

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias

**OPTIMIZACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS
FENÓLICOS TOTALES EN LA ETAPA DE BATIDO
DURANTE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE OLIVA
VIRGEN DE LA VARIEDAD SEVILLANA
(*Olea europea sativa*)**

TESIS

PRESENTADO POR:

BACH. SONIA MAMANI QUISPE

**Para optar el Título Profesional de
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

TACNA—PERÚ

2008

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN TACNA
TITULO PROFESIONAL DE INGENIERO EN
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Tomo N° .. II Folio N° 181-182

El jurado calificador nominado mediante Resolución Faculta-
tiva N° 3044-08-FAIA, Integrada por

Dr. Miguel Barea C.	Presidente
Mgr. Samuel Curo R.	Miembro
Mgr. Leticia Pauchipe	Miembro
Ing. Luis Marin A.	Asesor

Para examinar el Trabajo de Tesis:

Optimización del Contenido de Compuestos Fenólicos
Totales en la Etapa de Batido durante la Extracción
del Aceite de Oliva Virgen de la Variedad Sevillana
Olea europea sativa
presentada por Sonia Mamani Quijpe

Obteniendo el siguiente veredicto: Aprobado

por mayoría

Tacna, 04 de febrero del 2008

AGRADECIMIENTO

- A Dios por darme fuerzas y esperanzas, para realizar y culminar el presente trabajo.
- A mis padres: Ramón y María por su apoyo y comprensión y a mis hermanos, en especial a Rosa por su comprensión y aliento constante para seguir y enfrentar las dificultades que se dieron.
- Al Ing. Luis Marín Aliaga, asesor de presente trabajo tesis.
- A mi amigo Juan Antonio Aguilar, por ayudarme en la elaboración del presente trabajo.
- Al Decano Dr. Miguel Ángel Larrea Céspedes y a los docentes de la facultad de ingeniería en industrias alimentarias, quienes me enseñaron durante los 5 años de estudios en esta facultad.
- A mis compañeros y amigos que me apoyaron con sus consejos y palabras de aliento y fortaleza para culminar el presente trabajo.
- Y a todos aquellos que de alguna u otra manera hicieron posible la culminación del presente trabajo gracias a todos ellos.
- Gracias a todos ellos

DEDICATORIA

*À Dios, à mis padres Ramón y María, y a
mis hermanos por su sacrificio, dedicación,
ayuda y comprensión constante hicieron
posible mi anhelo de ser profesional.*

CONTENIDO

RESUMEN	01
I. INTRODUCCIÓN	03
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	05
2.1. EL OLIVO	05
2.1.1. Origen y Producción.....	05
2.1.2. El Olivo.....	05
2.2. LA ACEITUNA	06
2.2.1. El Fruto.....	06
2.2.2. Estructura de la Aceituna.....	06
2.2.3. Composición Química de la Aceituna.....	07
2.2.4. El Índice de Madurez	08
2.3. EL ACEITE DE OLIVA	10
2.3.1. Denominación y Definición de Aceite de Oliva	10
2.3.2. Composición del Aceite de Oliva	11
2.3.2.1. Fracción Saponificable	11
2.3.2.2. Fracción Insaponificable	13
2.3.3. Clasificación del Aceite de Oliva	15
2.4. LOS COMPUESTOS FENÓLICOS	17
2.4.1. Compuestos Fenólicos en Alimentos	17
2.4.2. La Estructura Química	18

2.4.3. Efectos de los Compuestos Fenólicos en los Alimentos....	20
2.4.3.1. En la Calidad Organoléptica.....	20
2.4.3.2. Efecto en los Macronutrientes y Minerales.....	20
2.4.3.3. Actividad Antioxidante	22
2.5. LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN EL ACEITE DE OLIVA..	23
2.5.1. Efectos de los Polifenoles en el Aceite de Oliva.....	25
2.6. EL PROCESO DE BATIDO.....	26
2.6.1. Factores Fundamentales que Influyen en el Proceso de Batido	26
2.7. PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE OLIVA	28
2.8. CUIDADOS PARA PROTEGER LA CALIDAD DEL ACEITE.....	33
2.9. NORMAS DE CALIDAD.....	33
2.9.1. Atributos de Calidad del Aceite de Oliva Virgen.....	34
III. MATERIALES Y MÉTODOS	37
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN	37
3.2. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS	37
3.2.1. Materia Prima	37
3.2.2. Reactivos	37
3.2.3. Materiales	38
3.2.4. Equipos	38
3.3. METODOLOGÍA	39
3.3.1. Análisis de la materia prima	39
3.3.1.1. Análisis proximal	39

3.3.2. Análisis del producto final	41
3.3.2.1. Análisis Químicos.....	41
3.3.2.2. Evaluación de Compuestos Fenólicos Totales....	41
3.3.2.3. Evaluación Sensorial.....	42
3.3.2.4. Balance de Masa y Flujo Definitivo	43
3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL	43
3.4.1. Procedimiento.....	43
3.4.2. Delineamiento Experimental	49
3.4.3. Procedimiento y Análisis Estadístico de Datos.....	51
3.4.4. Método de Optimización	52
3.4.4.1. Optimización mediante la metodología de la función deseada	52
IV. HIPÓTESIS E IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES	53
4.1. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS	53
4.2. IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES	53
4.2.1. Variables	53
4.2.2. Indicadores.....	54
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES	55
5.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA ACEITUNA	55
5.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES	56
5.3. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LOS TRATAMIENTOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA OPTIMIZACION DEL CONTENIDO DEC COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES	59

5.3.1.	EFEECTO DE LAS VARIABLES, ÍNDICE DE MADUREZ, TEMPERATURA Y TIEMPO DE BATIDO EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS.....	60
5.3.2.	EFEECTO DE LAS VARIABLES, ÍNDICE DE MADUREZ, TEMPERATURA Y TIEMPO DE BATIDO EN EL RENDIMIENTO.....	65
5.3.3.	EFEECTO DE LAS VARIABLES, ÍNDICE DE MADUREZ, TEMPERATURA Y TIEMPO DE BATIDO EN LA ACIDEZ	70
5.4.	EFEECTO DE LAS VARIABLES ÍNDICE DE MADUREZ, TEMPERATURA Y TIEMPO DE BATIDO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES	74
5.4.1.	Efecto sobre el Atributo Sabor.....	75
5.4.2.	Efecto sobre el Atributo Aroma.....	79
5.5.	OPTIMIZACION MEDIANTE LA METODOLOGIA DE LA FUNCION DESEADA	83
5.5.1.	Determinación del Tratamiento Óptimo.....	84
5.6.	PRODUCTO TERMINADO	87
5.6.1.	Análisis Físicoquímico	87
5.6.2.	Balace de Materia	89
5.6.3.	Flujo Definitivo	90
VI.	CONCLUSIONES	91
VII.	RECOMENDACIONES	93
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
IX.	ANEXOS	99

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 01: La Estructura de la Aceituna y Contenido de Aceite.....	07
Figura N° 02: Proceso de Maduración de la Aceituna.....	09
Figura N° 03: Estructura del Fenol ($C_6H_5 OH$)	18
Figura N° 04: Factores Condicionantes de las Característica Cualitativas de un Aceite de Oliva	29
Figura N° 05: Índice Madurez: 2	44
Figura N° 06: Índice Madurez: 4	44
Figura N° 07: Índice Madurez: 6	44
Figura N° 08: Batido de la Pasta Controlando las Variables Temperatura y Tiempo de Batido	46
Figura N° 09: Flujo del Diseño de la Investigación	48
Figura N° 10: Función Distribución de la Prueba t–student para la Evaluación de los Coeficientes de los Modelos de Regresión.....	57
Figura N° 11: Distribución de Probabilidad para la Prueba F–Snedecor para la Evolución de los Modelos Completos de Regresión.....	58
Figura N° 12: Diagrama de Superficie de Respuesta para Fenoles Totales por Efecto de la Temperatura de Batido e Índice de Madurez, al Nivel fijo de Tiempo de Batido de 60 minutos.....	63
Figura N° 13: Diagrama de Superficie de Respuesta para los Fenoles Totales por Efecto de la Temperatura y Tiempo Batido, al Nivel Fijo de Índice de Madurez de 4.....	64

Figura N° 14: Curvas de Nivel del Efecto de Índice de Madurez y Temperatura de Batido en el Rendimiento, constante el Tiempo de Batido a 60 minutos.....	68
Figura N° 15: Curvas de Nivel mostrando el Efecto de Temperatura y Tiempo de Batido sobre el Rendimiento del Aceite; manteniendo constante el Índice de Madurez 4.....	69
Figura N° 16: Diagrama de Superficie de Respuesta del Efecto de Índice de Madurez y Temperatura de Batido sobre la Acidez del Aceite a Tiempo de Batido constante de 60 minutos.....	73
Figura N° 17: Curvas de Nivel mostrando el Efecto de Temperatura y Tiempo de Batido en el Sabor del Aceite y constante el Índice de Madurez a 4.....	78
Figura N° 18: Curvas de Nivel mostrando el Efecto de Índice de Madurez y Temperatura de batido en el Sabor a Tiempo de Batido constante de 60 minutos.....	79
Figura N° 19: Curvas de Nivel mostrando el Efecto de Índice de Madurez y Temperatura de Batido el Aroma del Aceite; constante el Tiempo de Batido 60 minutos.....	82
Figura N° 20: Curvas de Nivel mostrando el Efecto Temperatura y Tiempo de Batido sobre el Aroma del Aceite Obtenido; constante el Índice de Madurez de 4.....	83
Figura N° 21: Gráficos de Nivel mostrando el comportamiento las Variables Independientes Óptimas, sobre las Variables Respuestas.....	86
Figura N° 22: Curvas de Nivel mostrando el Índice de Madurez, Temperatura y Tiempo de Batido Óptimos Obtenidos.....	87
Figura N° 23: Flujo Definitivo en la Optimización de Compuestos Fenólicos en la Extracción de Aceite de Oliva Virgen.....	90

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 01:	Composición Química de la Aceituna.....	08
Cuadro N° 02:	Fracción Saponificable del Aceite de Oliva.....	12
Cuadro N° 03:	Clasificación de los Compuestos Fenólicos.....	19
Cuadro N° 04:	Los Compuestos de carácter Fenólico presentes en el Aceite de Oliva Virgen.....	24
Cuadro N° 05:	Niveles de las Variables Independientes de Estudio.....	49
Cuadro N° 06:	Delineamiento Experimental Factorial de Box Benken para Tres Niveles codificados usados para obtener mayor Contenido de Polifenoles y Rendimiento en la Extracción de Aceite de Oliva.....	50
Cuadro N° 07:	Composición Química de la Aceituna.....	55
Cuadro N° 08:	Resultados Experimentales Obtenidos en el Proceso de Extracción de Aceite de Oliva.....	59
Cuadro N° 09:	Modelo de Regresión Completo de las Variables Independientes en el contenido de Compuestos Fenólicos.....	61
Cuadro N° 10:	Análisis de Varianza para el Modelo Completo correspondiente a los Resultados Experimentales del contenido de Compuestos Fenólicos.....	62
Cuadro N° 11:	Modelo de Regresión Completo de las Variables Independientes en el Rendimiento del Aceite Obtenido.....	66
Cuadro N° 12:	Análisis de Varianza para el Modelo Completo correspondiente a los Resultados Experimentales del Rendimiento de Obtención de Aceite.....	67
Cuadro N° 13:	Modelo de Regresión Completo de las Variables Independientes en la Acidez del Aceite Obtenido.....	71

Cuadro N° 14:	Análisis de Varianza para el Modelo Completo correspondiente a los Resultados Experimentales de la Acidez del Aceite Obtenido.....	72
Cuadro N° 15:	Efecto de las Variables Independientes sobre las Características Sensoriales.....	74
Cuadro N° 16:	Modelo de Regresión Completo y Niveles de Significación de las Variables Independientes durante el Análisis Sensorial en el Sabor del Aceite.....	76
Cuadro N° 17:	Análisis de Varianza para el Modelo Completo correspondiente a los Resultados Experimentales del Análisis Sensorial en el Sabor de Aceite.....	77
Cuadro N° 18:	Modelo de Regresión Completo y Niveles de significación de las Variables Independientes en el Análisis Sensorial en el Aroma del Aceite.....	80
Cuadro N° 19:	Análisis de Varianza para el Modelo completo de los Resultados Experimentales del Análisis Sensorial en el Aroma de Aceite.....	81
Cuadro N° 20:	Cuadro de Resultados Óptimos de las variables Independientes y Respuestas.....	84
Cuadro N° 21:	Resultados de Análisis Físicoquímicos y Polifenoles del Tratamiento de las Variables Optimizada en comparación con otros Aceites.....	88
Cuadro N° 22:	Balance de Masa.....	89

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 01:	Tabla para Determinar el Índice de Madurez en la Aceituna.....	95
Anexo N° 02:	Cuadro de Calidades del Aceite de Oliva	96
Anexo N° 03:	Los Compuestos Fenólicos en los Diversos Alimento	97
Anexo N° 04:	Estructura de los Principales Ácidos Fenólicos.....	98
Anexo N° 05:	Análisis Fisicoquímicos del Aceite de Oliva Balance de Masa y Rendimiento del Aceite de Oliva... ..	99
Anexo N° 06:	Extracción de Compuestos Fenólicos Totales	100
Anexo N° 07:	Determinación Cuantitativa de los Fenoles Totales	101
Anexo N° 08:	Ficha de Análisis Sensorial.....	103
Anexo N° 09:	Calidad Reglamentaria R. C.E N° 2568/91. Última Modificación Reglamento CE N° 656/95	104
Anexo N° 10:	Balance de Masa y Rendimiento del Aceite de Oliva	105

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad realizar el estudio de optimización del contenido de compuestos fenólicos totales durante la etapa de batido del proceso de extracción del aceite de oliva virgen. Se utilizó para esto, la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR), el modelo de diseño de Box-Benhken y la Metodología de la Función Deseada. La metodología de superficie de respuesta es empleada para determinar el mayor valor de contenido de los compuestos fenólicos totales presentes en el aceite. El diseño de Box-Benhken para el estudio de las variables independientes como son: Índice de madurez, tiempo de batido y temperatura de batido. Los resultados fueron evaluados mediante el software Statistica versión 5,0.

