatográfica se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases Bruker 436 equipado con un detector de ionización de llama (FID), un inyector automático Varian, una columna capilar Agilent de 12 m de longitud, 320,0 μm de diámetro interno y 0,1 μm de espesor de película, y se empleó como gas portador helio. La temperatura del horno se programó en 80 °C durante 3 min en un gradiente de 20° C / min hasta 140° C aumentando posteriormente en un gradiente de 5° C / min hasta 335 °C, y el proceso continúa con la inyección de un volumen de 1 μL de muestra. El tiempo de análisis fue de 64 minutos.

El cálculo de la concentración de esteres se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Ésteres} \left(\frac{mg}{kg} \right) = \frac{A_X \times m_S \times 1000}{A_S \times m}$$

Siendo:

- A_X = área del pico de cada éster, C 16 y C 18, en milímetros cuadrados.
- m_S = masa del patrón interno, heptadecanoato metílico, en miligramos.
- A_S = área del pico del patrón interno, heptadecanoato metílico, en milímetros cuadrados.
- m = masa de la muestra tomada para la determinación, en gramos.

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se ha llevado a cabo un análisis general de varianza (ANOVA). Para establecer si existen diferencias significativas entre los tratamientos, con una probabilidad mayor del 95% ($p \leq 0.05$), empleando el Test de Tukey. Para los análisis estadísticos se ha usado el programa IBM SPSS Statistics, versión 22.

5. RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. ENSAYO PUNTOS CRÍTICOS

5.1.1. Características del fruto

❖ Características pomológicas

Los frutos tratados en este ensayo tienen un índice de madurez medio de 3,25 y su peso medio fue de 2,59 g. Estos datos y el resto de las características pomológicas se presentan en la Tabla 5.1.

Tabla 5. 1. Datos de la madurez, pesos y relación pulpa/hueso de las aceitunas en los distintos puntos de control crítico.

Muestra	Índice de madurez	P. Medio aceituna (g)	P. Medio hueso (g)	Relación pulpa/hueso
árbol	3,29	2,83	0,49	4,74
transporte	3,59	2,66	0,52	4,13
limpiadora	2,57	2,56	0,47	4,43
almacén24h	3,55	2,33	0,44	4,32
Media	3,25	2,59	0,48	4,40

❖ Humedad

El porcentaje de humedad en la aceituna mostró un valor medio de 49,27% que varió entre el 47,41% y 52,12%. Lo que se corresponde con los valores de un fruto de la variedad 'Picual de la época de recolección analizada. La humedad del fruto en cada una de las etapas analizadas se muestra en la Tabla 5.2.

Tabla 5. 2. Porcentaje de humedad de la aceituna en los puntos críticos analizados. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

Muestra	% Humedad aceituna
árbol	49,13±1,03 b
transporte	47,41±0,89 b
limpiadora	48,41±0,88 b
almacén24h	52,12±1,45 a
Media	49,27

❖ Contenido graso

En la Figura 5.1. se puede observar la proporción de aceite de las aceitunas, en húmedo y en seco, en los diferentes puntos analizados. En los cuales no se producen diferencias significativas entre ellos, tanto en húmedo como en seco.

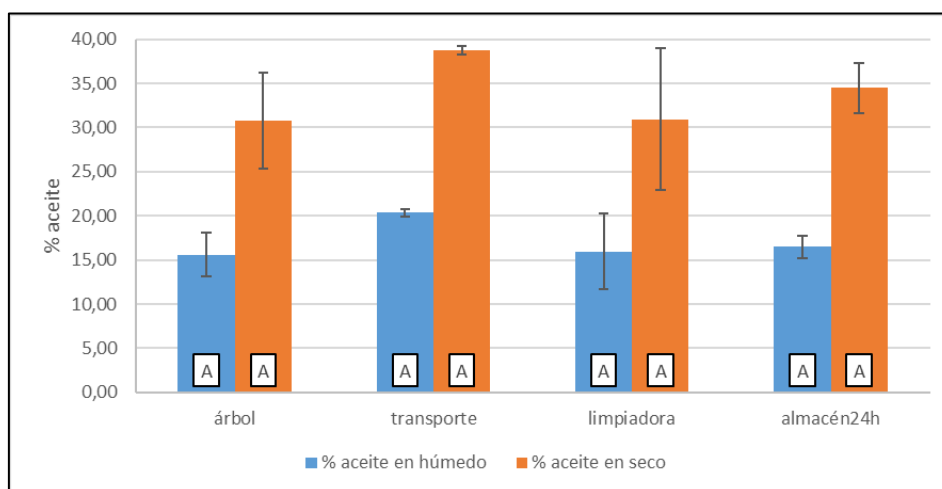


Figura 5. 1. Porcentaje de aceite en húmedo y en seco de las aceitunas muestreadas en los distintos puntos críticos. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

5.1.2. Características del aceite

❖ Acidez

Todos los aceites muestran una acidez inferior a 0,8 % (Figura 5.2) por lo que se clasifican dentro de la categoría aceite de oliva virgen extra (COI, 2016).

Los valores más elevados de acidez se observaron tras la limpieza del fruto, con un 0,30% de acidez, mientras que los más bajos se obtuvieron tras 24 horas de almacenamiento, con un valor de 0,19%.

Sin embargo, la acidez del aceite no mostró diferencias significativas entre cada una de las etapas del proceso analizadas, aunque si se observa que la acidez aumenta ligeramente desde la cosecha hasta la limpieza del fruto, para luego bajar en el almacenamiento.

Estos datos difieren del incremento en la acidez, producido en otros estudios, tras el almacenamiento del fruto (García *et al.* 1996; Camera *et al.* 1978; Benito *et al.* 2009). Este incremento en la acidez es debido a que, se producen reacciones de hidrólisis de los triglicéridos durante el almacenamiento con la consecuente liberación de ácidos grasos (Benito *et al.*, 2009). El diferente comportamiento en este ensayo podría explicarse por el corto tiempo de almacenamiento, el cual no ha sido el suficiente para observar un aumento en la acidez.

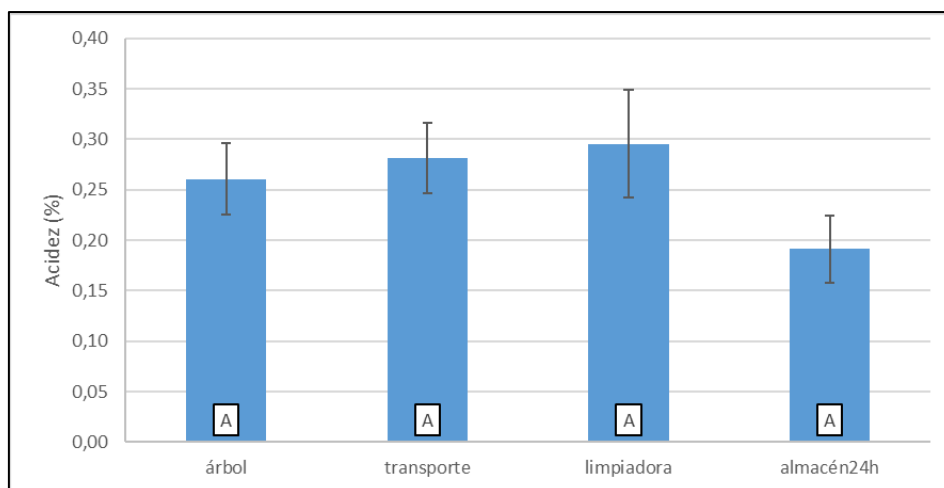


Figura 5. 2. Valores de acidez de los aceites procedente de frutos tomados en las diferentes puntos críticos del proceso de extracción. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ Índice de peróxidos

En general, todos los aceites analizados presentan un índice de peróxidos menor al límite establecido para el aceite de oliva virgen extra, menor o igual a 20 meq O_2 /Kg (COI, 2016).

En la Figura 5.3 se observa que el índice de peróxidos va descendiendo de la cosecha hasta el almacenaje. Observándose diferencias significativas entre los aceites extraídos del fruto recién recolectado y tras el transporte, con aquel procedente del fruto almacenado durante 24 horas.

Dag *et al.* (2012) describieron como para un periodo de almacenamiento de 9 días, para distintas temperaturas, no se experimenta un incremento en los peróxidos. Sin embargo, García *et al.* (1996) y Benito *et al.* (2009) observaron aumentos en el índice de peróxidos, para tiempos de almacenamiento superiores a 12, 18 y 20 días.

La menor duración del almacenamiento de nuestro fruto podría explicar el hecho de que el índice de peróxidos de los aceites no aumente.

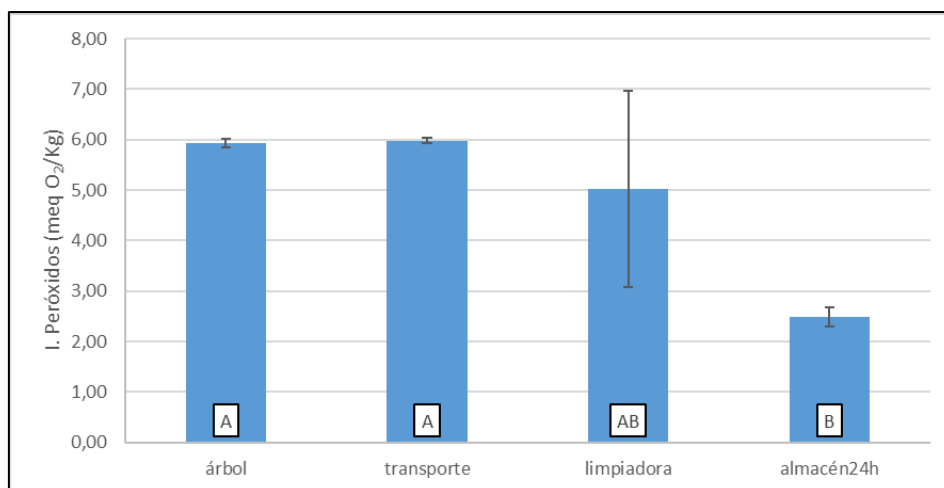


Figura 5. 3. Índice de peróxidos de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras hacen referencia a diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ U.V. (K232, K270)

• K232

En general, los aceites analizados fueron clasificados dentro de la categoría virgen extra para el parámetro K232 ya que mostraron valores por debajo del límite establecido para esta categoría, 2,50 (COI, 2016).

Se observa un ligero incremento en el K232 de los aceites una vez que se recolecta el fruto del árbol, aunque no se aprecian diferencias significativas entre las diferentes etapas analizadas (Figura 5.4).

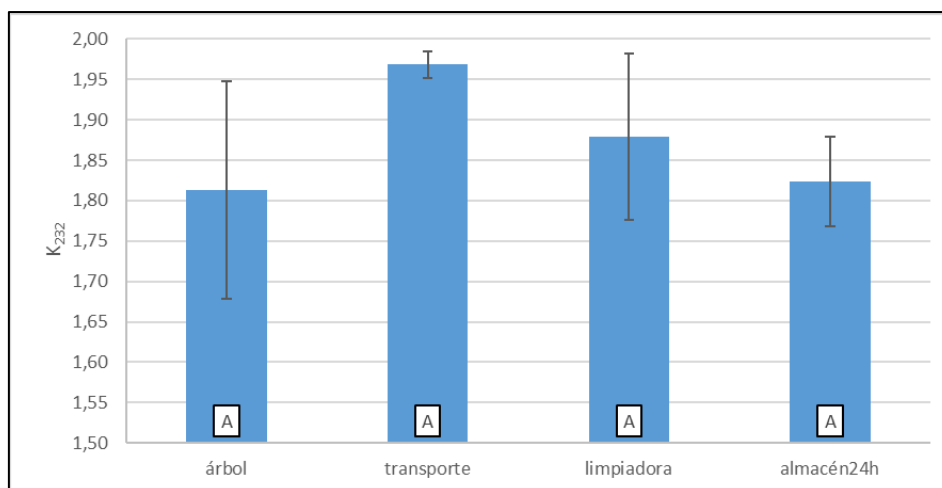


Figura 5. 4. Valores de K₂₃₂ de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

- K₂₇₀

Los valores de K₂₇₀ de los aceites analizados permitieron la clasificación de los aceites, de todas las etapas analizadas, dentro de la categoría virgen extra, a excepción del transporte cuyo aceite mostró un valor de k₂₇₀ de 0,22, por encima del límite establecido por el COI (2016), y, por tanto, fue clasificado dentro de la categoría virgen.