La metodología de la Función Deseada, es usada para obtener los niveles óptimos de trabajo de las variables independientes y los resultados de las variables respuesta, para así lograr la optimización de los compuestos fenólicos totales. Se utiliza para esto, el software Estadístico Desing Expert 7,02.

Los compuestos fenólicos están presentes en diversos alimentos (frutas y vegetales), se puede encontrarlos también en el aceite de oliva en donde contribuye a su estabilidad y sabor. Además, estos compuestos poseen propiedades antioxidantes que son de gran interés y beneficio para la salud humana.

La materia prima que se utilizó para el presente trabajo de investigación, fue la variedad sevillana de Tacna. El estudio del comportamiento de las variables, con sus niveles respectivos fueron: Índice de madurez (2; 4 y 6); tiempo de batido (40; 60 y 80) min y temperatura de batido (25; 30 y 35)°C. Mediante la metodología de la Función Deseada con probabilidad (0,813), del programa Estadístico Desing Expert 7,02 se obtuvo los valores óptimos del tratamiento: 3,1 de índice de madurez, 25°C de temperatura de batido y 80 minutos de batido. Los resultados estadísticos de las variables respuestas optimizadas (Yi) fueron: Compuestos fenólicos totales 100,00 ppm de ácido cafeico, acidez de 0,51 %, expresado en porcentaje de ácido oleico y un rendimiento de 14,27 % .

El tratamiento de las variables óptimas, luego de una prueba experimental arrojaron las siguientes respuestas: Compuestos fenólicos totales 118,2 ppm ácido cafeico, una acidez de 0,2 % (porcentaje de ácido oleico) y un rendimiento de 14,40 % (porcentaje sobre 100). Los valores obtenidos están cercanos a los valores brindados por la metodología de la Función Deseada.

El comportamiento de los diferentes parámetros de cada tratamiento proporcionó características sensoriales promedio de 6,5 para el sabor y 6,0 para el aroma, que están dentro del rango de aceptación, según la escala hedónica.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la conciencia de los consumidores y su relación con la salud, crece considerablemente. La industria alimentaria tiene hoy en día un gran reto, además de nutrir, debe ofrecer nuevos productos seguros y saludables para el bienestar de la humanidad.

Los compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos secundarios que predominan en las plantas; estos compuestos se encuentran en frutas, vegetales y bebidas (Rechner *et al.* 2001).

Los compuestos fenólicos presentan gran interés nutricional por sus propiedades antioxidantes naturales, significando una reducción en la utilización de aditivos, obteniéndose alimentos más saludables y de efectos beneficiosos para la salud humana.

El aceite de oliva virgen contiene estos compuestos fenólicos y presenta elevado contenido en polifenoles que le confieren determinadas características organolépticas, antioxidantes y estabilidad. (Gutiérrez, 1977 y Beltrán, 2000).

En la extracción de aceite de oliva virgen, durante el batido, el aumento de temperatura y tiempo de batido produce una reducción o desnaturalización de los compuestos fenólicos y pérdidas de aromas, perjudicando seriamente la calidad del aceite (Civantos y Contreras, 1992).

La ingesta de aceite de oliva es una fuente para prevenir algunas enfermedades, sobre todo protegiendo la oxidación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad), reduciendo el riesgo de enfermedades coronarias (www.ujaen.es/huesped/aceite/informacion.htm).

Por lo cual es necesario estudiar el proceso de extracción de aceite de oliva para disminuir las pérdidas de estos compuestos fenólicos, que son tan importantes para la salud. Por eso, en el presente trabajo de investigación se consideraron los siguientes objetivos específicos:

- Determinar los parámetros más adecuados de las variables independientes como el índice de madurez, tiempo y temperatura del proceso de batido, para la optimización de compuestos fenólicos totales en la extracción de aceite de oliva virgen.
- Optimizar y cuantificar los compuestos fenólicos totales presentes en el aceite de oliva, en función de las variables independientes. Después del proceso de extracción.
- Determinar el rendimiento del tratamiento de mejores condiciones adecuadas para la optimización de compuestos fenólicos totales.
- Determinar los principales análisis químicos del aceite de oliva, del tratamiento de mejores condiciones para la optimización de compuestos fenólicos totales.
- Evaluar los atributos sensoriales del aceite de oliva, como: el sabor, color, en función de las variables en estudio, a 1 mes de su obtención.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. EL OLIVO

2.1.1. Origen y Producción

La historia del aceite de oliva se desarrolla en forma paralela a la del cultivo del olivo. Existen dos hipótesis sobre el origen del olivo, una que postula que proviene de las costas de Siria, Líbano e Israel, y otra que lo considera originario de Asia Menor.

Los primeros indicios de la presencia del olivo en las costas mediterráneas españolas coinciden con el dominio romano; fueron posteriormente los árabes los que impulsaron su cultivo en Andalucía, convirtiendo a España en el primer país productor de aceite de oliva a nivel mundial (Hermoso, 1997).

La introducción en Perú y México tuvo lugar alrededor del año 1560. Actualmente, el cultivo del olivar se extiende por todos los países cuyo clima lo permite.

El departamento de Tacna se considera el mayor productor a nivel nacional de aceituna, materia prima fundamental para la obtención de aceite de oliva (www.infoagro.com/olivo/aceite_de_oliva.asp.2005).

2.1.2. El Olivo

El olivo, cuyo nombre botánico es *Olea europea sativa*, pertenece a la familia de las Oleáceas (*Oleaceae*); comprende 20 a 29 géneros principales. El género *Olea* que incluye más de 30 especies y la familia de

la variedad *Olea europea*, es única con el fruto comestible. Es un árbol polimorfo, de altura mediana, máximo de 10 m, de clima subtropical seco, con alternancia para la producción de frutos, por lo que si un periodo da mucho, al siguiente periodo la producción será menor (CivantosG, 1992).

2.2. LA ACEITUNA

2.2.1. El Fruto

El fruto del olivo es la aceituna, que es una drupa (fruta) de tamaño variable que depende de las variedades suelos, climas y otros factores climatológicos.

El fruto tiene sustancia amarga conocida como "*oleuropeina*", que es peculiar de la aceituna, lo que la distingue de los demás frutos del reino vegetal. Debido a estas peculiaridades la aceituna es la única drupa que no es dulce, sino claramente amarga, incluso en fase de plena maduración (Contreras, 1992).

2.2.2. Estructura de la Aceituna

La aceituna está compuesta por tres tejidos principales:

- **El Epicarpio o Piel.** Representa el 2 y 2,5 % del peso del fruto, le sirve de envoltura. Su función es la protección contra las agresiones mecánicas, biológicas o del tiempo.
- **El Mesocarpio o Pulpa.**- Representa entre el 70 y el 80 % del peso del fruto, es la parte carnososa donde están ubicadas las celditas que contiene el aceite.
- **El Endocarpio o Hueso.**- Representa entre el 15 y el 23 % de la aceituna, que es la semilla en sí misma.

A continuación se muestra la estructura de la aceituna, figura N° 01.

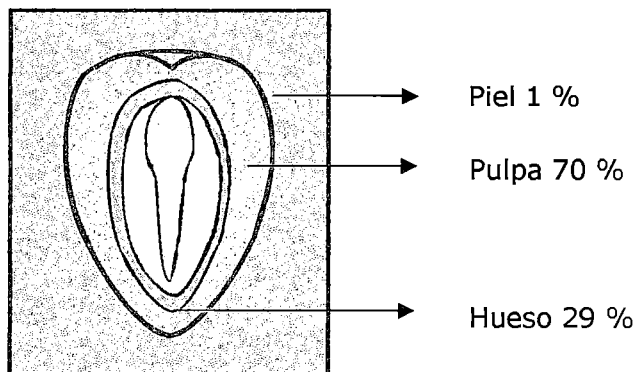


Figura N° 01: La estructura de la aceituna y el contenido en aceite.

2.2.3. Composición Química de la Aceituna

La composición del fruto en el momento de la recolección es muy variable, dependiendo de la variedad de la aceitunas, del suelo, del clima y del cultivo. Todas las variedades producen buenos aceites vírgenes, cada uno con sus características particulares.

Desde el punto de vista de la elaboración de aceite, la composición del fruto en el momento de la recolección es tal como se muestra en el Cuadro N° 01 (Barranco y Fernández, 2000).

CUADRO N° 01: Composición química de la aceituna

Componentes	Porcentaje (%)
Agua de vegetación	40 – 55
Aceite	18 – 32
Hueso	14 – 22
Almendra o semilla	1 – 3
Epicarpio y resto de pulpa	8 - 10

Fuente: Civantos, (1992)

2.2.4. El Índice de Madurez

A medida que el fruto va madurando no sólo cambia de color sino que su firmeza, dureza o turgencia va cambiando debido a la acción de las enzimas. Tales enzimas van transformando las características del fruto enriqueciéndose en algunos compuestos y degradando los componentes que le confieren rigidez. Es por ello muy importante el tiempo de la cosecha para evitar que tales enzimas continúen con su trabajo de degradación que influye en la calidad del aceite de oliva.

El índice de madurez se utiliza para determinar el momento óptimo de recogida de la aceituna. Para su cálculo se toman 2 kg de aceitunas situadas a la altura del operador y en las cuatro orientaciones del

árbol (Westfalia Separator, 2005). En el Anexo N°01 se muestra la tabla para determinar el índice de madurez.

Se llama **Índice de Madurez**; al total del número de frutos de cada categoría por el valor numérico de su categoría dividido por 100, es decir, siendo A, B, C, D, E, F, G, H el número de frutos de cada categoría 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6 y 7 respectivamente, el índice de madurez es:

$$I M = (A.0 + B.1 + C.2 + \dots + H.7)/100.$$

En la Figura N° 02 se muestra el proceso de maduración de la aceituna.



Figura N° 02: Proceso de maduración de la aceituna.

Para las variedades que desarrollan normalmente el color (Picual, Hojiblanca, Lechín, Cornicabra, etc), el momento óptimo de recolección es cuando el índice de madurez alcanza valores próximos a 3,5 (www.aceitevirgenextra.com/).

2.3. EL ACEITE DE OLIVA

2.3.1. Denominación y Definición del Aceite de Oliva

El término **ACEITE** etimológicamente proviene del árabe AZ-ZAIT que significa "jugo de ACEITUNA"; al igual que **ÓLEO** proviene del latín **OLEUM** que significa "jugo de oliva". Por tanto, los términos aceite y óleo significan lo mismo y son empleados erróneamente para designar a las grasas líquidas o fluidas no procedentes de la aceituna u oliva.

Se define el aceite de oliva como el aceite obtenido del fruto del olivo únicamente por procedimientos mecánicos o por otros medios físicos, en condiciones especialmente térmicas, que no produzcan la alteración del aceite, que no haya tenido más tratamiento que el lavado, la decantación, la centrifugación y el filtrado (Consejo Oleícola Internacional, C.O.I. modificado 1995).

El término aceite de oliva se refiere exclusivamente al aceite extraído a partir del fruto del olivo, excluyendo los aceites obtenidos por disolventes y/o reesterificación.

La denominación de aceite virgen se reserva al aceite producido mediante un procedimiento mecánico y a temperaturas que no deterioran sus características intrínsecas (Hermoso, 1997).

Son aceites de oliva vírgenes los "aceites obtenidos a partir del fruto del olivo únicamente por procedimientos físicos, en condiciones, sobre todo térmicas, que no ocasionen la alteración del aceite, y que no hayan sufrido tratamiento alguno distinto del lavado, la decantación, el centrifugado y la filtración, con exclusión de los aceites obtenidos mediante disolventes o por procedimientos de reesterificación y de cualquier mezcla con aceites de otra naturaleza", según el Reglamento (CEE) Nº 356/92 del Consejo (Diario Oficial del día 15 de febrero de 1992), que modifica el Reglamento Nº 136/66/CEE.

2.3.2. Composición del Aceite de Oliva

El aceite de oliva virgen, se compone de dos grandes grupos de compuestos químicos:

2.3.2.1. Fracción Saponificable

Representa el 98 % del peso del aceite de oliva, está constituida por triglicéridos (ésteres de ácidos grasos y glicerina).

- **Triglicéridos:** Ésteres de la glicerina y ácidos grasos, dependiendo del número de grupos alcohol de la glicerina que se una con ácidos grasos, se tendrá un triglicérido. Los triglicéridos constituyen el grupo mayoritario en el aceite, los mono y di glicéridos puede ser resultado de

la hidrólisis de los triglicéridos debido a la alteración de los aceites (Frías y García, 1991).

- **Los ácidos grasos:** son sustancias constituidas por una larga cadena hidrocarbonada que posee en el extremo un grupo hidroxilo ($-COOH$). Los ácidos grasos se diferencian por su número de átomo de carbono (oscila entre 16 y 20) en el aceite de oliva y por la cantidad de dobles enlaces que posea (se encuentra entre 0 y 3). Según, Frías, 1991. Los ácidos grasos más frecuentes en el aceite de oliva virgen son los que se muestran en el Cuadro N° 02.

CUADRO N° 02: Fracción saponificable del aceite de oliva.

Ácidos Grasos	Grado de saturación N° C., dobles enlaces	% peso/ total ác. graso
Ácidos Grasos Saturados		
Ácido Mirístico	C14 : 0	0 - 0,05%
Ácido Palmítico	C16 : 0	7 - 18 %
Ácido Esteárico	C18 : 0	0,5 - 5 %
Ácido Aráquico	C20 : 0	0 - 0,5 %
Ácidos Grasos Monoinsaturados		
Ácido Palmitoleico	C16 : 1	0,3 - 3 %
Ácido Oleico	C18 : 1	61 - 83 %
Ácidos Grasos Poliinsaturados		
Ácido Linoleico	C18 : 2	2 - 18 %
Ácido Linolénico	C18 : 3	0 - 1,5 %

Fuente: Civantos, (1992).

Los dobles enlaces son puntos vulnerables de los aceites, por ser susceptibles a las oxidaciones ante el oxígeno del aire. Las oxidaciones dan lugar a compuestos tales como alcoholes, aldehídos y cetonas, etc. Producen mal olor y sabor que son causa del enranciamiento.

2.3.2.2. Fracción Insaponificable

Representa del peso de aceite un porcentaje menor o igual al 1,5 %. Son un conjunto de aceites que no reaccionan con la sosa o potasa para dar jabones y son solubles en disolventes como el hexano, éter, etc. (García, 1991).

Tiene una gran cantidad de componentes menores que son muy importantes para la calidad y el valor biológico del aceite de oliva virgen.

Boskou, 1998, los divide en dos grupos. El primer grupo lo constituyen los derivados de los ácidos grasos, tales como: Esteroles, ceras. El segundo grupo incluye compuestos no relacionados químicamente con los ácidos grasos, tales como: tocoferoles, clorofilas, productos volátiles y los compuestos fenólicos.

- **Esteroles:** Son alcoholes superiores, son moléculas liposolubles, entre las que predomina el beta- sitosterol, que interfiere en la absorción intestinal del colesterol.
- **Ceras:** Son ésteres de ácidos grasos con alcoholes grasos (alifáticos). Las ceras están localizadas principalmente en el epicarpio de la aceituna y durante el proceso de extracción pasan al aceite.
- **Hidrocarburos:** Tenemos a los terpenos y carotenos como se describe a continuación:

Terpenos: Se tiene principalmente el escualeno, es un precursor de la ruta biosintética de los esteroles.

Caroteno: Contiene entre 0,5 – 10 mg/kg, es precursor de la vitamina A. El beta caroteno, junto a la clorofila da pigmentación verde amarilla al aceite, son compuestos sensibles, oxidables.

- **Pigmentos no terpénicos:** Clorofila, causante de la coloración verde en la oscuridad, actúa como antioxidante.
- **Tocoferoles:** Predomina al *alfa – tocoferol*, representa el 90 – 95 % de los tocoferoles totales que es la vitamina E, tiene características antioxidantes.
- **Productos volátiles:** Son los responsables de los aromas de los aceites y los forman alcoholes, ésteres, derivados fenólicos son alrededor de 100 compuestos diferentes.

- **Polifenoles:** Son antioxidantes que influyen en las cualidades organolépticas de los aceites. Dependen de la variedad, grado de madurez de la aceituna y la técnica de elaboración del aceite (Contreras, 1992).

2.3.3. CLASIFICACIÓN DEL ACEITE DE OLIVA

Según el Consejo Oleico Internacional (C.O.I), se divide en:

A. Aceites de Olivas Vírgenes: Aceites obtenidos del fruto del olivo únicamente por procedimientos mecánicos o por otros procedimientos físicos en condiciones especialmente térmicas, que no produzcan la alteración del aceite, que no hayan tenido más tratamiento que el lavado, la decantación, la centrifugación y el filtrado.

Se clasifican y denominan de la siguiente forma:

a) **Aceites de oliva vírgenes aptos para el consumo en la forma en que se obtienen:**

▪ **Aceite de oliva virgen extra:** Aceite de oliva virgen cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 0,8 g por 100 g, y cuyas demás características corresponden a las previstas para esta categoría.

▪ **Aceite de oliva virgen:** Aceite de oliva virgen cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 2,0 g por 100 g y cuyas demás características corresponden a las previstas para esta categoría.

▪ **Aceite de oliva virgen corriente:** Aceite de oliva virgen cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 3,3 g por 100 g y cuyas demás características corresponden a las previstas para esta categoría.

b) **Aceite de oliva virgen no apto para el consumo en la forma en que se obtiene:**

Aceite de oliva virgen lampante: Aceite de oliva virgen cuya acidez libre expresada en ácido oleico es superior a 3,3 g por 100 g y cuyas características organolépticas y demás características corresponden a las previstas para esta categoría. Se destina al refinado con vistas al consumo humano o a usos técnicos.

B. **Aceite de Oliva Refinado:** Aceite de oliva obtenido por refinado de aceites de oliva vírgenes. Su acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 0,3 g por 100 g y sus demás características corresponden a las previstas para esta categoría.

C. **Aceite de Oliva:** Aceite constituido por una mezcla de aceite de oliva refinado y de aceites de oliva vírgenes aptos para el consumo en la forma en que se obtienen. Su acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 1,0 g por 100 g y sus demás características corresponden a las previstas. Su alteración es consecuencia del estado de madurez de los frutos y de su estado sanitario. Ver en el Anexo N° 02 el cuadro de cualidades del aceite de oliva.

2.4. LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

2.4.1. Compuestos Fenólicos en los Alimentos

Los compuestos fenólicos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, consideradas metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividades, englobando más de 8000 distintos tipos de compuestos carácter fenólico y otras sustancias (Espinola, 2004).

Sus principales funciones en las células vegetales son las de actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, y como agentes protectores frente a la acción de los patógenos, como mecanismos de defensa.

En la actualidad este grupo de compuestos fotoquímicos presenta un gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. Así, muchas de sus propiedades beneficiosas, principalmente la actividad antioxidante, tiene interés desde un punto de vista tecnológico y nutricional. Así, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos (Mate, 1996).

2.4.2. La Estructura Química

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidróxidos, incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.) (Svobodova; Carrutu y Sanzini, 2005). Los grupos más importantes son ácidos fenólicos, flavonoides y polifenoles.

El fenol es un sólido cristalino de color blanco a temperatura ambiente. Su fórmula química es C_6H_5OH , y tiene un punto de fusión de $43^\circ C$ y un punto de ebullición de $182^\circ C$. El fenol es un alcohol que puede producirse mediante la oxidación parcial del benceno.

En la Figura N° 03 se muestra la estructura del fenol.

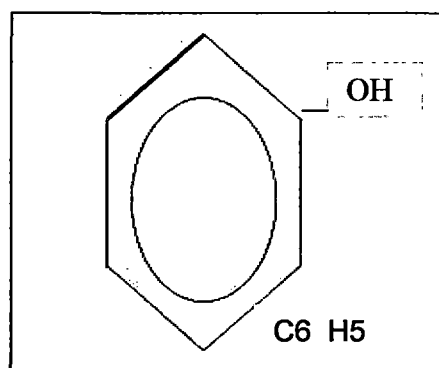


Figura N° 03: Estructura del fenol ($C_6H_5 OH$)

Fuente: [Http://es.wikipedia.org/wiki/Fenol](http://es.wikipedia.org/wiki/Fenol).

La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los **ácidos fenólicos** hasta compuestos altamente polimerizados, como los **taninos**. La forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos.

Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos, se encuentran unidos con glucosa, galactosa, xilosa y ácidos glucurónico y galacturónico. También están unidos a ácidos carboxílicos, orgánicos, aminas, lípidos; ver el Cuadro N° 03 (Mate, 1996).

CUADRO N° 03: Clasificación de los compuestos fenólicos.

Clasificación	Compuestos
Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenilacéticos	Fenoles simples: Fenol, cresol, timol y resorcinol
	Ácidos Fenólicos: Gálico, vainillínico, phidroxibenzoico, vainillina
Taninos	Taninos condensados ó proantocianidinas (<i>antinutrientes</i>)
	Taninos hidrolizables ó llamados gálicos o pirogálicos
Ácidos cinámicos, cumaricos, isocumarinas	Cinámicos: Ác.cafeico , ác. ferúlicos , p-cumárico y sináptico.
	Las Cumarinas son isocumarinas: se encuentra de forma de glicósido.
Lignanós y neolignanós	Los flavononas, ácido clorogénico, ácidos hidroxicinámicos.

Fuente: www.ujaen.es/huesped/aceite.htm.

2.4.3. Efectos de los Compuestos Fenólicos en los Alimentos

2.4.3.1. En la Calidad Organoléptica:

- Contribuyen al color de los alimentos. Los flavonoides son los responsables del color natural de los alimentos, como son el amarillo, también las antocianinas dan los colores rosa, rojo, azul y violeta de los vegetales, zumos de frutas y vinos (www.ujaen.es/huesped/aceite.htm).
- Contribuyen al sabor amargo, que es causado por las flavononas, como en los cítricos, cerveza, vino y la sidra.
- *El sabor astringente* en los alimentos, el cual es producido por los taninos. La intensidad depende del peso molecular, que sólo los taninos con un peso molecular alto entre 500 y 3000 pueden desarrollar sensaciones de astringencia.
- *El pardeamiento* de las frutas también está relacionado con los compuestos fenólicos; está controlado por los niveles de polifenoles (sustratos naturales), la presencia de oxígeno y la actividad del polifenol oxidasa (enzima); esta enzima produce el pardeamiento (Martínez y Periago, 2000).

2.4.3.2. Efecto en los Macronutrientes y Minerales

Algunos polifenoles son considerados antinutrientes, ya que pueden formar complejos con las proteínas, almidón y enzimas

digestivas, causando una *reducción* en el *valor nutritivo* de los alimentos. Este efecto se ha asociado generalmente a los taninos.

- Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular alto. Se pueden clasificar en:

Taninos hidrolizables, llamados también gálicos o pirogálicos, hidrolizan con facilidad tanto con ácidos y álcalis como por vía enzimático.