Aunque se aprecian pequeñas oscilaciones, no se observaron diferencias significativas entre las diferentes etapas analizadas. No existen trabajos previos sobre transporte de aceituna que expliquen el ligero incremento, observado en este caso, para el K₂₇₀

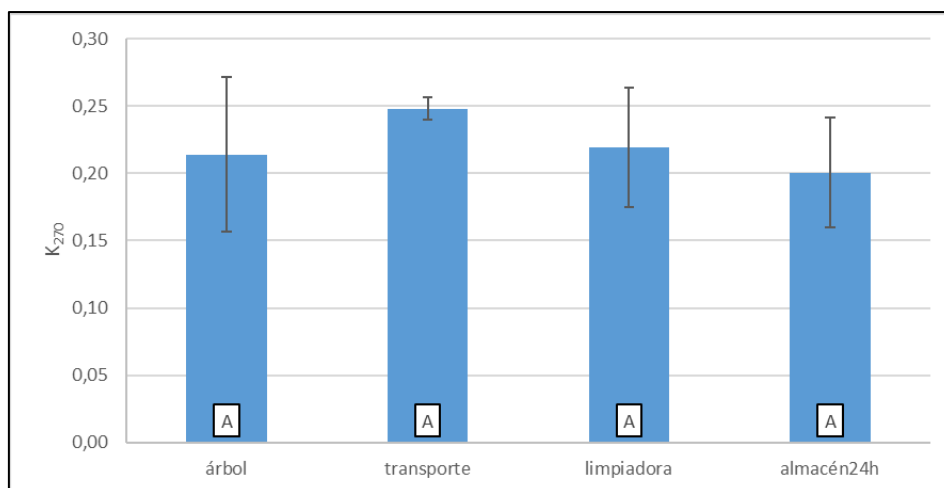


Figura 5. 5. Valores de K₂₇₀ de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ Pigmentos (carotenoides y clorofílicos)

Tanto los pigmentos carotenoides como los clorofílicos alcanzan su máximo valor cuando la aceituna es almacenada durante 24 h (9,44 y 11,13 respectivamente).

En las Figuras 5.6 y 5.7, se puede visualizar la variación de las concentraciones de carotenos y clorofilas de los aceites en cada una de las etapas del proceso analizadas. Así, se puede observar como ambos tipos de pigmentos aumentan progresivamente desde que se recoge la aceituna hasta que se almacena, habiendo un aumento significativo, a partir de la limpieza del fruto. Pero, no se observan diferencias entre la etapa de limpieza y la de almacenamiento.

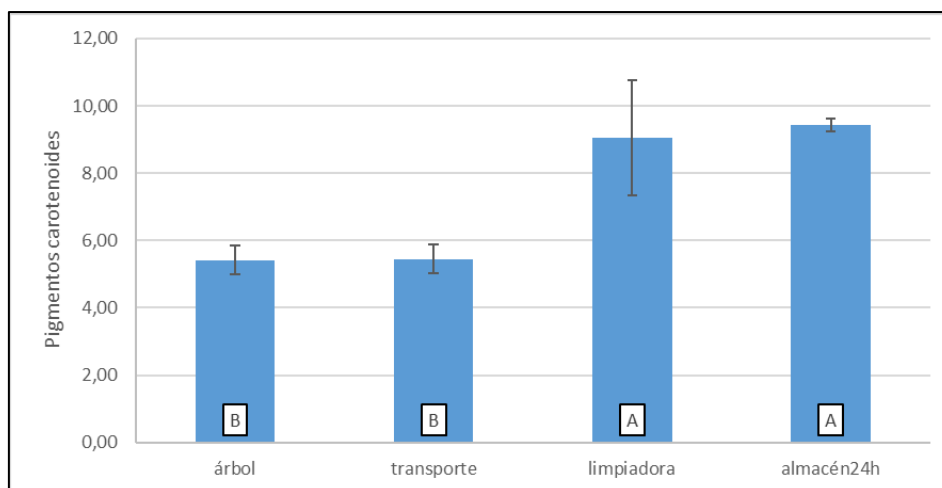


Figura 5. 6. Valores de pigmentos carotenoides de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

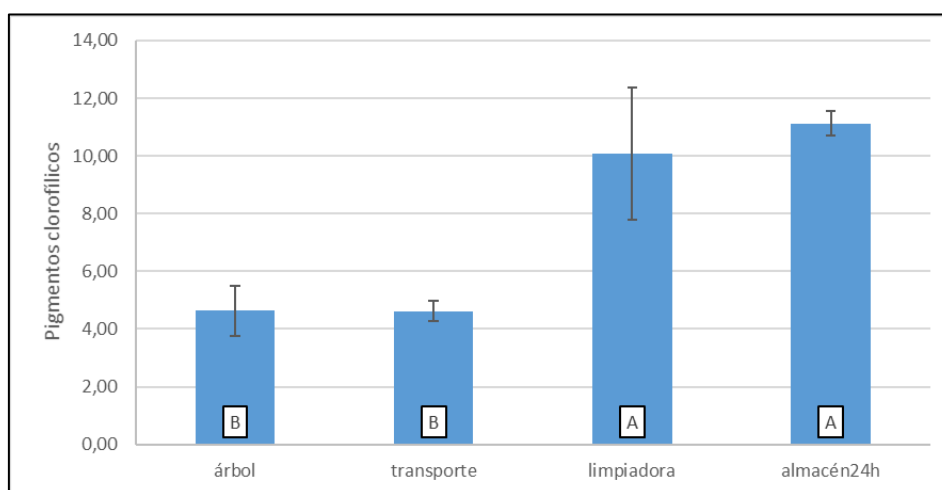


Figura 5. 7. Valores de pigmentos clorofílicos de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ Amargor

En la Figura 5.8, se muestra la variación de amargor k_{225} de los aceites extraídos de frutos de cada etapa estudiada. En general, se observa un incremento en cada una de las etapas estudiadas, alcanzando los valores más elevados en los aceites de frutos almacenados durante 24 horas. En cualquier caso, no se obtuvieron diferencias significativas entre etapas. se llega a ver como el amargor

aumenta desde que se recoge la aceituna hasta que es almacenada. Pero durante el proceso que se lleva a cabo en este ensayo, no llega a haber diferencias significativas entre los distintos puntos de control.

Inarejos *et al.* (2010), describieron un descenso del amargor durante un almacenaje del fruto de unos cinco u ocho días a una temperatura de entre 20 y 10 °C. Por lo tanto, el almacenamiento empleado durante este trabajo no fue suficiente para que se detectase una bajada del amargor.

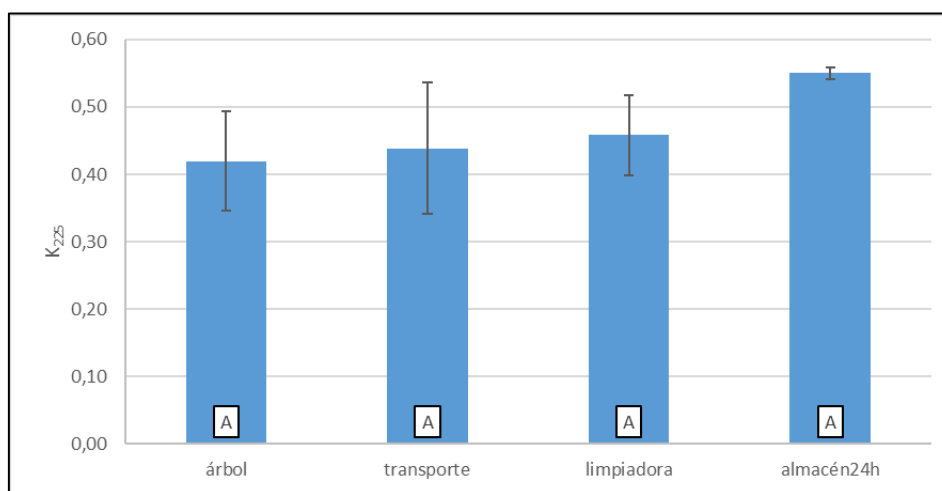


Figura 5. 8. Valores de K₂₂₅ de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ Polifenoles totales

Como se refleja en la Figura 5.9, no hay una diferencia significativa entre los distintos valores obtenidos a lo largo de las etapas del proceso analizadas, si bien se observa un ligero incremento en los aceites procedentes de frutos almacenado durante 24 horas,

Estos datos no coinciden con los descritos por Dag *et al.* (2012) para periodos de almacenamiento más largos, en lo que se reporta un descenso del contenido de polifenoles totales de los aceites. Sin embargo, habría que indicar que en los resultados de la variedad Picual detectaron que fue la variedad menos afectada, mostrando valores similares a los iniciales.

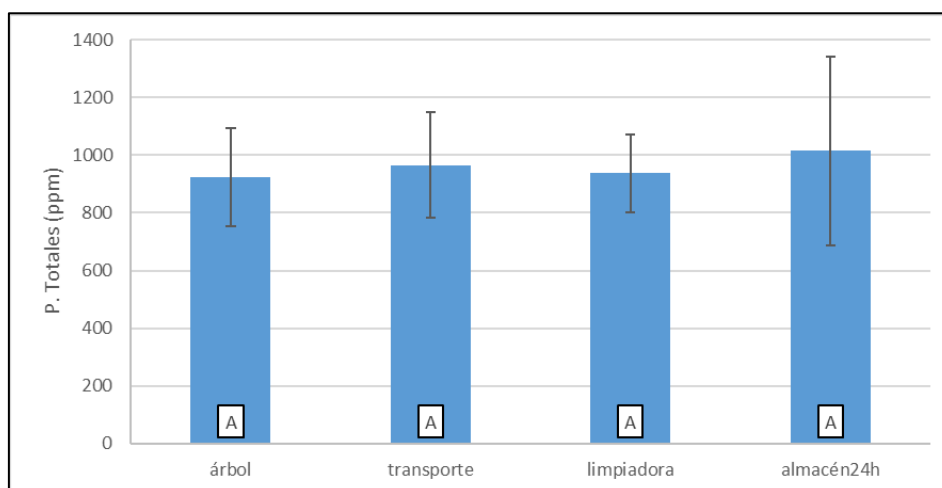


Figura 5. 9. Representación de polifenoles totales de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ Volátiles

Los volátiles obtenidos en los aceites analizados se muestran en la Tabla 5.3. En general, para los volátiles con efectos positivos sobre las características sensoriales (deseados) se aprecia un descenso con el procesado del fruto. El acetato de 3-hexen-1-ol mostró un incremento, el hexenal permanece estable, mientras que (E)-2-hexenal, acetato de 2-hexen-1-ol y (Z)-3-hexen-1-ol no mostraron una tendencia clara.

De igual modo, el análisis de volátiles por grupos de compuestos de similar naturaleza química formados a través de la ruta de la lipoxigenasa (LOX) y responsables de las notas verdes y frutadas del aceite de oliva virgen siguieron diferente comportamiento. Los aldehídos LOX: (E)-2-Hexenal, Hexenal, (E)-2-Pental, (Z)-3-Hexenal; así como los hidrocarburos representados por los dímeros de penteno y el grupo de cetonas representado por la 1-penten-3-ona descendieron durante el transporte y almacenamiento del fruto. Por el contrario, el sumatorio de alcoholes LOX: 1-Penten-3-ol, (Z)-2-Penten-1-ol, (Z)-3-Hexen-1-ol, 1-Hexanol y el grupo de ésteres: acetato de 3-Hexen-1-ol, Acetato de 2-Hexen-1-ol incremento su concentración durante el transporte, limpieza y almacenamiento del fruto. Estas modificaciones pueden deberse a la diferente humedad que alcanza el

fruto en las diferentes etapas; como es el caso de los alcoholes que incrementan junto con la humedad, al tratarse de compuestos con alta polaridad.

- Volátiles predominantes

Por su estrecha relación con los esteres etílicos y su biosíntesis, el etanol ha adquirido gran importancia en los últimos años, es el que llega a alcanzar los valores más altos y es un volátil no deseado. En la Figura 5.10 se puede comprobar como el etanol aumenta desde el momento de cosecha del fruto hasta su almacenamiento. Desde el árbol hasta la recepción no se observaron diferencias significativas, sin embargo, es tras la limpiadora cuando se registró un aumento significativo de este volátil que vuelve a incrementarse tras 24 horas de almacenamiento. Así en el transporte se produce un incremento de su concentración de 6 veces superior, un incremento similar fue observado tras la limpieza. Sin embargo, en el almacenamiento solo aumento en un 32 %. Este incremento de etanol en el aceite a partir de la limpieza podría explicarse por el efecto de las abrasiones sufridas en el fruto durante ésta y posteriormente en el almacenamiento por la escasez de oxígeno, que podría originar una respiración anaeróbica tal y como se ha descrito por Beltrán et al. (2016).

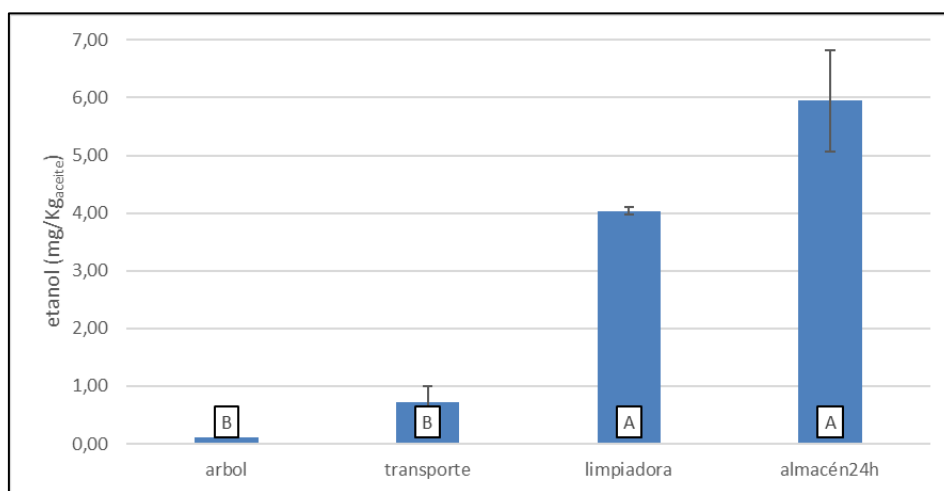


Figura 5. 10. Concentración de etanol de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

Otros volátiles que son mayoritarios son el 3-etil-1,5-octadieno (Figura 5.11) y 1-penten-3-ona (Figura 5.12). Estos están relacionados con características positivas en el aceite, pero sus concentraciones descienden a lo largo del tratamiento de la aceituna., Siendo el descenso significativo del 3-etil-1,5-octadieno después de ser limpiado el fruto y tras el transporte para el 1-penten-3-ona.

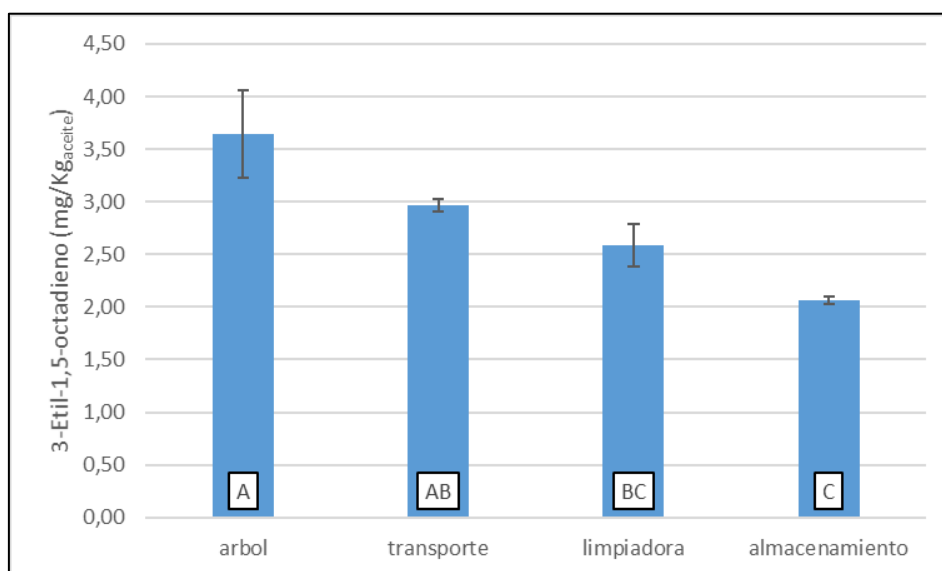


Figura 5. 11. Concentración de 3-etil-1,5-octadieno de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

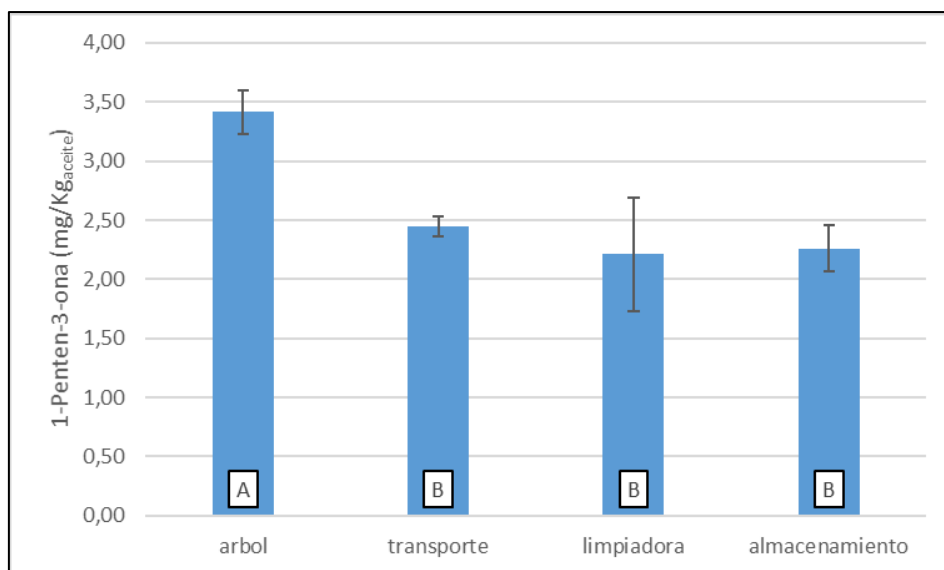


Figura 5. 12. Concentración de 1-penten-3-ona de los aceites procedente de frutos tomados en los diferentes puntos críticos del proceso de extracción analizados. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

Tabla 5. 3. Concentración de compuestos volátiles en cada punto de control crítico (mg·Kg⁻¹aceite). Siendo “ * ” volátiles no deseados y “ ** “ volátiles deseados.

Compuestos volátiles	Árbol	Transporte	Limpiadora	Almacenamiento tolva 24h
Etanol*	0,12±0,01 b	0,72±0,27 b	4,03±0,06 a	5,94±0,87 a
Hexanal**	1,97±0,25 a	1,64±0,14 a	1,38±0,29 a	1,51±0,26 a
(E)-2-Pentenal**				
1-Penten-3-ol**	0,18±0,01 a	0,09±0,00 b	0,12±0,04 ab	0,12±0,03 ab
(E)-2-Hexenal	1,01±0,17 ab	0,55±0,00 c	1,15±0,07 a	0,62±0,16 bc
Acetato de 3-Hexen-1-ol**	0,03±0,01 c	1,47±0,03 b	1,34±0,33 b	3,01±0,14 a
(Z)-2-Penten-1-ol**	0,25±0,00 a	0,16±0,03 b	0,17±0,02 b	0,17±0,01 b
Acetato de 2-Hexen-1-ol**	0,03±0,01 a	0,02±0,00 ab	0,01±0,00 b	0,02±0,00 ab
(Z)-3-Hexen-1-ol**	0,78±0,09 c	1,73±0,34 ab	2,06±0,21 a	1,27±0,05 bc
Nonanal*	0,10±0,01 a	0,13±0,00 a	0,09±0,03 a	0,03±0,01 b
Metanol*	0,55±0,05			1,52±0,35
1-Metoxihexano*	2,53±0,13 a	1,78±0,00 b	2,11±0,26 ab	2,56±0,02 a
3-Ethyl-1,5-octadieno**	3,64±0,41 a	2,97±0,06 ab	2,58±0,20 bc	2,06±0,04 c
3-Ethyl-1,5-octadieno-Du**	2,66±0,35 a	1,93±0,09 b	1,69±0,10 bc	1,27±0,03 c
3-Ethyl-1,5-octadieno-Du**	1,53±0,21 a	1,39±0,06 ab	1,16±0,10 bc	0,88±0,04 c
(Z)-3-Hexenal**	1,48±0,20	0,48±0,01	0,33±0,08	
1-Hexanol**			0,23±0,04	0,20±0,01
1-Penten-3-ona**	3,41±0,18 a	2,45±0,08 b	2,21±0,48 b	2,26±0,20 b

5.2. EFECTO DEL SISTEMA DE RECOLECCIÓN DEL FRUTO

5.2.1. Características del fruto

❖ Características pomológicas

El índice de madurez medio alcanzado en los frutos de este ensayo fue de 3,58 y su peso medio de 3,12 g. Pudiéndose observar todas las características pomológicas obtenidas en este ensayo en la Tabla 5.4.

Tabla 5. 4. Datos de la madurez, pesos y relación pulpa/hueso de las aceitunas en los puntos de control crítico de cada proceso método de recolección.

Muestra	índice madurez	P. medio aceituna (g)	P. medio hueso (g)	Relación pulpa/hueso
árbolvuelo	3,81	2,57	0,45	4,66
barredora	3,28	3,30	0,61	4,41
pinchadora	3,27	3,35	0,62	4,37
árbolTolva	3,23	3,45	0,61	4,62
barredoraTolva	3,89	3,08	0,53	4,83
pinchadoraTolva	3,98	3,01	0,54	4,62
Media	3,58	3,12	0,56	4,59

❖ Humedad

Empleando diferentes métodos de recolección, la humedad de la aceituna ha tenido un valor medio de 50,13% correspondiente a valores que se encuentran entre el 44,36% y 56,07%. La humedad del fruto, en cada etapa, con distintos métodos de recolección se puede observar en la Tabla 5.5.

Tabla 5. 5. Porcentaje de humedad de la aceituna en los distintos puntos de control críticos de cada método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

Muestra	% Humedad aceituna
árbolvuelo	55,06±0,56 a
barredora	52,52±3,04 a
pinchadora	56,07±3,15 a
árbolTolva	47,44±0,38 b
barredoraTolva	44,36±0,45 b
pinchadoraTolva	45,30±0,23 b
Media	50,13

❖ Contenido graso

Como se puede ver en la Figura 5.13 y 5.14, el nivel de aceite en húmedo y en seco no presenta diferencias significativas, entre los distintos métodos de recolección, en cada punto de control.

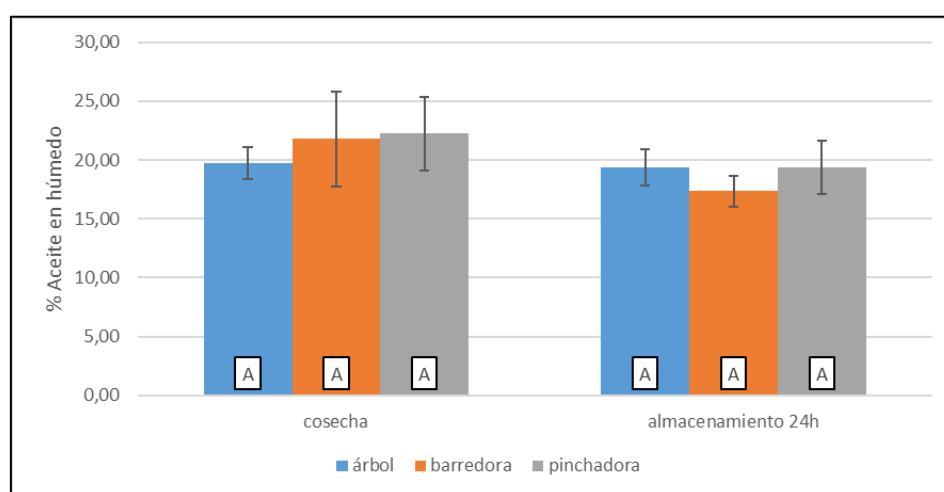


Figura 5. 13. Porcentaje de aceite en húmedo de las aceitunas muestreadas en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

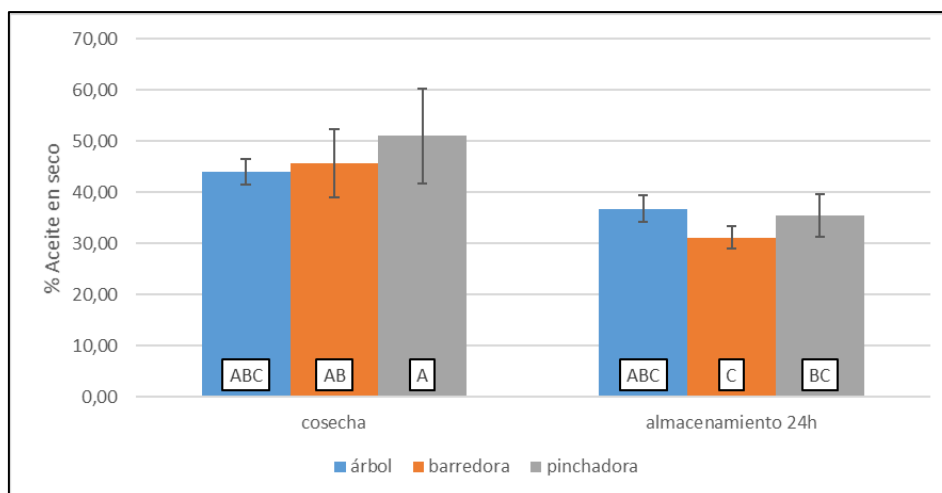


Figura 5. 14. Porcentaje de aceite en seco de las aceitunas muestreadas en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras indican diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

5.2.2. Características del aceite

❖ Acidez

En la Figura 5.15 se presentan los valores de la acidez, a lo largo del proceso de obtención del aceite, para cada método de recolección del fruto. Los cuales, en general, mostraron unos valores inferiores al límite establecido para la categoría virgen extra de 0,8% (COI, 2016), por lo que las muestras fueron clasificadas dentro de esta categoría.