Taninos condensados o protocianidinas; se conocen también como *no hidrolizables*, ya que se hidrolizan con dificultad y, por el contrario, el tratamiento con calor y ácidos minerales originan polímeros de alto peso molecular. Se producen en el metabolismo normal de los vegetales, por lo que se consideran fisiológicos. Considerado *como principal antinutrientes entre todos los compuestos fenólico*. (Martínez, 2000).

- Además del *efecto antinutritivo*, se debe a la formación de complejos entre los taninos y las proteínas supone un gran problema tecnológico, ya que estos complejos solubles pueden dar lugar a complejos coloidales, que pueden originar sedimentación, enturbiamiento. Este hecho se ha observado en bebidas como: Cervezas, *vinos, zumo de frutas, café y te*.

- Los polifenoles están reconocidos como **antinutrientes** de distintos minerales, ya que tienen la capacidad de quelar cationes divalentes, principalmente **Fe y Zn**, a través de su unión a los grupos hidroxilos y carboxilos, reduciendo la biodisponibilidad de los mismos en el intestino (www.ujaen.es/huesped/aceite.htm).

2.4.3.3. Actividad Antioxidante

- La capacidad antioxidante descrita para distintos polifenoles se puede considerar como la actividad biológica responsable del efecto preventivo que se les atribuye sobre determinadas enfermedades frecuentes en los países desarrollados, como son la enfermedad cardiovascular y el cáncer epitelial.
- Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir dos condiciones básicas:

Primero: cuando se encuentre en una concentración baja con relación al sustrato que va a ser oxidado pueda retrasar, enlentecer o prevenir la autooxidación.

Segundo: El radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores (Martínez y Periago, 2000). En el Anexo N° 03 se muestran los principales compuestos fenólicos presentes en los alimentos.

2.5. LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN EL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

La pulpa de la aceituna contiene compuestos fenólicos, principalmente hidrosolubles. No obstante, en el aceite también se hallan pequeñas cantidades de dichos compuestos fenólicos (Mate, 1996).

Los compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva reciben el nombre de polifenoles. Se trata de un término convencional, ya que no todos son polihidroxiderivados. Este conjunto de compuestos está formado por una mezcla compleja cuya estructura aún no ha sido determinada en su totalidad. Se trata de compuestos de carácter polar que pasan al aceite en pequeñas cantidades en el proceso de extracción, como consecuencia del equilibrio químico entre dos fases inmiscibles, agua y aceite.

El contenido total de polifenoles en el aceite de oliva oscila entre 50 y 500 ppm de ácido cafeico, dependiendo de la variedad, grado de maduración, técnica de elaboración y manejo de la aceituna (Gutiérrez, 1977). Sin embargo, se han descrito con contenidos superiores a las 1000 ppm (Hermoso, 1997).

En la composición de la fracción fenólica se han identificado gran cantidad de compuestos (Cuadro N° 04), aún quedan algunos sin identificar. Son de destacar los trabajos de Vásquez – Roncero (1976), que

identifican ácidos fenólicos (*cafeico, vainílico, p-cumárico, p-hidroxibenzoico y protocatéquico*), dos alcoholes (*hidroxitirosol y tirosol*) y dos flavonoides (*apigenina y luteolina*). En el Anexo N° 04 se puede ver la estructura de algunos de los principales ácidos fenólicos de los alimentos.

En el Cuadro N° 04, se presentan los compuestos de carácter fenólico presentes en el aceite de oliva virgen.

CUADRO N° 04: Los Compuestos de carácter fenólico presentes en el aceite de oliva virgen.

Compuestos fenólicos en el aceite de oliva	
<p>Alcoholes:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tirosol - Hidroxitirosol <p>Ácido Hidroxibenzoicos e hidrocifenilacéticos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ácido 4-hidroxibenzoico - Ácido gálico - Ácido siríngico - Ácido protocatéquico - Ácido vainílico - Ácido 4-hidroxifenilacético - Ácido homovanílico <p>Flavonoides:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Luteolina - Apigenina - Metoxiluteolina 	<p>Ácidos hidroxicinámicos :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ácido <i>o</i>-cumárico - Ácido <i>p</i>-cumárico. - Ácido cafeico - Ácido ferrúlico - Ácido sinápico <p>Secoirridoides:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Oleuropeína - Forma dialdehídica del ácido elenólico unido al hidroxitirosol. - Isómero de la aglucona de la oleuropeína - Forma dialdehídica del ácido elenólico unido al tirosol.

Fuente: Boskou (1998).

2.5.1. Efectos de los Polifenoles en el Aceite de Oliva

El contenido de polifenoles le confiere al aceite características a nivel químico, organoléptico y en la salud.

- **A nivel químico:** su efecto como antioxidante ha sido establecido por el elevado grado de correlación entre contenido de polifenoles totales y la estabilidad de los aceites (Gutiérrez, 1977; Beltrán, 2000).
- **En las características sensoriales:** el amargor se considera un atributo sensorial positivo, que está presente en el aceite de oliva virgen (C.O.I., 1987). El amargor de los aceites puede ser cuantificado químicamente mediante la medida del K_{225} (Gutiérrez y Rosales, 1977), parámetro correlacionado con la evaluación sensorial del amargor mediante cromatografía líquida de los extractos hidroalcohólicos.
- **En la salud:**
 - Así, se ha evidenciado el efecto protector de la oleuropeína y del hidroxitirosol sobre la oxidación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad).
 - En actividades biológicas inhibe la lipoxigenasa.
 - Actúa protegiendo a las LDL (lipoproteínas de baja densidad) frente a la oxidación y, por tanto, reduciendo el riesgo de enfermedades coronarias y carcinogénesis (www.ujaen.es/huesped/aceite.htm).

00371

2.6. EL PROCESO DE BATIDO

Esta operación tiene por finalidad romper la emulsión aceite/agua y facilitar la reunión de las gotas de aceite. Una leve calefacción de la masa disminuye la viscosidad de ésta y permite que las gotitas de aceite viajen a través de ella hasta encontrar otras gotitas para ir formando gotas más grandes que van coalesciendo (Westfalia S, 2005).

Es interesante señalar que, después de la molturación o molienda de la aceitunas, sólo el 40 - 45 % de las gotas dispersas en la pasta tienen un diámetro superior a 30 micras, porcentaje que asciende al 80 – 85 % tras un buen batido. Por lo tanto, esta operación es pues, fundamental para aumentar el rendimiento de extracción de aceite (Civantos y Contreras, 1992).

2.6.1. Factores Fundamentales que Influyen en el Proceso de Batido

- **Tiempo de Batido**

Cuando mayor es el tiempo de batido, mayor es la extracción del aceite pero desmejora la calidad del mismo por su exposición al aire.

La influencia del tiempo de batido está relacionada con la calidad del aceite (polifenoles y estabilidad del aceite). Es decir, un batido

demasiado largo puede hacer disminuir el contenido de polifenoles y pérdida de aromas (Civantos y Contreras, 1992).

Los tiempos de batido dependen del sistema de extracción, deben ser inferiores a dos horas. Según *Hermoso, 1997*, en torno a una hora.

- **Influencia de la Temperatura de Batido**

Se sabe que a mayor temperatura el rendimiento de extracción de aceite es mayor, pero hay un efecto directo sobre la calidad del mismo.

Un aumento de temperatura de la masa supone una reducción o desnaturalización de los compuestos fenólicos, perjudicando seriamente la calidad del aceite. Por lo tanto, la temperatura de la masa durante el batido no debe superar los 30°C; una temperatura adecuada oscila entre 25 - 30°C (Civantos y Contreras, 1992).

- **Velocidad de Batido**

Una velocidad excesiva de batido puede llevar a la formación de emulsiones. La velocidad para una pasta normal oscila entre 18 – 20 r.p.m. que debe reducirse para las pastas difíciles que forman emulsiones. Es importante para una adecuada eficiencia de batido llenar la batidora y no operar menos del 80 % de su capacidad. (Westfalia, 2005 y Contreras, 1992).

2.7. PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE OLIVA

Son aceites de oliva vírgenes los "aceites obtenidos a partir del fruto del olivo únicamente por procedimientos físicos, en condiciones sobre todo térmicas, que no ocasionen la alteración del aceite, y que no hayan sufrido tratamiento alguno distinto del lavado, la decantación, el centrifugado y la filtración, con exclusión de los aceites obtenidos mediante disolventes o por procedimientos de reesterificación y de cualquier mezcla con aceites de otra naturaleza, según Reglamento (CEE) N° 356/92 del Consejo (Diario Oficial del día 15 de febrero de 1992), que modifica el Reglamento N° 136/66/CEE.

• LA RECOLECCIÓN

La cosecha es una de las operaciones que mayor importancia presenta en el cultivo del olivar, porque influye en la cantidad y en la calidad del aceite obtenido y en el costo de la producción. Para la obtención de un aceite calidad, en la recolección es necesario tener en cuenta dos factores: la época y sistema de recolección (Westfalia, 2005).

- a) La época** adecuada de la cosecha debe ser cuando la aceituna tenga su madurez óptima (índice de madurez), considerando como tal el tiempo en que el fruto tenga la máxima cantidad de aceite con las mejores características, esto es, cuando hay pocos frutos verdes en el árbol los

más atrasados están en envero, es decir, cuando pasan del color verde al negro- morado.

b) **Sistema de recolección;** éste debe ser el que ocasione menos roturas en la piel, ya que estas roturas son focos de penetración de hongos que deterioran el aceite. En la Figura N° 04 se muestran los factores que mas influyen en las características del aceite.

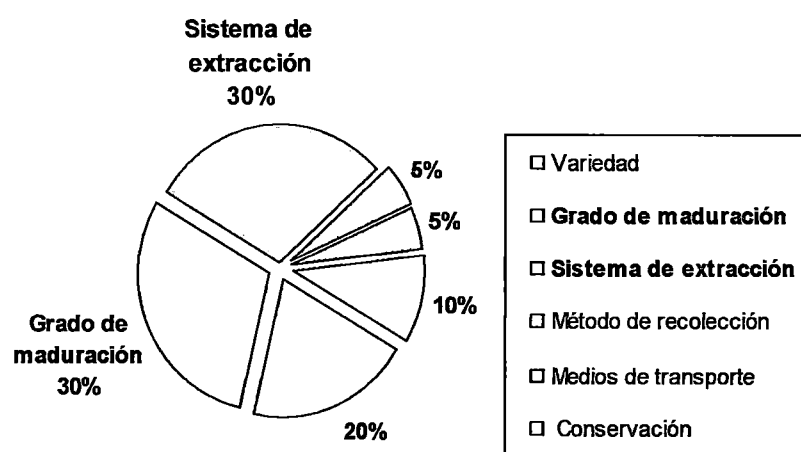


Figura N° 04: Factores condicionantes de las características cualitativas de un aceite de oliva

Fuente: (Westfalia, 2005).

Los aceites de aceitunas del árbol son de una calidad superior a los aceites procedentes de frutos caídos al suelo, que producen aceites lampantes, es decir, que con la acidez, correspondiente a dos momentos de cosecha, sufren un incremento paulatino y significativo conforme avanza la madurez (Westfalia, 2005).

- **TRANSPORTE**

En el transporte de la aceituna, ha de procurarse que el fruto llegue a la almazara lo menos alterado; los frutos deben de comprimirse lo menos posible, por lo cual es recomendable usar cajas de material de plástico.

- **LIMPIEZA Y LAVADO**

Una de las operaciones básicas para la obtención de aceites de calidad es la limpieza y lavado de frutos. La eliminación de elementos extraños impedirá obtener aceites con malos olores y/o sabores que no corresponden a su naturaleza (Westfalia, 2005).

- **MOLIENDA**

La molienda debe destruir la piel y el hueso, para permitir la liberación del aceite. La aceituna se debe moler el día de su recolección, ya que el almacenamiento deteriora la calidad del producto final. Esta destrucción debe ser controlada (Civantos y Contreras, 1992).

- **BATIDO**

La operación de batido de la pasta de aceitunas consiste en un removido lento y continuo de la misma que se efectúa en recipientes de acero inoxidable (batidoras) de forma cilíndrica o semiesférica, provistos de un sistema de calentamiento apropiado.

Factores Fundamentales que hay que cuidar en el Batido son:

- Un exceso de temperatura es perjudicial para la calidad del aceite, que produce pérdida de componentes volátiles. Se aconseja no sobrepasar los 25 a 28 °C, (Civantos, 1992).
- El exceso de tiempo de batido puede producir disminución en el contenido de polifenoles y pérdida de aromas. La duración del batido debe estar en torno a la hora (Hermoso y Uceda, 1991).
- Una velocidad excesiva de batido puede llevar a la formación de emulsiones.
- **EXTRACCIÓN**

La extracción de aceite de oliva virgen se hace hoy en día por dos métodos fundamentales: presión (sistema tradicional) y centrifugación (sistema continuo). Pero también se puede por una extracción parcial.

Extracción por presión: el instrumental que se utiliza son prensas hidráulicas. La pasta preparada se coloca en capas finas sobre discos de material filtrante denominados capachos. Es, por tanto, un sistema discontinuo. Las presiones más indicadas en cada caso están en función de la variedad, madurez, etc, de la aceituna.

Las presiones que se ejercen son hasta 400 kg/cm². Este sistema permite obtener aceites excelentes (dependiendo de la calidad del fruto),

gracias a las bajas temperaturas a lo largo del proceso (Hermoso y Uceda, 1991).

- **DECANTACIÓN**

Es la forma tradicional utilizada para separar el aceite del alpechín. Debido a la diferencia de densidades entre el aceite, que oscila (0,915-0,916), y el alpechín (1,015 – 1,086). Por lo cual el alpechín se va al fondo del separador y el aceite queda en la parte superior. Un prolongado contacto del aceite con el alpechín produce fermentaciones que deterioran la calidad del aceite como el aumento de la acidez y adquisición de olores y sabores desagradables (Civantos y Contreras, 1992).

- **CONSERVACIÓN**

Su conservación, y posterior comercialización, se realiza sin adición de conservantes ni coadyuvantes. Se trata de un producto absolutamente natural.

2.8. CUIDADOS PARA PROTEGER LA CALIDAD DE LOS ACEITES

Los factores que favorecen el proceso oxidativo son:

- El contacto con el aire, la agitación, trasiegos, vertido en depósitos y superficie de contacto son aspectos a cuidar. Al principio el proceso es lento gracias a los antioxidantes naturales, pero una vez alcanzado un nivel de peróxidos, se acelera y aparece el sabor a rancio.
- El efecto del calor favorece la formación de peróxidos y su destrucción, originando productos cetónicos. Debe almacenarse a temperaturas no superiores de 15 – 18°C (Westfalia, 2005).
- El efecto de la luz al igual que el calor, favorece las reacciones del aceite con el oxígeno. Se debe utilizar recipientes opacos.
- El efecto de las trazas metálicas en cantidades muy pequeñas, origina una aceleración de la autooxidación, disminuyendo su estabilidad, se debe usar acero inoxidable para su almacenamiento.

2.9. NORMAS DE CALIDAD

La calidad de todo producto alimentario es una medida del grado de adecuación del mismo al uso esperado, es decir, que la calidad de un alimento puede ser diferente según su uso final. Entonces el alto precio pagado de por un aceite de oliva virgen debe adecuarse a una calidad mínima (Barranco y Fernández, 2000).

2.9.1. Atributos de Calidad del Aceite de Oliva Virgen

Los atributos de calidad del aceite de oliva virgen se agrupan en tres categorías:

a) Atributos Analíticos:

Son todos aquellos parámetros que, aunque el consumidor no detecte, son medibles y permiten evaluar las características químicas del producto. Las características mínimas de estos parámetros exigidos en la calidad, se establece en el reglamento CE N° 2568/91, última modificación CE N° 656/95 de 29 marzo de 1995, y comprenden, entre otras, las siguientes: grado de acidez, índice de peróxidos, humedad y materias volátiles (Barranco y Fernández, 2000).

- **Grado o Índice de Acidez**

Es un indicador de la cantidad de ácidos grasos libres presentes en el aceite, expresada en tanto por ciento de ácido oleico. Los ácidos grasos se liberan cuando la aceituna es defectuosa por causa de plaga o enfermedad o bien se ha maltratado durante la recolección y/o transporte. Por tanto, un mayor grado de acidez significa mayor deterioro de las aceitunas.

- **Índice de Peróxidos**

Mide el estado ó grado de oxidación inicial de un aceite, se expresa en miliequivalentes de oxígeno activo por kilo de grasa. Los peróxidos se originan si la aceituna se maltrata, si el aceite no se protege de la luz o el calor, como consecuencia de ello, a mayor índice de peróxidos menor será la capacidad antioxidante de un aceite.

- **Absorbancia o Espectrofotometría en el Ultravioleta (UV)**

Son indicadores de la presencia de un aceite de compuestos de oxidación complejos, distintos de los peróxidos. Se expresa en coeficientes como K_{270} . Se originan por una mala conservación o por modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos. Por tanto a mayor K_{270} menor será la capacidad antioxidante de un aceite.

b) Pruebas de Pureza

Son importantes no sólo desde el punto de vista comercial para establecer la autenticidad de los aceites, sino también por la necesidad de conocer si se ajustan o no a los parámetros y condiciones exigidas por las reglamentaciones técnico-sanitarias.

Los adulterantes del aceite de oliva pueden incluir: aceites de semillas, aceite de orujo de oliva, productos sintéticos, de subproductos

del proceso de refinación, que se desesterolizan por refinación fuerte. También con aceites de oliva de menor calidad, con aceites desodorizados (Boskou, 1998). Basados en componentes de la fracción insaponificable, permite conocer posibles adulteraciones (Murillo, 1993).

c) Valoración Organoléptica

Es la prueba decisiva, pero no la única, para la asignación de la categoría de un aceite de oliva virgen y clasificación del mismo. Son todos los factores detectables por los órganos de los sentidos: gusto, oído, olfato, vista y tacto. Las características mínimas de calidad de nuestra legislación incluyen aspecto, olor, sabor y color. Esta prueba es fundamental que sea realizada por un panel analítico reconocido para que sea objetiva (Murillo, 1993).

La valoración organoléptica se realiza por un grupo de catadores entrenados, según la norma COI /Doc. Nº 14/ Rev. 1, "Guía para la selección y entrenamiento y el control de los catadores calificados de aceite de oliva virgen".

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo fue realizado en los Laboratorios de Análisis de los Alimentos y Análisis Sensorial de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna.

3.2. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS

3.2.1. Materia Prima

Se utilizaron los frutos del olivo (*Olea europea sativa*) de la variedad sevillana proveniente del valle de Magollo – Tacna.

3.2.2. Reactivos

- Solvente hexano, (concentración pura).
- Ácido tánico a 50 ppm (solución patrón)
- Reactivo folin ciocalteau de 1 N.
- Carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20 %
- Hidróxido de sodio 0,1 N
- Indicador fenoltaleína
- Alcohol etílico absoluto (alcohol puro)
- Cloroformo y metanol respectivamente (2 : 3)
- Ácido acético glacial

- Yoduro de potasio (concentrado).
- Tiosulfato de sodio pentahidratado
- Almidón soluble
- Ciclo hexano
- Éter de petróleo (Solvente).

3.2.3. Materiales

- Matraz Erlenmeyer de 25 - 250 ml
- Pipetas volumétricas de 0,5 - 20 ml
- Pipetas aforadas de 10 - 50 ml
- Probetas de 100 – 500 ml
- Buretas de 25 ml
- Pera de decantación de 250 - 500 ml
- Vasos precipitados de 25 - 500 ml
- Fiolas de 10 – 500 ml
- Termómetro de 0 a 100°C
- Tubos de ensayo
- Tubos de centrifuga, graduados a 10 ml.
- Tubos de espectrofotometría
- Papel filtro Whatman y papel aluminio
- Material para evaluación sensorial: vasos de vidrio, platos, etc.

3.2.4. Equipos

- Balanza analítica METLER AJ 150 \pm 0,1 mg de sensibilidad
- Balanza digital SARTORIUS. Capacidad 250 g + 0,1 mg
- Cocina eléctrica marca THERMOLYNE TYPE 2200 – USA
- Molino manual CORONA
- Equipo de extracción de aceite por prensa, capacidad de 1 kg
- Equipo de baño maría
- Espectrofotómetro HEWLETT PACKARD, UV/vis-8453.
- Centrífuga H.W KESSEL – mixtasel máx. de 10'000 rpm
- Refractómetro ABBE, RL 3 POLAND

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. ANÁLISIS DE LA MATERIA PRIMA

3.3.1.1. Análisis proximal

Se realizó con la finalidad de conocer la composición proximal de la aceituna de la variedad sevillana (*Olea europea sativa*).

a) Humedad

Se determinó la pérdida de peso de la muestra al someterse a calentamiento a estufa a 105°C, hasta peso constante de acuerdo con el método de la A.O.A.C., (1984).

b) Lípidos

Es el contenido en grasa bruto de un producto se define convencionalmente como la parte del mismo, extraíble por éter de petróleo en condiciones determinadas (método Soxhlet, A.O.A.C, 1984).

c) Proteínas

Proteína bruta de un producto, es el contenido en nitrógeno, determinado por el método Kjeldahl, por un factor (6,25) (método Kjeldahl, A.O.A.C, 1984).

d) Carbohidratos

Obtenido por diferencia porcentual.

e) Cenizas

Residuo obtenido por incineración a una temperatura de $550 \pm 10^{\circ}\text{C}$, hasta combustión completa de la materia orgánica y obtención e un peso constante (método por calcinación, A.O.A.C., 1984).

f) Fibra cruda

Tratar la muestra, con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido potásico de concentración conocida. Separar y pesar el residuo insoluble (método tratamiento ácido –alcalino, A.O.A.C., 1982).

3.3.2. ANÁLISIS DEL PRODUCTO FINAL (Aceite de Oliva Virgen)

3.3.2.1. Análisis químicos

Se hizo solo los principales análisis químicos al aceite de oliva, para evaluar si cumple con la Norma Reglamentaria del aceite de Oliva Virgen. A continuación se describe los análisis que se realizaron.

a) Acidez libre

Por titulación de los ácidos grasos libres presentes utilizando una solución alcalina acuosa (Método Norma Española 55 011, 1991).

b) Índice de Peróxidos

Por titulación; el yodo liberado titulado con una solución de tiosulfato sódico estandarizado, (Según norma UNE 55 011; 1991).

c) Absorción Espectrofométrica Ultravioleta (K_{232} , K_{270})

Se determina por medio del espectrofotómetro haciendo lecturas de absorbancia (C.O.I, 1957).

La descripción completa de los análisis fisicoquímicos se encuentra en el Anexo N° 05.

3.3.2.2. Evaluación de Compuestos Fenólicos Totales

Para la determinación de los compuestos fenólicos totales, en el presente trabajo se realizó de la siguiente manera:

Determinación de Compuestos Fenólicos

Para su determinación se obtuvieron primero los extractos hidrolcohólicos del aceite de oliva. Se realizó mediante la metodología descrita por Price y Butler y modificado por Bartolomé (1995), como se describe en el Anexo N° 06 y posteriormente la determinación cuantitativa de compuestos fenólicos totales, descrita en el Anexo N° 07.

3.3.2.3. Evaluación Sensorial

Esta prueba se realizó con la finalidad de tener información principalmente orientada al sabor y aroma del aceite de oliva obtenido. Los aceites obtenidos en los experimentos se evaluaron en copas de vidrio circulares por panelistas (es decir, personas que tienen algún conocimiento sobre las características organolépticas del aceite). Aplicando, el Test Hedónico, de 1 a 9 puntos, presentado en el Anexo N° 08 los resultados fueron analizados con el programa Statistica. El análisis de coeficientes de los diferentes modelos de regresión que explican el efecto en los atributos sensoriales se realizó mediante las pruebas de hipótesis con el estadístico t-student, con 2 grados de libertad para el error y 5 % de nivel de significancia, con valor crítico de tabla de 4,30.

3.3.2.4. Balance de masa y flujo definitivo

El balance de materia se efectuó en el producto de parámetros más adecuados, para hallar el rendimiento en cada etapa del proceso, comprendido desde la materia prima hasta la obtención del producto final. Después se definió el flujo definitivo con los parámetros óptimos, para la obtención de aceite de oliva.

3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.4.1 Procedimiento

Para la optimización del contenido de compuestos fenólicos en la extracción de aceite de oliva virgen se siguió el flujo de diseño experimental presentado en la Figura N° 09; para lo cual se ejecutaron las siguientes etapas.

Recepción

Se recepcionó las aceitunas de la variedad sevillana, y se utilizaron aproximadamente 4 kg para cada tratamiento en diferentes días. En total fueron 60 kg en buen estado, es decir, frescos y sanos, pertenecientes a la zona de Magollo del departamento de Tacna.