Según el método de recolección, en general, los aceites procedentes de los frutos derribado al suelo y cosechadas mediante barredora o pinchadora mostraron unos valores de acidez mayores, siendo en el de barredora donde se llegan a los niveles más altos; mientras que los procedentes del fruto recolectado directamente del árbol presentan los de menor valor. Los valores de acidez más elevados se observan en aquellos aceites extraídos tras 24 horas de almacenamiento.

En un trabajo previo (Beltrán *et al.*, 2016), se detectan diferencias de acidez entre los aceites de aceitunas de suelo y vuelo, siendo mayores en las de suelo. Este incremento se alcanza a través de la pérdida de la integridad del fruto y la

actividad de microorganismos con capacidad hidrolítica sobre las grasas. De hecho, cuanto mayor sea la permanencia de la aceituna en el suelo, se incrementará el grado de alteración (Jiménez *et al.*, 2001; García *et al.*, 2007).

En general, se observa que el almacenamiento es el punto en el que se produce un mayor incremento de la acidez del aceite, siendo éste más importante en el caso de los aceites procedentes de frutos recolectados del suelo.

El hecho de la pérdida de integridad de la epidermis del fruto, junto con la presencia de microorganismos asociados a los restos de suelo, podrían haber favorecido mucho más el incremento de la acidez del aceite en el almacenaje. Con esto se confirma lo que no se percibía en el ensayo anterior, y que es mencionado por los estudios de García *et al.* (1996), Camera *et al.* (1978) y Benito *et al.* (2009), de que la acidez aumenta con el almacenamiento.

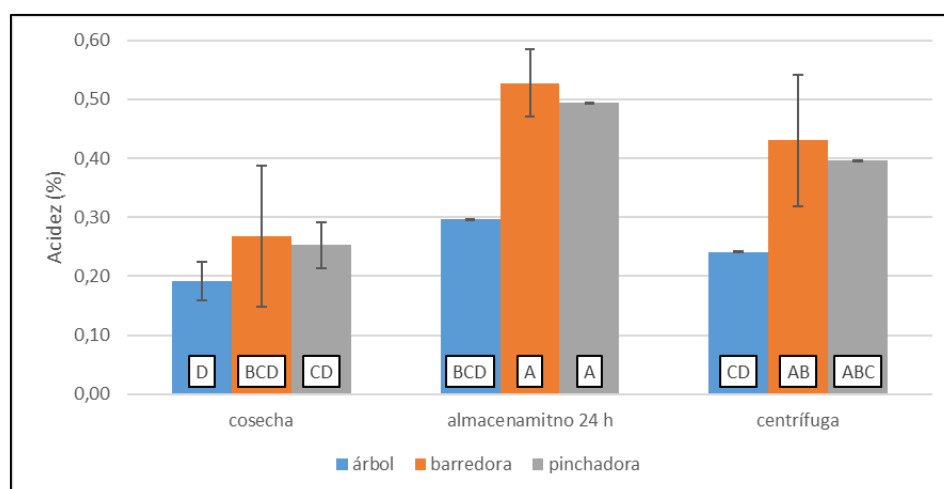


Figura 5. 15. Valores de acidez de los aceites procedentes de frutos muestreados en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ Índice de peróxidos

En la Figura 5.16 se muestra la variación de los valores de índice de peróxidos del aceite procedente de frutos recolectados mediante diferentes sistemas en cada una de las etapas del proceso estudiadas. El conjunto de los

aceites analizados fue clasificado dentro de la categoría de virgen extra, ya que estuvieron por debajo del límite para esta categoría (20 meq O_2 /Kg) (COI, 2016),

En el proceso de recolección y almacenamiento no se observan diferencias significativas. Pero en el punto de control en el que el aceite pasa por la centrífuga vertical, la aceituna recogida con mantón tiene un índice de peróxidos significativamente mayor con respecto a la que se ha recogido por pinchadora. Pero si se compara con respecto a la barredora, no es significativo

Por lo que no se puede confirmar que haya un aumento significativo de los peróxidos dependiendo del método de recolección.

Hablando genéricamente, se produce mayoritariamente un aumento del índice de peróxidos desde la cosecha hasta la centrífuga vertical, siendo el aumento solamente significativo para el caso en el que las aceitunas son de vuelo y produciéndose los mayores aumentos en el almacenamiento.

Por lo que es de tener en cuenta que, los peróxidos podrían aumentar tanto por el almacenamiento como en el proceso de extracción del aceite. Referente a lo ocurrido en el almacenamiento, confirma lo que no se detectaba en el estudio anterior y que era defendido por los estudios de García *et al.* (1996) y Benito *et al.* (2009), de que el índice de peróxidos aumenta con el almacenamiento.

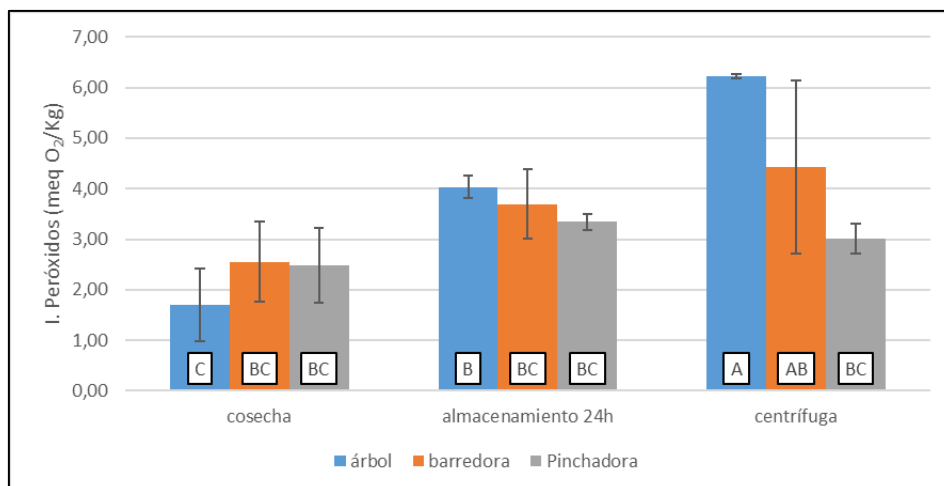


Figura 5. 16. Índice de peróxidos de los aceites procedentes de frutos muestreados en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ U.V. k232 y k270

• K232

En general, el conjunto de los aceites analizados fue clasificado en la categoría virgen extra para el parámetro K232, ya que, mostraron valores por debajo de 2,50, límite establecido para esta categoría (COI, 2016).

Como se puede ver en la gráfica 5.17, en este análisis no hay diferencias significativas entre los distintos métodos de recolección, para cada punto de control crítico.

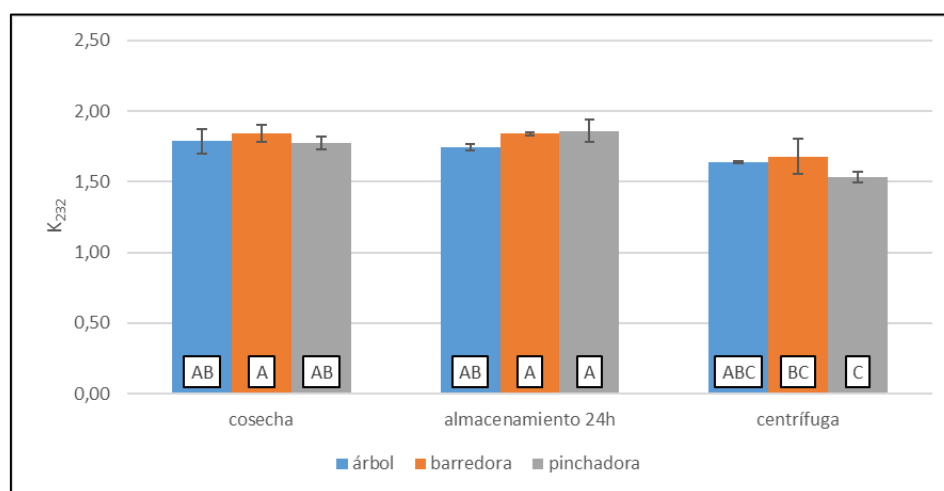


Figura 5. 17. Valores de K232 de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

• U.V. K270

En general, el conjunto de los aceites analizados fue clasificado dentro de la categoría virgen extra para el parámetro K270, ya que, se obtuvieron valores por debajo de 0,22, límite establecido para esta categoría (COI, 2016).

Como se puede comprobar en la Figura 5,18, entre los distintos métodos de recolección, para cada punto de control crítico, no se detectan diferencias significativas,

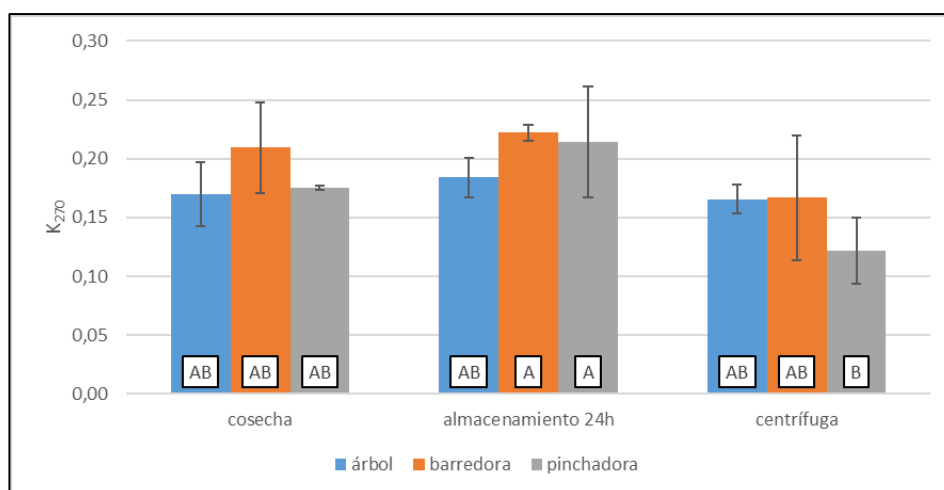


Figura 5. 18. Valores de K₂₇₀ de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ Pigmentos (carotenoides y clorofílicos)

Los pigmentos carotenoides llegan a su mayor valor cuando el aceite, de la aceituna recogida por barredora, llega a la centrifuga vertical (8,84). Mientras que los clorofílicos alcanzan su máximo valor en el punto en que la aceituna es recogida con mantón (12,01).

Respecto al menor valor, éste se alcanza, tanto para los pigmentos carotenoides como para los clorofílicos, para las aceitunas recogidas con mantón desde el inicio hasta llegar el aceite a la centrífuga vertical (6,2816 y 7,4039 respectivamente), pero estas diferencias no son significativas.

En general, en la Figura 5.19 y 5.20, no se observa una variación de estos componentes de una forma regular, ni diferencia significativa entre los métodos de recolección, para cada punto de control.

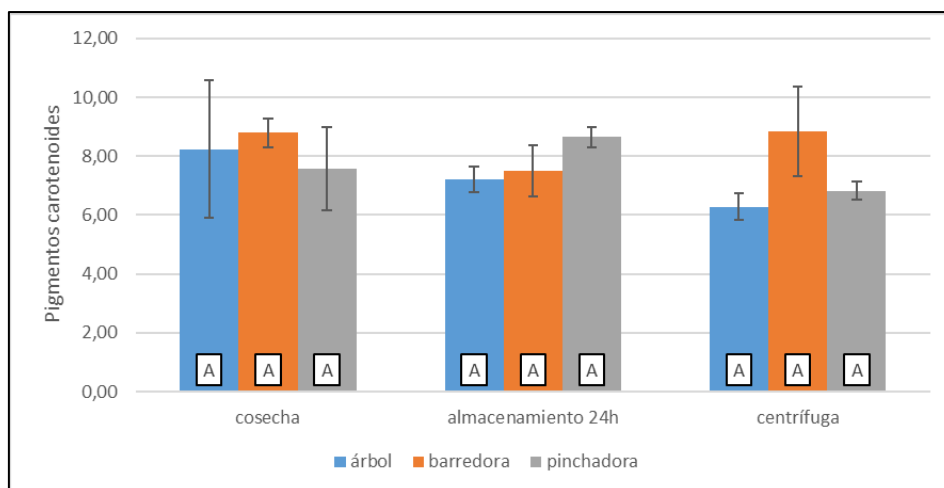


Figura 5. 19. Valores de pigmentos carotenoides de los aceites procedentes de frutos tomados en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

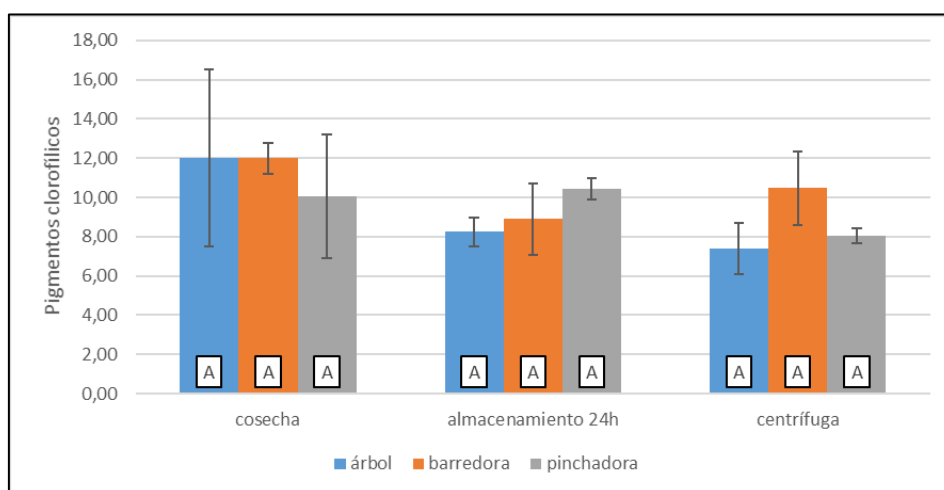


Figura 5. 20. Valores de pigmentos clorofílicos de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ Amargor

En la Figura 5.21 se muestran las variaciones del amargor de los aceites extraídos, para cada método de recolección, en los puntos de control establecidos.

Con respecto al método de recolección, de los distintos puntos de control, la única diferencia significativa que se ha detectado ha sido en el almacenamiento. Siendo significativamente superior el amargor cuando se emplea la recolectora de

púas, con respecto a la recolección con mantón. En los otros puntos de control crítico no ha habido diferencias significativas entre los métodos de recolección.

Por lo tanto, con esto se podría deducir que el empleo de pinchadora aumenta el amargor del aceite.

Pero, un aumento del amargor está relacionado con el incremento de los polifenoles. Dado que, el aumento significativo del amargor ocurre cuando la aceituna, que ha sido recogida por pinchadora y por barredora, ha alcanzado los menores valores de humedad (Tabla 5.6); este aumento puede haber sido debido a la disminución de la humedad, que pudo traer consigo el mayor aumento de polifenoles que se percibe tras el almacenamiento, con el consiguiente aumento del amargor (Figura 5.21).

En general se observa que hay un descenso del amargor debido al proceso que se somete a la aceituna. Ocurriendo una bajada significativa de las aceitunas de vuelo y las de barredora desde la cosecha al almacenamiento y en el caso de la pinchadora se produce un descenso significativo del almacenamiento a la centrifugación.

Por lo tanto, el proceso de almacenamiento y la extracción del aceite de la aceituna reduce el amargor. En el almacenamiento se confirma lo que no había sido posible en el ensayo anterior y que defendía Inarejos *et al.* (2010) en su estudio.

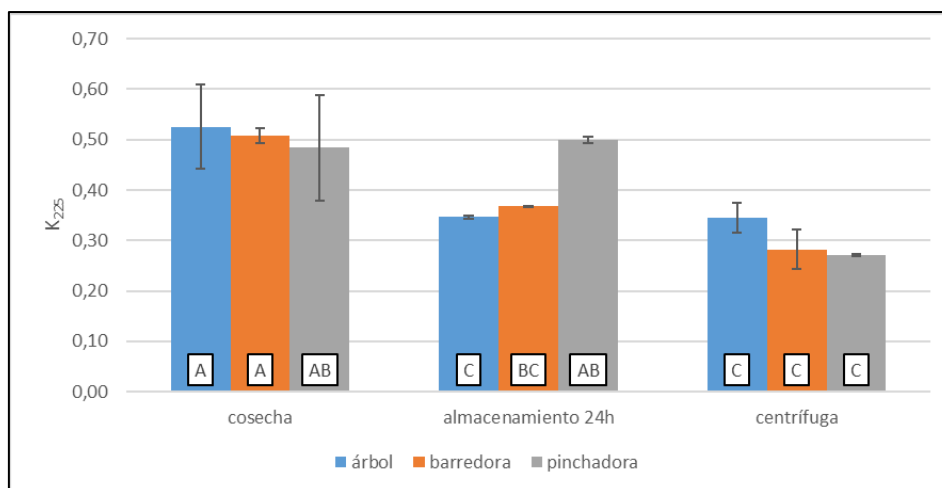


Figura 5. 21. Valores de K225 de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto crítico de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

Tabla 5. 6. Porcentaje de humedad de la aceituna, polifenoles totales y valor de K225 en el estudio sistemas de recolección.

Muestra	% Humedad aceituna	P. Totales (ppm)	K225
árbolvuelo	55,06±0,56 a	1231±410 a	0,53±0,08 a
barredora	52,52±3,04 a	1051±30 a,b	0,51±0,01 a
pinchadora	56,07±3,15 a	942±376 a,b	0,48±0,10 a,b
árbolTolva	47,44±0,38 b	962±38 a,b	0,35±0,00 c
barredoraTolva	44,36±0,45 b	915±43 a,b	0,37±0,00 b,c
pinchadoraTolva	45,30±0,23 b	1081±83 a,b	0,50±0,01 a,b
arbolcentrífugavertical		614±28 b	0,35±0,03 c
barredoracentrífugavertical		617±55 b	0,28±0,04 c
pinchadoracentrífugavertical		692±51 a,b	0,27±0,00 c

❖ Polifenoles totales

En la Figura 5.22, se muestra la variación del contenido en polifenoles totales del aceite procedentes de los diferentes sistemas de recolección en las etapas del proceso analizadas. En general el contenido de polifenoles totales

descendió desde el árbol hasta la almazara, sin haber diferencia significativa entre los métodos de recolección, en cada punto de control crítico. Pero en el almacenamiento se vuelve a dar la misma situación que en el amargor, para el método de recolección con pinchadora. Que como se explica anteriormente es debido a la pérdida de humedad.

En general, se observa en la Figura 5.22 que hay un descenso de los polifenoles de un punto de control a otro. Produciéndose un descenso significativo desde la cosecha hasta la extracción en almazara, a la salida de la centrífuga vertical, para el caso en el que se realiza la cosecha directamente del árbol..

Pero, como se puede ver, en el almacenamiento se confirma lo establecido en el estudio anterior y en el de Dag *et al.* (2012), de que en los polifenoles no se producían cambios destacables durante el almacenamiento para la variedad ‘Picual’.

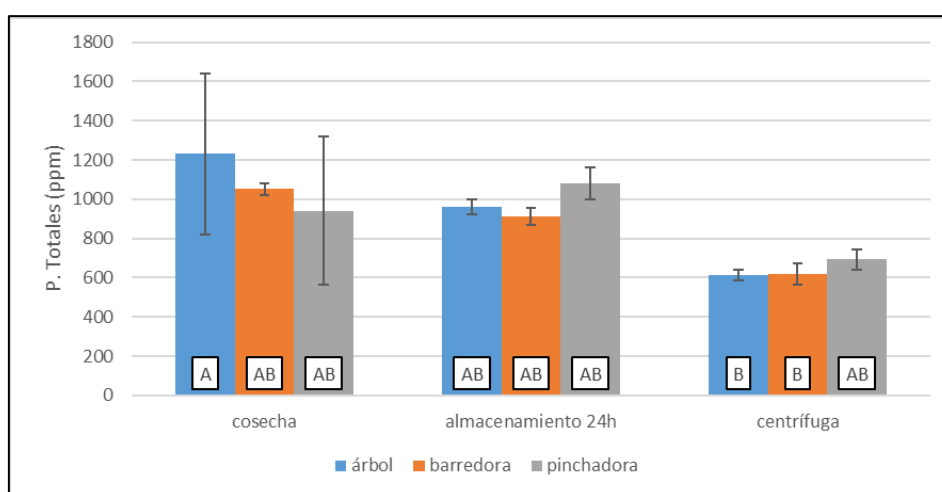


Figura 5. 22. Valores de polifenoles totales de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto control de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

❖ Volátiles

En los casos en los que la diferencia, entre los métodos de recolección, es significativa para un compuesto volátil; se observa que se alcanza un máximo (Tabla 5.7) y un mínimo (Tabla 5.8) de ese volátil. Y solo en algunos casos se repite el

máximo y el mínimo en los mismos métodos de recolección para distintos puntos de control crítico. Dichos casos son, en el caso del máximo:

- (Z)-3-Hexenal

Alcanza su máximo tanto en la cosecha como tras la centrifuga vertical con el método de recolección con mantón.

- Hexanal

Llega a su máximo en cosecha y tras un almacenamiento en tolva de 24 horas, siendo el método de recolección el de la barredora.

- (Z)-3-Hexen-1-ol

Llega a su mayor concentración en la cosecha, tras el almacenamiento de 24 horas y a la salida de la centrifuga vertical, con el empleo de barredora.

- 1-Hexanol

Llega a la mayor concentración en los tres puntos de control en los que se ha cosechado empleando la barredora.

De lo expuesto, se destaca que los máximos repetidos han sido todos de volátiles deseados y que los aceites que se han obtenido de aceitunas recogidas por pinchadora, son los únicos en los que no se alcanzan máximos de forma repetida en los puntos de control.

En el mínimo:

- (Z)-3-Hexen-1-ol

Su menor valor se alcanza en los tres puntos de control en los que la cosecha ha sido con mantón.

- 1-Hexanol

Alcanza su mínimo en los tres puntos de control, cuando se ha empleado pinchadora.

- (Z)-3-Hexenal

Su menor concentración se haya después del almacenamiento en tolva y a la salida de la centrifuga vertical, cuando la técnica de cosecha empleada es la barredora.

- Hexanal

Su mínimo ocurre en la recolección y en la tolva de almacenamiento, cuando la recogida de la aceituna se realiza mediante pinchadora.

- (Z)-3-Hexen-1-ol

El mínimo se encuentra al almacenar en tolva y a la salida de la centrífuga vertical, cuando se utiliza la pinchadora en la cosecha.

- 1-Hexanol

El valor mínimo de este compuesto se encuentra después del almacenamiento en tolva y tras la salida del aceite de la centrífuga vertical, cuando el método de recolección ha sido con pinchadora.

De esto se destaca que, de los volátiles presentados, los aceites que proceden de recolección por pinchadora son los que mayor resultado presentan de valores mínimos repetidos. Dado lo anterior y lo establecido en este apartado, la pinchadora reduce la concentración de volátiles.

- Momento de detección

Entre los volátiles obtenidos, algunos destacan por el momento en que se detectan (Tabla 5.8).

- (E)-2-Pentenal

Es un compuesto que solo se encuentra cuando se emplea pinchadora y que se pierde a partir del almacenamiento.

- Acetato de hexilo

Se capta su presencia en todas las técnicas de cosecha a partir del almacenamiento.

- Nonanal

Se observa su presencia solo en las recolecciones mediante barredora y pinchadora, mientras que en la de mantón no.