Pesado y Clasificado

Se pesaron las aceitunas para obtener el balance de materia y se clasificaron de acuerdo con el índice de madurez, tomando en cuenta el delineamiento experimental de esta variable independiente. Los niveles de índice de madurez fueron: 2; 4 y 6. En las figuras N° 05; 06 y 07 se muestran las aceitunas, con las que se trabajaron.

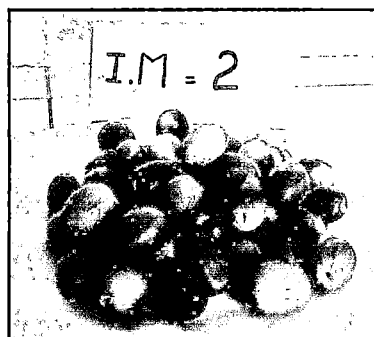


Fig. N° 05: Índice madurez: 2

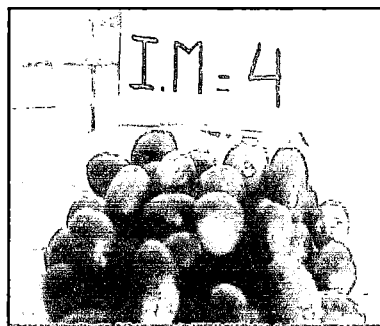


Fig. N° 06: Índice madurez: 4

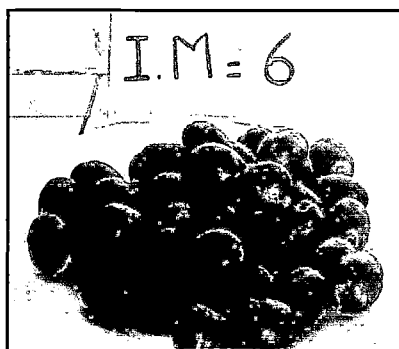


Fig. N° 07: Índice madurez: 6

Lavado

Durante esta etapa se hizo el lavado de aceitunas que por el transporte y manipuleo generalmente están sucias, con tierra o impurezas.

Molienda

La molienda fue realizado con un molino manual a temperatura ambiente, a un tamaño constante de aproximadamente 1 mm, según lo recomienda Miranda (2003).

Batido

En esta etapa se hizo un batido de la pasta en forma manual, a una velocidad constante de aproximadamente de 20 r.p.m. con un movimiento de vaivén. Se realizó en un recipiente de acero inoxidable, para evitar la oxidación. El recipiente se colocó dentro de un baño María, controlando las variables temperatura de batido y tiempo de batido, como se muestra en la Figura N° 08.

- **Temperatura de Batido**

Se realizó de acuerdo con el delineamiento experimental, que consta de 3 niveles de temperatura de batido: 25°C; 30°C y 35°C.

- **Tiempo de Batido**

Se realizó de acuerdo con el delineamiento experimental, que consta de 3 niveles: 40; 60 y 80 minutos de tiempo de batido.

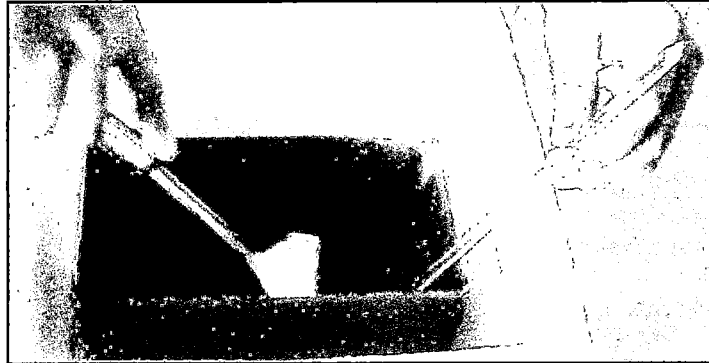


Figura N° 08: Batido de la pasta controlando las variables temperatura y tiempo de batido.

Fuente: elaboración propia

Prensado

En esta etapa se realizó una separación sólido – líquido; la pasta se sometió en una prensa hidráulica de acero inoxidable con capacidad para 1 kg y que consta de 7 capachos. La pasta se colocó en capachos, uno encima del otro, para su prensado. Se prensó a una presión de 60 bar durante 30 minutos aproximadamente, posteriormente se recogió el aceite y el alpechín. Todo esto se realizó a temperatura ambiente.

Decantación

Se utilizó una pera de decantación de 500 ml, donde el mosto oleoso permaneció por un tiempo de 30 minutos, para luego realizar su separación (líquido – líquido). Luego se separó el

aceite del alpechín, y se midió en una probeta la cantidad de aceite obtenido, para poder determinar el rendimiento.

Filtrado

Se realizó un filtrado manual mediante mallas de telas filtrantes, para quitar las impurezas restantes, y así mismo evitar eliminar los compuestos antioxidantes presentes en el aceite.

Conservación

El aceite obtenido se guardó en botellas de vidrio de colores ámbar y oscuros, para poder evitar el paso de la luz solar y el oxígeno ambiental; sólo por algunos días (1 semana). Para realizar los análisis respectivos al aceite.

A continuación, se muestra el flujo del diseño experimental para la optimización del contenido de compuestos fenólicos totales en la extracción del aceite de oliva.

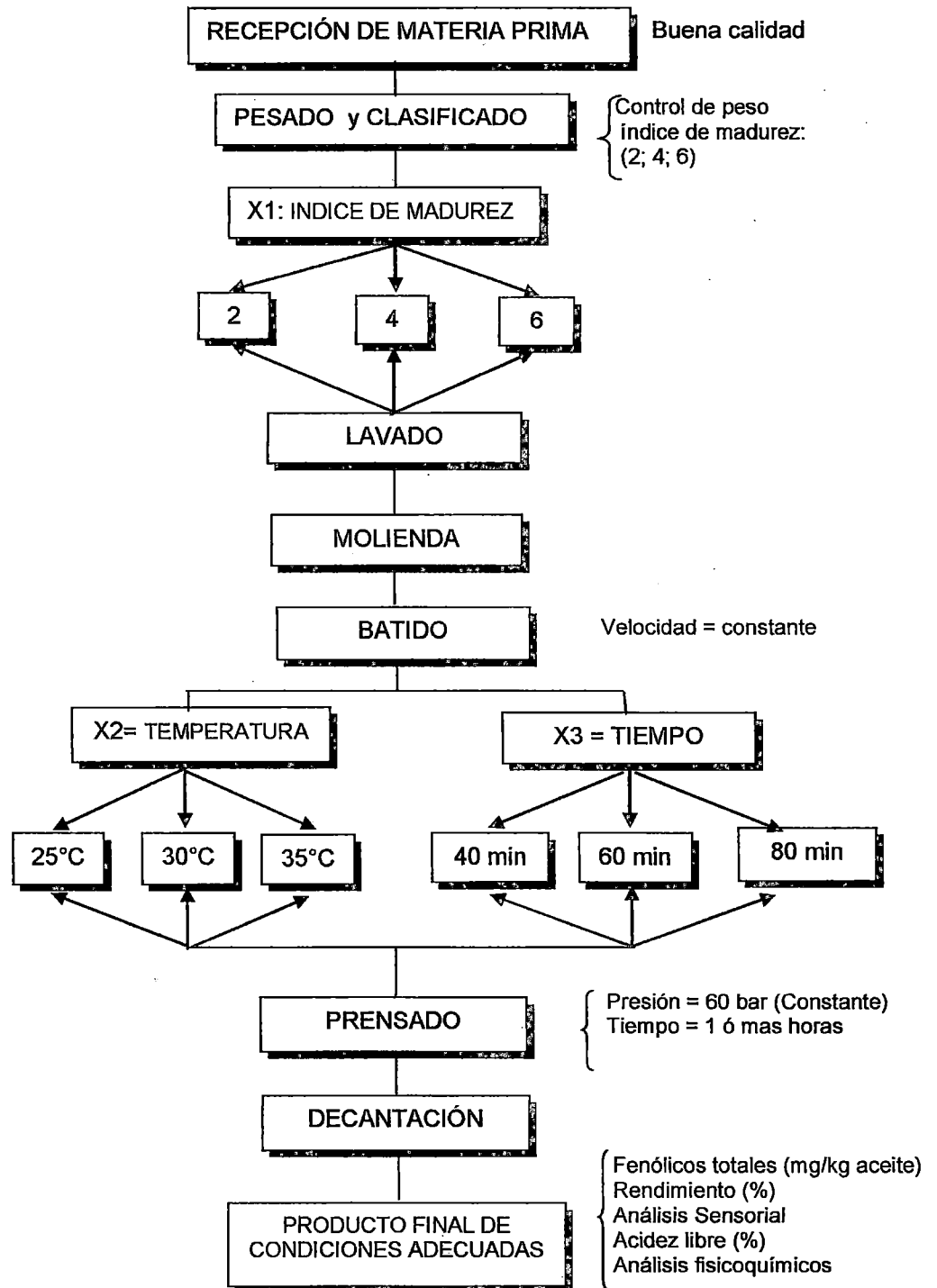


Figura N° 09: Flujo del diseño de la investigación.

Fuente: Elaboración propia

3.4.2. Delineamiento Experimental

Para estudiar los efectos entre las variables, índice de madurez, temperatura de batido (°C) y tiempo de batido (minutos), se utilizó la Metodología de Superficie de Respuesta, y mediante el Diseño de Box-Benhken, con el programa de Statistica vs. 5.0. Las variables fueron establecidas con tres niveles codificados como: -1; 0; +1. Los valores reales y amplitudes entre niveles de cada variable que aparecen en el Cuadro N° 05, fueron establecidos según el marco teórico del presente trabajo.

CUADRO N° 05: Niveles de las variables independientes de estudio.

VARIABLES	Niveles de las variables		
	-1	0	+1
X1 = Índice de madurez	2	4	6
X2 =Temperatura de batido (°C)	25	30	35
X3 =Tiempo de batido (min)	40	60	80

Fuente: Elaboración propia.

El delineamiento estadístico requiere de un mínimo de 15 tratamientos: 12 factoriales (combinaciones entre los niveles -1; 0;+1) y 3 puntos centrales (las tres variables están a nivel cero). Los puntos centrales de los niveles sirven para estimar el error experimental y determinar la precisión de la ecuación polinomial. Estos valores codificados del delineamiento experimental Box-Benhken con

característica de Superficie de Respuesta para las tres variables de estudio, se muestran en el Cuadro N° 06.

Las variables respuesta (Y) o variables dependientes estudiadas fueron, el contenido de compuestos fenólicos totales, y la acidez del aceite de oliva, así como las cualidades sensoriales.

CUADRO N° 06: Delineamiento experimental factorial de Box Benhken para tres niveles codificados usados para obtener mayor contenido de polifenoles totales en la extracción del aceite de oliva virgen.

Nro tratamiento	Variables codificadas			Variables reales		
	X1	X2	X3	X1	X2	X3
1	-1	-1	0	2	25	60
2	1	-1	0	6	25	60
3	-1	1	0	2	35	60
4	1	1	0	6	35	60
5	-1	0	-1	2	30	40
6	1	0	-1	6	30	40
7	-1	0	1	2	30	80
8	1	0	1	6	30	80
9	0	-1	-1	4	25	40
10	0	1	-1	4	35	40
11	0	-1	1	4	25	80
12	0	1	1	4	35	80
13	0	0	0	4	30	60
14	0	0	0	4	30	60
15	0	0	0	4	30	60

X1 = Índice de madurez

X2 = Temperatura de batido (°C)

X3 = Tiempo de batido (minutos)

Fuente: Elaboración propia

3.4.3. Procesamiento y Análisis Estadístico de Datos

Para el análisis de los efectos combinados (o de interacción) de las variables independiente (X_1, X_2, X_3) en las respuestas evaluadas (Y), se hizo mediante la Metodología de Superficie de Respuesta.

La determinación de los modelos matemáticos y el estudio de comportamiento en las variables dependientes se realizaron de la siguiente manera:

- El análisis de los resultados se realizó con los niveles reales de los 15 tratamientos planteados en el diseño de investigación, para así hallar los modelos de regresión múltiple, por la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR).
- Se asume que la función que vincula las respuestas con las variables independientes se puede aproximar a un polinomio de segundo orden, que tiene la siguiente forma:

$$Y = \beta_0 X_1 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \\ + \beta_{11} X_1 + \beta_{22} X_2 + \beta_{33} X_3$$

Donde Y es la respuesta estimada y X_1, X_2 y X_3 son los valores de Índice de madurez, temperatura de batido y tiempo de batido que en forma codificada (que toman los valores -1, 0 y +1 respectivamente), y $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}, \beta_{11}, \beta_{22}$ y β_{33} son los coeficientes de regresión.