- Octanal

Sólo se detecta en la barredora a partir del almacenamiento.

- Análisis de compuestos de naturaleza similar

El análisis de volátiles por grupos de compuestos de similar naturaleza química, formados a través de la ruta de la LOX, también muestra diferencias (Tabla 5.8):

Los aldehídos: hexanal, (E)-2-pentenal, (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexenal; las cetonas representadas por el 1-penten-3-ona y el grupo de los hidrocarburos constituidos por los dímeros de penteno se comportan de igual manera que en el anterior ensayo tras el almacenamiento, descienden. Con respecto al comportamiento tras la salida de la centrífuga vertical, se observa un incremento para todos los grupos excepto en los hidrocarburos, donde se produce aumento en todos los componentes del grupo para la recolección con mantón y pinchadora, menos para barredora, donde descienden

El grupo de los alcoholes: 1-Penten-3-ol, (Z)-2-Penten-1-ol, (Z)-3-Hexen-1-ol, (E)-2-Penten-1-ol--Dup1 y 1-Hexanol; tiende a comportar de la misma manera que los anteriores grupos, descendiendo en el almacenamiento y aumentando tras la salida de la centrífuga vertical.

Y el grupo de los ésteres, formado por acetato de hexilo, acetato de (Z)-3-hexenilo y acetato de (E)-2-hexenilo, actúa a la inversa, aumentando tras el almacenamiento y reduciéndose a la salida de la centrífuga vertical.

- Volátiles mayoritarios

- Etanol

Entre los volátiles predominante, destaca principalmente el etanol (Tabla 5.8):

Se puede observar en la Figura 5.23 que los mayores niveles de etanol se alcanzan en todos los casos con el empleo de pinchadora, siendo significativamente altos en el almacenamiento.

Por lo que se puede deducir, que el empleo de pinchadora aumenta el nivel de etanol.

Y en general, el etanol aumenta desde su recogida hasta el almacenamiento. Reduciéndose sus valores al pasar por la centrifuga.

De modo que, el tratamiento de la aceituna desde la cosecha al almacenamiento aumenta el etanol, confirmándose lo ocurrido en el ensayo puntos críticos, en el que aumentaba el etanol con el almacenamiento. Mientras que el proceso de extracción de aceite lo reduce debido a su polaridad y el contacto con el agua.

- 3-etil-1,5-octadieno y 1 penten-3-ona

Al igual que en el ensayo anterior el 3-etil-1,5-octadieno y 1 penten-3-ona también pertenecen a los volátiles mayoritarios. Se comportan de manera similar, descendiendo de la cosecha al almacenamiento y aumentando tras la salida de la centrifuga vertical (Figura 5.24 y 5.25). El 3-etil-1,5-octadieno llega a sus menores valores con el empleo de barredora y de pinchadora en todos los puntos críticos. Con respecto al 1 penten-3-ona, con la barredora y la pinchadora se produce el mayor descenso tras el almacenamiento.

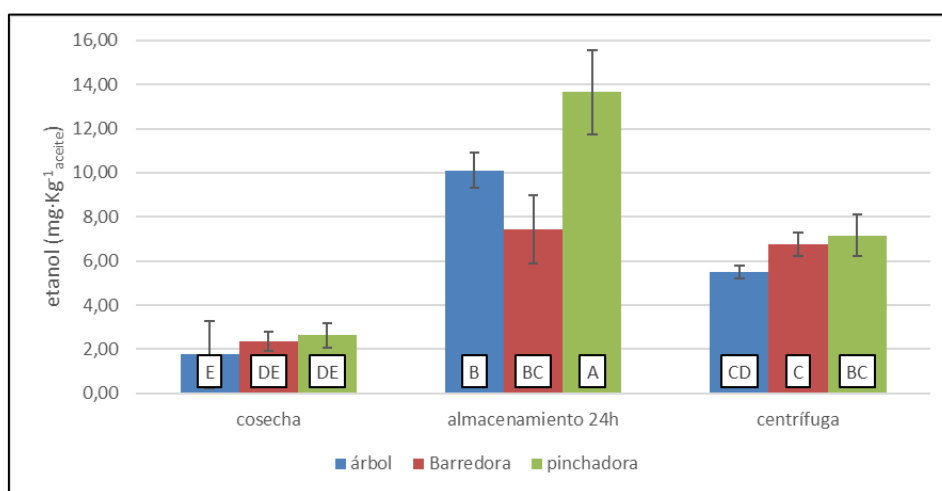


Figura 5. 23. Valores de etanol de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto de control de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$

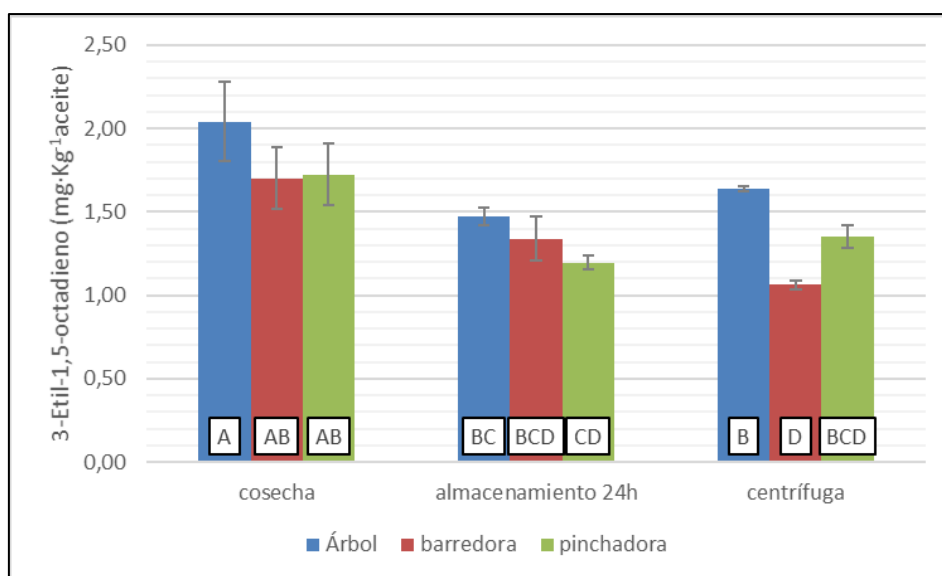


Figura 5. 24. Valores de 3-etil-1,5-octadieno de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto de control de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

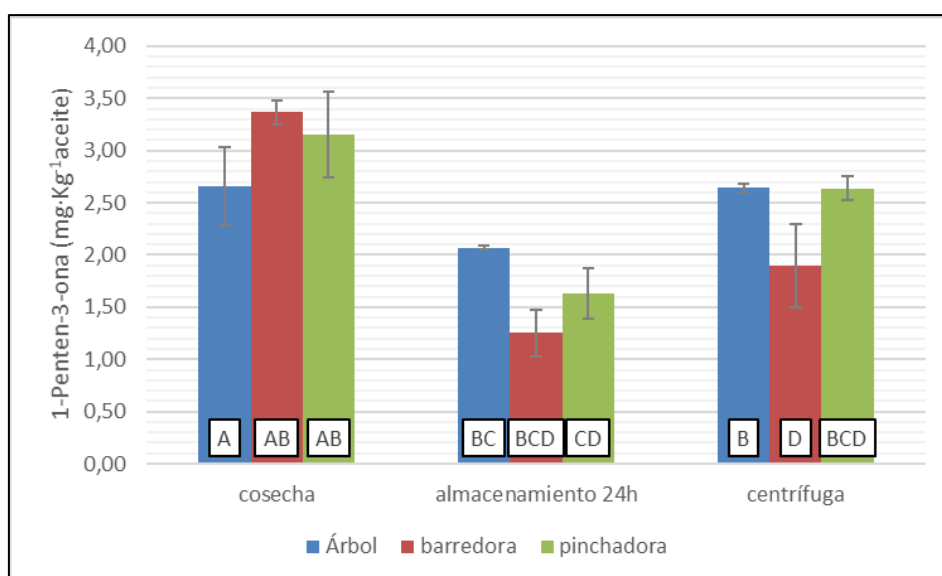


Figura 5. 25. Valores de 1 penten-3-ona de los aceites procedentes de frutos recogidos en cada punto de control de procesos con distinto método de recolección. Diferentes letras muestran diferencias significativas para un valor de $p=0,05$.

Tabla 5. 7. Volátiles con la máxima concentración en cada punto de control crítico, según el método de recolección. Siendo “ * ” volátiles no deseados y “ ** “ volátiles deseados.

Árbol	Barredora	Pinchadora
Hexanal** 1-Metoxihexano* (Z)-3-Hexenal**	Hexanal** (Z)-3-Hexen-1-ol** (E)-2-Penten-1-ol** (Z)-3-Hexenal** 1-Hexanol**	(E)-2-Hexenal** (E,E)-2,4-Hexadienal*
ÁrbolT	BarredoraT	PinchadoraT
1-Penten-3-one**	Hexanal** Acetato de (Z)-3-Hexenilo** (Z)-3-Hexen-1-ol** 1-Hexanol**	Etanol** Metanol* (Z)-3-Hexenal**
Árbol CV	Barredora CV	Pinchadora CV
6-Metil-5-hepten-2-ona* 3-Etil-1,5-octadieno** 3-Etil-1,5-octadiene-Du** 3-Etil-1,5-octadiene-Du** (Z)-3-Hexenal** (E)-2-Penten-1-ol**	(E)-2-Hexenal** (Z)-3-Hexen-1-ol** 1-Hexanol**	6-Metil-5-hepten-2-ona* (E)-2-Penten-1-ol**

Tabla 5. 8. Volátiles con la mínima concentración en cada punto de control crítico, según el método de recolección. Siendo “ * ” volátiles no deseados y “ ** ” volátiles deseados.

Árbol	Barredora	Pinchadora
(Z)-3-Hexen-1-ol** (E)-2-Penten-1-ol** (E,E)-2,4-Hexadienal*	(E)-2-Hexenal** 1-Metoxihexano*	Hexanal** (E)-2-Penten-1-ol** 1-Metoxihexano* (Z)-3-Hexenal** 1-Hexanol**
ÁrbolT	BarredoraT	PinchadoraT
Etanol** Acetato de (Z)-3-Hexenilo** (Z)-3-Hexen-1-ol** (Z)-3-Hexenal** 1-Hexanol**	Etanol** Metanol* (Z)-3-Hexenal** 1-Penten-3-ona**	Hexanal** Acetato de (Z)-3-Hexenilo** (Z)-3-Hexen-1-ol** 1-Hexanol**
Árbol CV	Barredora CV	Pinchadora CV
(E)-2-Hexenal** (Z)-3-Hexen-1-ol** 1-Hexanol**	6-Metil-5-Hepten-2-one* 3-Etil-1,5-octadieno** 3-Etil-1,5-octadieno-Du** 3-Etil-1,5-octadieno-Du** (Z)-3-Hexenal** (E)-2-Penten-1-ol**	(E)-2-Hexenal** (Z)-3-Hexen-1-ol** 1-Hexanol**

Tabla 5. 9. Concentración de compuestos volátiles en cada punto de control crítico de los diferentes estudios de métodos de recolección. (mg·Kg-1 de aceite). Siendo “ * ” volátiles no deseados y “ ** “ volátiles deseados.

Compuestos volátiles	Recolección			Almacenamiento			Centrífuga Vertical		
	Árbol	Barredora	Pinchadora	Árbol	Barredora	Pinchadora	Árbol	Barredora	Pinchadora
Etanol*	1,77±1,52 e	2,35±0,44 d,e	2,63±0,57 d,e	10,12±0,81 b	7,43±1,53 b,c	13,65±1,91 a	5,50±0,30 c,d	6,76±0,55 c	7,17±0,94 b,c
Hexanal**	1,43±0,35 a	1,28±0,01 a,b	0,79±0,15 c,d	0,78±0,15 c,d	0,98±0,16 b,c	0,38±0,10 d	1,27±0,09 a,b	1,27±0,06 a,b	1,36±0,11 a,b
(E)-2-Pentenal**	.	.	0,03±0,01	.	.	.	.	.	.
1-Penten-3-ol**	0,12±0,01 a,b	0,13±0,01 a	0,11±0,02 a,b,c	0,10±0,00 a,b,c	0,07±0,02 b,c	0,07±0,01 c	0,09±0,01 a,b,c	0,13±0,00 a	0,11±0,03 a,b,c
(E)-2-Hexenal**	3,15±0,39 b	0,12±0,01 d	3,88±0,29 a	0,04±0,00 d	0,24±0,06 d	0,08±0,02 d	0,18±0,01 d	0,74±0,09 c	0,22±0,01 d
Acetato de hexilo**	.	.	.	0,10±0,00	0,18±0,02	0,05±0,02	0,09±0,01	0,09±0,01	0,04±0,00
Acetato de (Z)-3-Hexenilo**	0,09±0,02 c	0,59±0,10 c	0,26±0,03 c	1,58±0,09 b	2,20±0,13 a	1,42±0,16 b	1,48±0,05 b	1,76±0,44 ab	1,28±0,04 b
(Z)-2-Penten-1-ol**	0,16±0,03 a,b,c	0,21±0,01 a	0,18±0,03 a,b	0,12±0,02 c,d	0,11±0,03 c,d	0,11±0,01 d	0,15±0,00 b,c,d	0,13±0,01 b,c,d	0,16±0,01 b,c,d
Acetato de (E)-2-Hexenilo**	0,02±0,00	.	.	.	.	.	.	.	0,05±0,01
(Z)-3-Hexen-1-ol**	0,88±0,20 c	2,09±0,1 a	1,34±0,09 b	1,01±0,06 c	1,47±0,02 b	0,93±0,08 c	0,98±0,03 c	1,35±0,04 b	1,01±0,04 c
Nonanal*	.	.	0,21±0,03	.	0,11±0,03	0,05±0,01	.	0,03±0,01	.
Acetato de etilo*	.	.	.	.	0,06±0,01 a	0,05±0,02 a	0,57±0,19 a	0,89±0,10 a	0,47±0,01 a
Octanal*	.	.	.	.	0,31±0,05	.	.	0,21±0,02	.
6-metil-5-Hepten-2-ona*	0,19±0,05 b,c	0,30±0,07 b	0,22±0,04 b,c	0,29±0,05 b,c	0,14±0,04 c	0,25±0,03 b,c	0,62±0,08 a	0,22±0,06 b,c	0,51±0,06 a
(E)-2-Penten-1-ol-Dup1**	0,02±0,00 c,d	0,09±0,00 a	0,02±0,00 b,c	0,01±0,00 d,e	0,01±0,00 e	0,01±0,00 d,e	0,02±0,00 b	0,02±0,00 c,d	0,02±0,00 b
(Z)-2-Hexenal-Dup1**	.	.	2,47±0,18 a	.	.	.	.	.	.
Metanol*	0,53±0,02 b,c	0,77±0,04 a,b	0,56±0,02 b,c	0,83±0,17 a,b	0,60±0,09 b,c	0,91±0,14 a	0,57±0,03 b,c	0,34±0,03 c	0,37±0,06 c
1-metoxihexano*	2,06±0,59 a	1,08±0,16 b,c	1,02±0,28 c	1,27±0,08 b,c	1,67±0,15 a,b	1,07±0,08 b,c	1,31±0,05 b,c	1,16±0,07 b,c	0,92±0,04 c
3-Etil-1,5-octadieno**	2,04±0,24 a	1,70±0,19 a,b	1,72±0,19 a,b	1,47±0,05 b,c	1,34±0,13 b,c,d	1,20±0,04 c,d	1,64±0,02 b	1,06±0,03 d	1,35±0,07 b,c,d
3-Etil-1,5-octadieno-Du**	1,38±0,21 a	1,18±0,12 a,b	1,19±0,12 a,b	0,88±0,05 c,d	0,77±0,07 d	0,71±0,03 d	1,08±0,01 b,c	0,69±0,01 d	0,87±0,05 c,d
3-Etil-1,5-octadieno-Du**	0,83±0,12 a	0,70±0,09 a,b	0,68±0,09 a,b	0,63±0,02 b	0,55±0,07 b	0,50±0,03 b,c	0,71±0,02 a,b	0,24±0,02 d	0,32±0,02 c,d
(Z)-3-Hexenal**	0,56±0,09 b	0,70±0,09 a,b	0,29±0,05 c	0,28±0,06 c	0,15±0,03 c	0,55±0,06 b	0,78±0,03 a	.	0,23±0,06 c
1-Hexanol**	.	0,28±0,05 a	0,11±0,02 b	0,16±0,01 b	0,30±0,01 a	0,11±0,02 b	0,16±0,02 b	0,24±0,01 a	0,13±0,02 b
1-Penten-3-ona**	2,66±0,38 a,b	3,37±0,11 a	3,16±0,41 a	2,07±0,02 b,c	1,25±0,23 d	1,63±0,24 c,d	2,64±0,04 a,b	1,90±0,40 b,c,d	2,64±0,12 a,b

6. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se pueden establecer las siguientes conclusiones:

- ❖ En general, las condiciones ensayadas en el estudio de puntos críticos no fueron lo suficientemente agresivas como para variar la clasificación de los aceites en función de los parámetros físico químicos analizados.
- ❖ La recolección del fruto directamente del árbol dio lugar a los aceites con los parámetros de calidad analizados más bajos, siendo la barredora el sistema que afecta de forma más negativa a la calidad del aceite.
- ❖ El almacenamiento del fruto, aumenta la acidez; siendo esto más marcado en los aceites procedentes de frutos recolectados del suelo mediante barredora
- ❖ Los pigmentos del aceite aumentan desde la cosecha hasta el almacenamiento.
- ❖ El índice de peróxidos aumenta con el almacenamiento, Independientemente del sistema de recolección utilizado.
- ❖ El amargor (K225) y el contenido de compuestos fenólicos del aceite fue descendiendo en cada uno de los puntos de control de la oliva.
- ❖ El amargor desciende tras el paso de la aceituna por la tolva de almacenamiento y por la centrífuga vertical, mostrando en general los valores más bajos en los aceites procedentes de sistemas de recolección de fruto del suelo.
- ❖ En general, el uso de pinchadora como sistema de recolección dio lugar a que la concentración de volátiles deseados descienda considerablemente.
- ❖ Los compuestos volátiles deseados mayoritarios, en este estudio son el etil-1,5-octadieno y 1 penten-3-ona, los cuales tiene tendencia a descender durante el proceso. En el estudio de sistemas de recolección su mayor descenso de concentración se produce con el

empleo de barredora y pinchadora, siendo más pronunciado el de barredora.

- ❖ El etanol aumenta su concentración a lo largo del tratamiento de la aceituna, destacando incrementos tras su limpieza, provocado posiblemente por las abrasiones externas, y después del almacenamiento, debido a la ausencia de oxígeno en la tolva. Respecto al método de recolección, destaca el aumento de etanol, en todos los puntos de control, cuando se emplea la pinchadora, sobresaliendo tras el almacenamiento.

7. BIBLIOGRAFÍA

ARTAJO, L.S.; ROMERO, M.P.; TOVAR, M.J., MOTILVA, M.J. (2006). Effect of irrigation applied to olive trees (*Olea europaeae* L.) on phenolic compound transfer during olive oil extraction. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 108 (1): 19-27.

AZIZ, N.H.; FARAG, S.E.; MOUSA, L.A.A.; ABO, M.A. (1998). Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*. 93 (374): 43-54

BARREIRO, J.A.; SANDOVAL, A.J. (2006). *Operaciones de conservación de los alimentos por bajas temperaturas*. Caracas, Equinoccio. 365 pp.

BELTRÁN, G.; JIMÉNEZ, A.; AGUILERA, M.P.; UCEDA, M. (2000). Análisis mediante HPLC de la fracción fenólica del aceite de oliva virgen de la variedad 'Arbequina'. Relación con la medida del amargor K225 y la estabilidad". *Grasas y Aceites*. 51 (5): 320-324.

BELTRÁN, G.; REAL R.; BEJAOL, A.; SÁNCHEZ, A; JIMÉNEZ, A; AGUILERA, M.P. (2016). Efecto de la separación del fruto procedente del suelo y vuelo en la calidad y composición del aceite de oliva virgen. *Industria del aceite*. Recuperado de: <http://www.interempresas.net/Produccion-Aceite/Articulos/160628-Efecto-separacion-fruto-procedente-suelo-vuelo-calidad-composicion-aceite-oliva-virgen.html>

BELTRÁN, G.; UCEDA, M.; HERMOSO M.; FRÍAS, L. (2008). Maduración. En D. Barranco; R. Fernández, L. Rallo (Eds.). *El cultivo del olivo*. 6º Edición. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. pp. 163-187.

BENDICH, A. Y OLSON, J. A. (1989). Biological actions of carotenoids. *The FASEB. Journal*. 3 (8):1927-1932.

BENITO, M; ORIA, R.; SÁNCHEZ, A.C. (2009). Influencia del retraso en el procesado de las aceitunas tras la recolección, en parámetros físico-químicos y nutricionales del aceite de oliva de la variedad Racimilla. *Grasas y aceites*. 60(4): 382-387.

BRENES, M.; GARCÍA, A.; RÍOS, J. J.; GARCÍA, P.; GARRIDO, A. (2002). Use of 1-acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. *International Journal of Food Science & Technology*. 37 (6): 615–625.

CAMERA L; ANGEROSA F; CUCURACHI A. (1978). Influenza dello stoccaggio delle olive sui costituenti della frazione sterolica dell' olio. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 55 (4): 107- 112.

CANET, M.; GARCÍA, J. M.^a (1999). Repercusión de la frigoconservación de la aceituna de molino en el proceso de producción de aceite de oliva virgen. *Grasas y Aceites*. 50 (3): 181-184.

CERRETANI, L.; GÓMEZ, A.M.; BENDINI, A. (2009). Aspectos tecnológicos de la producción del aceite de oliva. En A. Fernández, A. Segura (Eds.). *El aceite de oliva Virgen: Tesoro de Andalucía*. Málaga, Servicios de Publicaciones de la Fundación Unicaja. pp. 169-194.

CERT, A., LANZÓN, A., CARELLI, A. A., ALBI, T., AMELOTI, G. (1994). Formation of stigmasta-3,5-diene in vegetable oils. *Food Chemistry*. 49 (39): 287-293.

COI (2012). *Method of analysis determination of the content of waxes, fatty acid methyl esters and fatty acid ethyl esters by capillary gas chromatography using 3 grams of silica*. COI/T.20/Doc. No 31.

COI (2016). *Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils*. COI/T.15/NC No 3/Rev. 11.

COMISIÓN EUROPEA (2007). *REGLAMENTO (CE) nº 702/2007 de la Comisión, de 21 de junio de 2007, por el que se modifica el Reglamento (CEE) nº 2568/91 relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis*. DOUE-Nº161.

COMISIÓN EUROPEA (2015). *Reglamento de ejecución (UE) 2015/1833 de la comisión, de 12 de octubre de 2015, que modifica el Reglamento (CEE) no 2568/91 relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis*. DOUE-Nº266.

COMISIÓN EUROPEA (2016). *Texto consolidado. Reglamento (CEE) N° 2568/91 de la Comisión, de 11 de julio de 1991, relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis*. DOUE-N°248.

CONSEJO DE AGRICULTURA, PESCA Y DESARROLLO RURAL (2015). *Decreto 103/2015, de 10 de marzo, por el que se aprueba el Plan Director del Olivar*. BOJA-N°54.

DAG, A.; BOIM, S.; SOBOTIN, Y.; ZIPORI, I. (2012). Effect of Mechanically Harvested Olive Storage Temperature and Duration on Oil Quality. *HortTechnology*. 22 (4): 528-533.

DIONISI, F.; PRODOLLIET, J.; TAGLIAFERRI, E. (1995). Assessment of olive oil adulteration by reversedphase high performance liquid chromatography/amperometric detection of tocopherols and tocotrienols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 72 (12): 1505-1511.

FEDELI, E. (1977). Lipids of olives. *Progress in the chemistry of fats and other lipids*. 15 (1):57-74

FERNÁNDEZ, D., G.; ESPINOTE, F.; MOYA, M. (2008). Influencia de diferentes coadyuvantes tecnológicos en la calidad y rendimiento del aceite de oliva virgen utilizando la metodología de superficies de respuesta. *Grasas y aceites*. 59 (1):39-44.

FLEMING, H.P.; WALTER, W.M.; ETCHELLS, J.L.; (1973). Antimicrobial properties of oleuropein and product of its hydrolysis from green olives. *Applied and Environmental Microbiology*. 26 (5): 777-782.

GALLI, C.; VISIOLI, F. (1999). Antioxidant and other activities of phenolics in olives/olive oil, typical components of the Mediterranean diet. *Lipids*. 34: 523-526.

GARCÍA, A.I.; PÉREZ, D.; BARASONA, J.; BARASONA, M.L.; JIMÉNEZ, B. (2007). Efectos del sistema de recolección sobre la calidad del aceite. En *actas del XI Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas*. Albacete. pp. 781-784.