El efecto significativo del modelo fue tratado por análisis de varianza. En ella se observó el grado de significación de la regresión y de la falta de ajuste al 95 % de confianza, con la ayuda de la prueba de F y el análisis del coeficiente de determinación (R^2).

El modelo para ser considerado predictivo y describir determinada característica en la región analizada debe presentar regresión significativa al nivel del 95% de confianza, falta de ajuste no significativo en el mismo nivel de confianza y alto valor R^2 .

3.4.4. Método de Optimización

Para lograr la optimización del proceso se aplicó la metodología de la FUNCION DESEADA. El software estadístico utilizado fue el Design-Expert 7,02.

3.4.4.1. Optimización mediante la Metodología de la Función Deseada

La metodología de la FUNCION DESEADA es una técnica analítica desarrollada para la optimización de sistemas de múltiples factores y múltiples respuestas, donde cada respuesta se estandariza en funciones deseadas.

Las funciones a estandarizar para el presente trabajo son las variables independientes: índice de madurez, temperatura de batido y tiempo de batido.

IV. HIPÓTESIS E IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

4.1. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Es posible optimizar el contenido de compuestos fenólicos totales, durante la etapa de batido en la extracción de aceite de oliva (*Olea europea sativa*) virgen variedad sevillana, controlando el índice de madurez, el tiempo y la temperatura de batido.

4.2. IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES E INDICADORES

4.2.1 VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES

Según el diseño experimental, se consideraron tres variables de estudio, éstas son:

- Índice madurez de materia prima con los niveles de: (2; 4 y 6).
- Tiempo de batido con los niveles de: (40; 60 y 80) minutos.
- Temperatura de batido con niveles de:(25; 30 y 35)°C.

VARIABLES DEPENDIENTES

Como variables dependientes se consideraron las siguientes:

- Compuestos fenólicos totales del producto final expresado en mg de ácido cafeico/ kg de aceite.

- El porcentaje del rendimiento del aceite.
- Acidez del producto final, expresado en porcentaje de ácido oleico
- Análisis fisicoquímicos y atributos sensoriales.

4.2.2. INDICADORES

En la parte experimental, no existe una norma técnica específica que sirva como indicador para las variables consideradas en este trabajo; sin embargo, se tomaron como referencia algunos parámetros obtenidos de la bibliografía especializada en este campo de estudio.

El contenido total de polifenoles en el aceite de oliva oscila entre 50 y 500 ppm de ácido caféico, esta cantidad depende de la variedad, grado de maduración, técnica de elaboración, manejo de la aceituna y otros factores.

Para las características sensoriales, se empleó el Test de Escala Hedónica con rango de 1 a 9.

EL CONSEJO OLEÍCOLA INTERNACIONAL

Según el Convenio Internacional del Aceite de Oliva dado la última reglamentación por la Decisión N° DEC-1/75-IV/96 de 20 de noviembre de 1996 las normas de características físicas, químicas y organolépticas y los métodos de análisis (ver calidad reglamentaria en el Anexo N° 09).

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA ACEITUNA

En el Cuadro N° 07 se presenta la composición química proximal de la aceituna de la variedad sevillana de Tacna. Esta aceituna analizada tiene un índice de madurez promedio de 4, el cual también ha sido utilizado en los diferentes tratamientos del proceso de extracción del aceite de oliva virgen.

CUADRO N° 07: Composición química de la aceituna.

Componente	Cantidad (%)
Humedad	58,71
Lípidos	20,77
Proteínas	1,26
Carbohidratos totales	12,1
Fibra cruda	5,9
Cenizas	1,26
Total	100

Fuente: Elaboración propia

En la composición química de la aceituna, los diferentes valores porcentuales obtenidos de sus componentes, se encuentran dentro o cercano, en comparación con lo establecido en bibliografía revisada (Civantos y Contreras, 1992).

La humedad que se obtuvo es relativamente alta; esto se debe a que la aceituna utilizada es fresca y con un índice de madurez cercano a 4, es decir, en una coloración en envero. La humedad de la aceituna disminuye a lo largo de la maduración y, por lo tanto, hay un descenso del peso del fruto (Humanes, 1992).

Los lípidos obtenidos están dentro de las cantidades, señaladas por la bibliografía existente. La mayor cantidad de aceite se forma cuando el fruto está en envero.

Los azúcares presentes, en su mayor parte, son azúcares reductores y descienden a lo largo de la maduración del fruto (Alba, 1994).

5.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES

La determinación de los modelos matemáticos y el estudio de las variables dependientes son como se menciona anteriormente en el ítem 3.4.3 de procesamiento y análisis estadístico.

- El análisis de los resultados se realizó con los niveles reales de los diferentes tratamientos planteados por la Metodología de Superficie de Respuesta.

- El análisis de los coeficientes de los diferentes modelos de regresión que explican el efecto en los atributos sensoriales se realizó mediante las pruebas de hipótesis con el estadístico t–student, con 2 grados de libertad para el error y 5 % de nivel de significancia, con valor crítico de tabla de 4,30, tal como se muestra en la Figura N° 10.

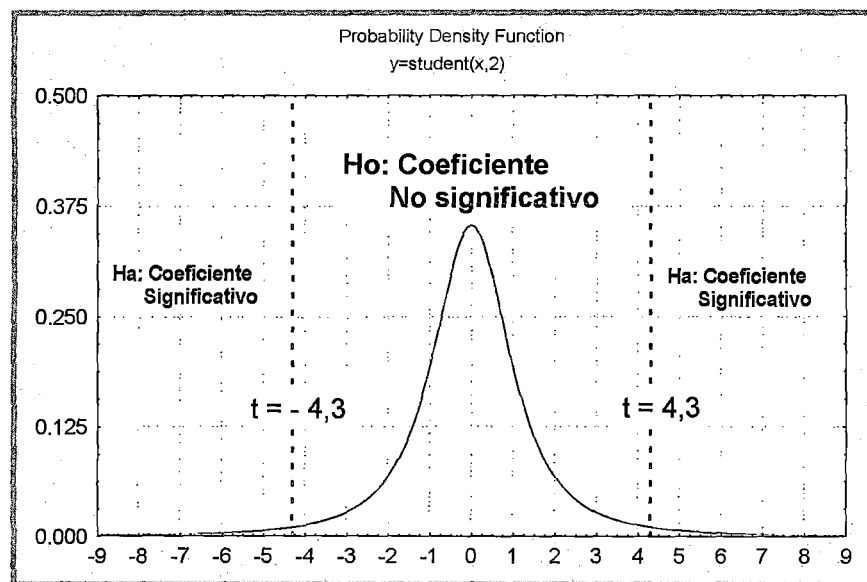


Figura N° 10: Función distribución de la prueba t–student para la evaluación de los coeficientes de los modelos de regresión.

Fuente: Elaboración propia.

- La evaluación de los diferentes modelos de regresión fue mediante el análisis de varianza y con la ayuda de la prueba estadística F-snedecor

(Figura N° 11) con un nivel de significancia del 5 % y valor de tabla de 4,77 para 9 y 5 grados de libertad.

- Se asume que las respuestas con las variables independientes se pueden aproximar con un polinomio de segundo orden.

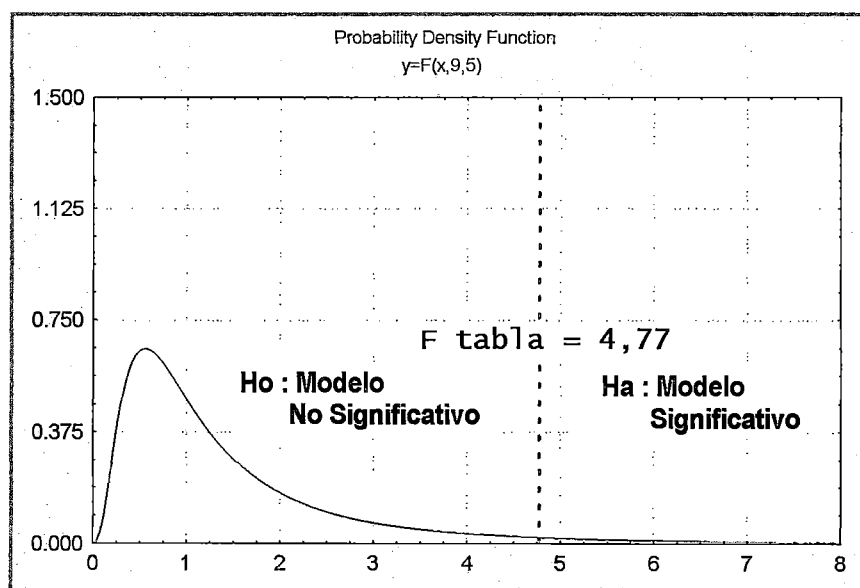


Figura 11: Distribución de probabilidad para la prueba F-snedecor para la evolución de los modelos completos de regresión.

Fuente: Elaboración propia

5.3. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LOS TRATAMIENTOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA OPTIMIZACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES

Los resultados experimentales obtenidos en el proceso de extracción de aceite de oliva, según el diseño de Box-Benhken, se muestran en el Cuadro N° 08.

CUADRO N° 08: Resultados experimentales obtenidos de los tratamiento en el proceso de extracción del aceite de oliva.

Tratamiento	X1	X2	X3	FENOLES	REND. (%)	ACIDEZ (%)
1	2	25	60	100,00	11,36	0,20
2	6	25	60	86,20	11,20	0,38
3	2	35	60	90,65	10,52	0,27
4	6	35	60	68,23	15,20	0,49
5	2	30	40	78,04	9,85	0,28
6	6	30	40	74,44	11,24	0,37
7	2	30	80	86,44	12,42	0,32
8	6	30	80	40,26	13,07	0,39
9	4	25	40	81,16	14,80	0,26
10	4	35	40	74,44	13,73	0,43
11	4	25	80	94,41	14,67	0,40
12	4	35	80	49,52	16,54	0,37
13	4	30	60	61,36	14,3	0,28
14	4	30	60	64,59	14,93	0,25
15	4	30	60	58,24	14,80	0,27

X1 = Índice de madurez

X2 = Temperatura batido (°C)

X3 = Tiempo de batido (minutos)

Rend. = Rendimiento (%)

Fenoles = Expresado (mg/kg ac. Cafeico)

Fuente: Elaboración propia

5.3.1 EFECTO DE LAS VARIABLES ÍNDICE DE MADUREZ, TEMPERATURA Y TIEMPO DE BATIDO EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES

El modelo completo y el grado de significación de las variables independientes son mostrados en el Cuadro N° 09. El análisis de varianza (ANVA) para el modelo completo es presentado en el Cuadro N° 10.

De acuerdo con el análisis del grado de significación del modelo completo (Cuadro N° 09), se observa que el contenido de compuestos fenólicos fue influido significativamente, por los efectos lineales y el efecto de interacción de índice de madurez (X_1), temperatura de batido (X_2) y tiempo de batido (X_3).

El análisis de varianza del Cuadro N° 10 (ANVA) para el modelo de regresión completo elaborado a partir de los resultados de contenido de compuestos fenólicos, en la obtención de aceite, indicado en el Cuadro N°10, mostró un coeficiente de determinación de 0,9646 y un elevado valor de coeficiente de variación. El modelo presenta además regresión altamente significativa $F_c=15,15$ vs. $F_t = 4,77$ para una probabilidad $\leq 0,05$.

De acuerdo con lo manifestado por Montgomery (1991), para que la regresión no sea solamente estadísticamente significativa, sino también útil

con fines predictivos, el valor de ésta, es decir, la razón QM modelo/QM residuo, debe ser mucho mayor que el valor de Ft, por lo que en esta ecuación puede usarse con fines de predicción de los niveles establecidos para las variables independientes.

El análisis de varianza (ANVA) del modelo completo muestra además que el residuo presenta falta de ajuste no significativa, $F_c = 4,02$ vs $F_t = 19,16$, por lo que la ecuación puede usarse con fines de predicción de los niveles establecidos para las variables independientes.

CUADRO N° 09: Modelo de regresión completo de las variables independientes en el contenido de compuestos fenólicos totales.