GARCÍA, J. M.; GUTIÉRREZ, F.; CASTELLANO, J. M.; PERDIGUERO, S.; MORILLA, A.; ALBI, M. A. (1996). Influence of storage temperature on fruit ripening and olive oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 264-267.

GARCÍA, J.M. (1993). Efecto del CO₂ en la atmósfera de almacenamiento del fruto sobre la calidad del aceite de oliva. *Grasas y Aceites*. 44 (3): 169-174.

GARCÍA, J.M.; GUTIÉRREZ, F.; BARRERA, M.J.; ALBI, M.A. (1996). Storage of mill olives on an industrial scale. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44 (2): 590-593.

GARCÍA, J.M.; GUTIÉRREZ, R.; CASTELLANO, J.M.; PERDIGUERO, S.; MORILLA, A.; ALBI, M.A. (1994). Storage of olive destined for oil extraction. En P. Sass (Ed.). *ISHS Acta Horticulturae 368: International Symposium on Postharvest Treatment of Horticultural Crops*. Volumen 2. Kecskemét. pp. 673-681.

GARCÍA, J.M.; YOUSFI, K.; MATEOS, R.; OLMO, M.; CERT, A. (2001). Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea*) fruits. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 49 (9): 4231-4235.

GIL, J.; BLANCO, G.L.; CASTRO, S.; AGÜERA, J.; BARASONA, J.; BARASONA, M.L.; KOURABA, K.; JIMÉNEZ, B.; ZAMORANO, F. (2007). Optimización de la recolección mecanizada de la aceituna desde el punto de vista de la calidad del aceite y del daño al olivo (CAO 01-023). En *El Aceite de Oliva. Actas del Simposio Científico-Técnico de Expoliva 2005*. Tomo II. Jaén. pp. 559-563.

GODOY, M.P. (2013). Nuevas propuestas de procedimiento analíticos sencillos para la cuantificación de compuestos fenólicos presentes en la fracción minoritaria del aceite de oliva. *Tesis doctoral*. Universidad de Extremadura. Badajoz.

GRANDE, F. (1989). El aceite de oliva en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. En *II Simposium científico del aceite de oliva. Expoliva 89*. Jaén.

GUARDIA, M. (2008). Evaluación de la efectividad del lavado de la aceituna sobre la eliminación de residuos de plaguicidas: nuevas metodologías analíticas y situación real en almazaras. *Tesis doctoral*. Universidad de Jaén. Jaén.

GUILLEN, M.D.; RUIZ, A. (2001). High resolution ¹H nuclear magnetic resonance in the study of edible oils and fats. *Trends in Food Science & Technology*. 12 (9): 328-338.

GUNESER, O.; DEMIRKOL, A.; KARAGUL, Y.; OZMEN S.; ISLETEN, M.; ELIBOL, M. (2016). Production of flavor compounds from olive oil mill waste by *Rhizopus oryzae* and *Candida tropicalis*. *Brazilian Journal of Microbiology*. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2016.08.003>.

GUTIÉRREZ, F.; JIMÉNEZ, B.; RUÍZ, A.; ALBI, M.A. (1999). Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties Picual and Hojiblanca and on the different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47 (1): 121-127.

GUTIÉRREZ, F.; PERDIGUERO, S.; GARCÍA, J. M.; CASTELLANO, J. M. (1992). Quality of oils from olives stored under controlled atmosphere. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 69 (12): 1215-1218.

GUTIÉRREZ, F.; PERDIGUERO, S.; GUTIÉRREZ, R.; OLIAS, J.M. (1992). Evaluation of the bitter taste in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 69 (4):394-395.

HERMOSO J.F.; NINOT, A.; ROMERO A. (2016). Efectos de la recolección de la aceituna del suelo mediante recolectoras de púas en el rendimiento y la calidad del aceite. En *I Congreso Ibérico de Olivicultura, V Jornadas Nacionales del Grupo de Olivicultura de la SECH. Sistemas de producción y técnicas culturales*. Badajoz.

HUESO, A. (2015). Efecto del lavado y almacenamiento del fruto, en los niveles de etanol y esteres etílicos del aceite de oliva virgen. *Trabajo fin de máster*. Universidad de Córdoba. Córdoba.

HUMANES, J.; CIVANTOS, M. (2001). *Producción de aceite de oliva de calidad. Influencia del cultivo*. 2º Edición. Sevilla, Consejería de Agricultura y Pesca. 90 pp.

INAREJOS, A.M.; GÓMEZ, A.; DESAMPARADOS, M.; FREGAPANE, G. (2010). Effect of preprocessing olive storage conditions on virgin olive oil quality and composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58 (8): 4858-4865.

IUPAC (1987). 2432 Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by high performance liquid chromatography. En A. Dieffenbacher, W.D. Pocklington (Eds.). *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives*. 7ª edición. Oxford, Blackwell Scientific Publication. pp 2432/1-2432/7.

JABEUR, H.; ZRIBIA, A.; ABDELHEDIA, R.; BOUAZIZ, M. (2015). Effect of olive storage conditions on Chemlali olive oil quality and the effective role of fatty acids alkyl esters in checking olive oils authenticity. *Food Chemistry*. 169: 289-296.

JIMÉNEZ, A; UCEDA, M; BELTRÁN, G. (2001). Efecto de la separación suelo-vuelo y de la preparación del fruto en el patio sobre las características del aceite. *Revista Dossier Oleo*. (74): 112-117.

LAMUELA, R.M.; GIMENO, E; FITÓ, M.; CASTELLOTE, A.I.; COVAS, M.; DE LA TORRE, M.C.; LÓPEZ, M.C. (2004). Interaction of olive oil phenol antioxidant components with low density lipoprotein. *Biological Research*. 37 (2): 247-252.

LAVEE S.; AVIDAN B.; MENI Y. (2003). 'Askal', una nueva variedad de almazara sobresaliente por su comportamiento agronómico para olivares intensivos y superintensivos. *Olivae: Revista Oficial del Consejo Oleícola Internacional*. (97): 53-59.

LOZANO, J.; SEGURA, A.; FERNÁNDEZ, A. (2009). Composición del aceite de oliva. En A. Fernández, A. Segura (Eds.). *El aceite de oliva Virgen: Tesoro de Andalucía*. Málaga, Servicios de Publicaciones de la Fundación Unicaja. pp. 195-224.

MAHJOUB, A.; BULLERMAN, LL. B. (1987). Effects of nutrients and inhibitors in olives on aflatoxigenic molds. *Journal of Food Protection*. 50 (11): 959-963.

MARIANI, C.; VENTURINI, S. (1996). Formation of Waxes During Storage of Olive Oil. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 73 (11): 489-498.

MARIANI, C.; FEDELI, E.; GROB, K.; ARTHO, A. (1991). Indagine sulle variazioni dei componenti minori liberi ed esterificati di oli ottenuti da olive in funzione della maturazione e dello stoccaggio. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 68 (4): 179-187.

MATAIX J. (2005). *Nutrición para educadores*. 2º edición. Madrid, Díaz de Santos. 752 pp.

MICALI, G.; CURRO, P. (1984). Determinazione dei tocoferoli negli oli vegetali mediante HPLC. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 61: 95-98.

MINGUEZ, M.I.; REJANO, L.; GANDUL, B.; SÁNCHEZ, A.H.; GARRIDO, J. (1991). Color-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 68 (5): 332-336.

MOLINA, J.L.; JIMÉNEZ, B.; RUIZ, F.; GARCÍA, F.; CANO, J.; PÉREZ, J. (2004). *Técnicas de cultivo: Recolección mecanizada del olivar*. 2ª edición. Sevilla, Consejería de Agricultura y Pesca. 83 pp.

MOYA, M.; VILAR, J.; ESPÍNOLA, F.; FERNÁNDEZ, D.G.; MORENO, M^a.V. (2007). Evolución histórica de la calidad de los aceites de oliva y su relación con los procesos de obtención. En *I Congreso de Cultura del Olivo. Cultivo, calidad y medioambiente*. Jaén. pp. 647-662.

MUCCIARELLA, M.R.; MARSILIO, V. (1997). Influenza del processo tecnologico di preparazione e della conservazione sulle caratteristiche chimico-fisiche dell'olio di oliva vergine extra usato come copertura di conserve vegetali in vasetti di vetro. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 74 (3): 105-112.

OWEN, R. W.; MIER, W.; GIACOSA, A.; HULL, W. E.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H (2000). Identification of Lignans as Major Components in the Phenolic Fraction of Olive Oil. *Clinical Chemistry*. 46 (7): 976–988.

PAGANUZZI, V.; LEONI, E. (1979). On the composition of Iranian olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 56 (12): 925-930.

PAPASEIT, J. (1986). El color del aceite de oliva extra virgen, característica de calidad. *Grasas y Aceites*. 37: 204-206.

PÉREZ, M. C.; GARCÍA, J. M.; CASTELLANO, J. M. (1992). Polar compound concentration in virgin oils from stored cultivar Picual olive fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 2260-2262.

PORRAS, A. (1987). *Las máquinas para la recolección de aceitunas. Principios y características*. Sevilla, Dirección General de Investigación y Extensión Agrarias. 119 pp.

RABIEI, V.; GHORBANI, S.; HAJNAJARI, H. (2011). Effect of temperature and storage period of olive (*Olea europaea* cv. Zard) fruit on olive quality. *Journal of Food Agriculture and Environment*. 9:74–77.

RAMÍREZ, E.; SÁNCHEZ, A.H.; ROMERO, C.; BRENES, M. (2015). Combined use of nitrogen and coatings to improve the quality of mechanically harvested Manzanilla olives. *Food Chemistry*. 171:50-55.

REAL, R. (2014). Efecto de las características del fruto en la calidad y en el contenido de ésteres alquílicos del aceite de oliva virgen. *Trabajo fin de máster*. Universidad de Jaén. Jaén.

RODRIGUES, N.; DIAS, L.G.; VELOSO, A.C.A.; PEREIRA, J.A., PERES, A.M. (2016). Monitoring olive oils quality and oxidative resistance during storage using an electronic tongue. *Food Science and Technology*: 73:683-692

ROVELLINI, P.; AZZOLINI, M.; CORTESI, N. (1997). Tocoferoli e tocotrienoli in oli e grassi vegetali mediante HPLC. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 74 (1): 1-5.

RUIZ, V. (2004). The unsaponifiable components of olive oil. En *Congreso Internacional sobre Aceite de oliva y Salud*. Jaén.

Sánchez, A; Romero, C.; Sanz, C.; Pérez, A.G. (2012). Synthesis of Volatile Compounds of Virgin Olive Oil Is Limited by the Lipoxygenase Activity Load during the Oil Extraction Process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60 (3):812-822.

SEGURA, A.; CARRASCO, A.; BENDINI, A.; CERRETANI, L.; FERNÁNDEZ, A. (2010). Analytical Determination of Polyphenols in Olive Oil. En: V.R. Preedy, R.R. Watson (Eds.). *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. San Diego, Elsevier Inc. pp. 509-524.

TAPIA, F.; ASTORGA, M; IBACACHE, A; MARTÍNEZ, L; SIERRA, C; QUIROZ, C.; LARRAIN, P.; RIVEROS, F. (2003). *Manual del cultivo del olivo*. La Serena, Centro Regional de Investigación Intihuasi. 128 pp.

TASSOU, S.C.; NYCHAS, G.J. (1995). Inhibition of Salmonella enteritidis by oleuropein in broth and in a model food system. *Letters in Applied Microbiology*. 20 (2): 120-124.

TISCORNIA, E.; FIORINA, N.; EVANGELISTI, F. (1982). Composizione chimica dell'olio di oliva vergine e sue variazioni indotte dal processo di rettificazione. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 59 (11): 519-555.

TRANter, H.S.; TASSOU, S.C.; NYCHAS, G.J. (1993). The effect of the olive phenolic compound, oleuropein, on growth and enterotoxin B production by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Bacteriology*. 74 (3): 253-259.

VÁZQUEZ, A.; JANER, C.; JANER, M.L. (1973). Determinación de polifenoles totales del aceite de oliva. *Grasas y Aceites*. 24 (6):350-357.

Páginas web

AICA [en línea]

<http://www.aica.gob.es/> [04/12/2016]

International Olive Council [en línea]

<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>

[04/12/2016]

MAPAMA

<http://www.mapama.gob.es/es/>

Olivelab [en línea]

<http://olivelab.es/sistema-abencor.html> [04/12/2016]