MODELO COMPLETO					
$Y_{\text{Fenoles}} = 460,058 + X_1 2,728 + X_1^2 2,473 + X_2 -31,339 + x_2^2 0,599 + X_3 4,142 + x_3^2 -0,004 + X_1 X_2 -0,215 + X_1 X_3 0,266 + X_2 X_3 -0,095$					
Factores	Coefficientes	Std.Err.	t(2)	p < 0,05	
Intercepto	460,06	72,01	6,39	0,02	S.
X ₁	-2,73	6,29	-0,43	0,71	N.S.
X ₁ ²	2,47	0,41	5,99	0,03	S.
X ₂	-31,34	4,13	-7,58	0,02	S.
x ₂ ²	0,60	0,07	9,07	0,01	S.
X ₃	4,14	0,71	5,85	0,03	S.
x ₃ ²	0,00	0,00	-0,90	0,46	N.S.
X ₁ X ₂	-0,22	0,16	-1,36	0,31	N.S.
X ₁ X ₃	-0,27	0,04	-6,71	0,02	S.
X ₂ X ₃	-0,10	0,02	-6,01	0,03	S.

X₁= Índice de Madurez; X₂= Temperatura de batido; X₃= Tiempo de batido; S = significativo al 95 % de confianza; N S = No significativo al 95 % de confianza.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 10: Análisis de varianza para el modelo completo de los resultados experimentales del contenido de compuestos fenólicos totales.

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL MODELO COMPLETO						
Promedio	:	73,87	Coef. de Determinación R ² :	0,9646		
Desviación	:	5,33	Coef. de Variación C.V.:	7,21%		
Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F calculado	F tabla	
Regresión	3866,95	9	429,66	15,15	4,77	S.
Residuo	141,78	5	28,36			
Falta de ajuste	121,62	3	40,54	4,02	19,16	N.S.
Error puro	20,16	2	10,08			
Total	4008,73	14				
Varianza explicada		: 96,46%				
Máxima Varianza explicada		: 99,50%				

S. = Significativo al nivel de 5 % de probabilidad

N.S. = No significativo al nivel de 5 % de probabilidad

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura N° 12, se muestra el diagrama de superficie de respuesta, del modelo completo, según la región de máximo **contenido de compuestos fenólicos** es mayor de 100,345 %, con índice de madurez de 2 a 2,5 y temperatura de batido de 25°C a 26°C y a nivel constante de tiempo de batido de 60 minutos; es decir, a medida que disminuye el valor de índice de madurez y la temperatura de batido, el contenido de polifenoles aumenta.

Tal como se indica en la bibliografía pertinente (Civantos y Contreras, 1992), el porcentaje de aceitunas en envero (coloreadas parcialmente) se produce con un máximo contenido de polifenoles.

Un exceso de temperatura es perjudicial para la calidad del aceite (compuestos volátiles y polifenoles). Se aconseja no sobrepasar los 25 a 28°C, en la pasta durante el batido.

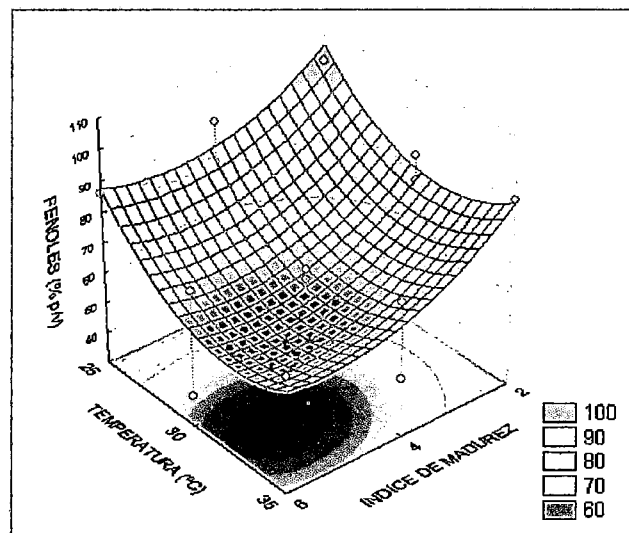


Figura N° 12: Diagrama de superficie de respuesta para fenoles totales por efecto de la temperatura de batido e índice de madurez, al nivel fijo de tiempo de batido de 60 minutos.

Fuente: Elaboración propia

La Figura N° 13 presenta el diagrama de Superficie de Respuesta del modelo completo. Se puede notar que la región de mayor respuesta del contenido de compuestos fenólicos es de 85,918 %; para este efecto, las variables independientes de temperatura de batido están inversamente proporcionales al tiempo de batido, para un nivel constante de índice de madurez de 4. Es decir, que a mayor tiempo de batido (mayor 80 min) y a temperatura de batido a 25°C, el contenido de polifenoles relativamente aumenta.

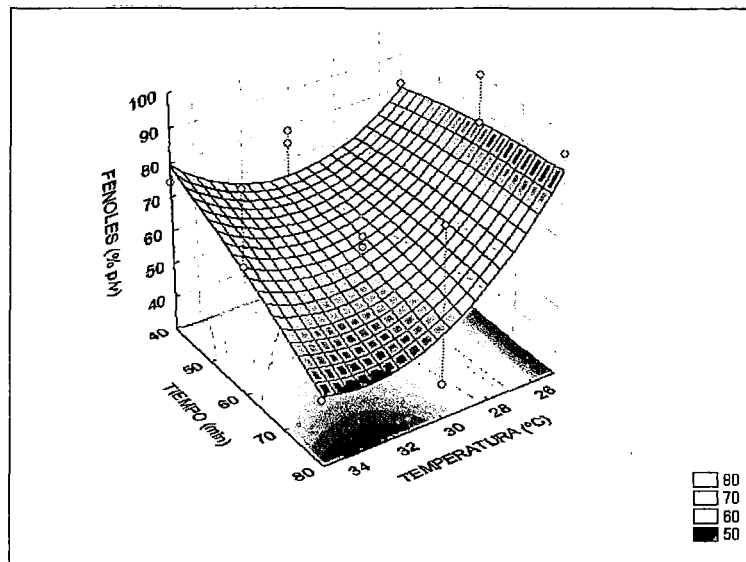


Figura N° 13: Diagrama de superficie de respuesta para los fenoles totales por efecto de la temperatura y tiempo batido, al nivel fijo de índice de madurez de 4.

Fuente: Elaboración propia.

5.3.2. EFECTO DE LAS VARIABLES ÍNDICE DE MADUREZ, TEMPERATURA Y TIEMPO DE BATIDO EN EL RENDIMIENTO

El modelo completo y el grado de significación de las variables independientes, son mostrados en el Cuadro N° 11. El análisis de varianza (ANVA) para el modelo completo es presentado en el Cuadro N° 12.

En el análisis del grado de significación del modelo completo (Cuadro N° 11), se observa que el rendimiento del aceite fue influido significativamente, por los efectos lineales y de interacción de índice de madurez (X_1), temperatura de batido (X_2) y tiempo de batido (X_3).

En el análisis de varianza del Cuadro N° 12 (ANVA) para el modelo de regresión completo elaborado a partir de los resultados del rendimiento del aceite obtenido, indicado en el Cuadro N° 12, mostró un coeficiente de determinación de 0,9640; y un elevado valor de coeficiente de variación. El modelo presenta además regresión altamente significativa $F_c=14,89$ vs. $F_t=4,77$ para una probabilidad $\leq 0,05$.

El análisis de varianza presenta falta de ajuste no significativo $F_c=5,53$ y $F_t=19,16$.

CUADRO N° 11: Modelo de regresión completo de las variables independientes para el rendimiento del aceite.

MODELO COMPLETO				
Yrend. = 33,8083 + X ₁ 2,954 + X ₁ ² -0,737 + X ₂ -1,646 + x ₂ ² 0,013 + X ₃ -0,132 + x ₃ ² -0,0002 + X ₁ X ₂ 0,121 + X ₁ X ₃ -0,004 + X ₂ X ₃ 0,00735				
Factores	Coefficientes	t(2)	p < 0,05	
Intercepto	33,80833333	4,482	0,046	S.
X ₁	2,954166667	4,482	0,046	S.
X ₁ ²	-0,737083333	-17,033	0,003	S.
X ₂	-1,646	-3,801	0,063	N.S.
x ₂ ²	0,013666667	1,974	0,187	N.S.
X ₃	-0,13275	-1,790	0,215	N.S.
x ₃ ²	-0,000208333	-0,481	0,678	N.S.
X ₁ X ₂	0,121	7,276	0,018	S.
X ₁ X ₃	-0,004625	-1,112	0,382	N.S.
X ₂ X ₃	0,00735	4,420	0,048	S.

X₁= Índice de Madurez; X₂= Temperatura de batido; X₃= Tiempo de batido.

S = Significativo al 95 % de confianza; N S = No significativo al 95 % de confianza.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 12: Análisis de varianza para el modelo completo de los resultados experimentales del rendimiento de obtención de los aceites.

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL MODELO COMPLETO						
Promedio	:	13,24	Coef. de Determinación R ² :	0,9646		
Desviación	:	0,64	Coef. de Variación C.V.:	4,83%		
Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F calculado	F tabla	
Regresión	55,10	9	6,12	15,15	4,77	S.
Residuo	2,06	5	0,41			
Falta de ajuste	1,83	3	0,61	5,55	19,16	N.S.
Error puro	0,22	2	0,11			
Total	57,15	14				
Varianza explicada			:	96,46%		
Máxima Varianza explicada			:	99,62%		

S. = Significativo al nivel de 5 % de probabilidad

N.S. = No significativo al nivel de 5 % de probabilidad

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura N° 14 se presenta el diagrama de las curvas de nivel del modelo completo; allí se muestra la variación del rendimiento de obtención de aceite en función de las variables independiente de índice de madurez y temperatura de batido, a un nivel de tiempo de batido constante a 60 minutos y se observa que se tiene la zona de máxima respuesta de rendimiento, que es mayor de 15,481%.

A valores altos de índice de madurez y temperatura de batido, se puede obtener mayores % de rendimiento.

Se destaca que a mayor temperatura de batido, el rendimiento de extracción es mayor, pero hay un efecto directo sobre la calidad del aceite (Westfalia, 2005).

El índice de madurez repercute en la cantidad y calidad del aceite de oliva. En el proceso de maduración de la aceituna, la cantidad de aceite aumenta hasta llegar hasta un determinado nivel, por lo que tendrá un buen rendimiento (Civantos y Contreras, 1992).

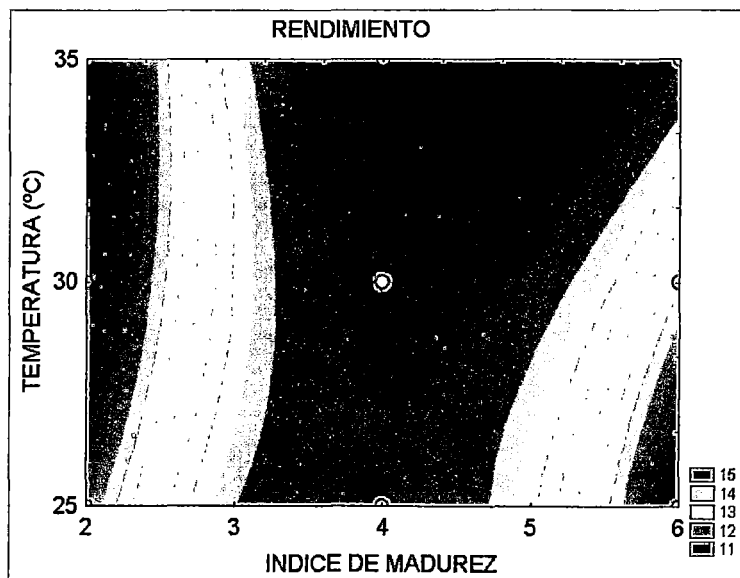


Figura N° 14: Curvas de nivel del efecto de índice de madurez y temperatura de batido en el rendimiento, constante el tiempo de batido a 60 minutos.

Fuente: Elaboración propia

La Figura N° 15 presenta el diagrama de las curvas de nivel, del modelo completo. La región de máxima respuesta es de 17,429 %, el rendimiento de aceite aumenta en función directamente proporcional de las variables independientes de temperatura y tiempo de batido, al nivel constante de índice de madurez de 4. Es así que a mayor temperatura y tiempo de batido, el rendimiento aumenta. Cuando mayor es el tiempo de batido, mayor es la extracción de aceite, pero también se desmejora la calidad (Westfalia, 2005).

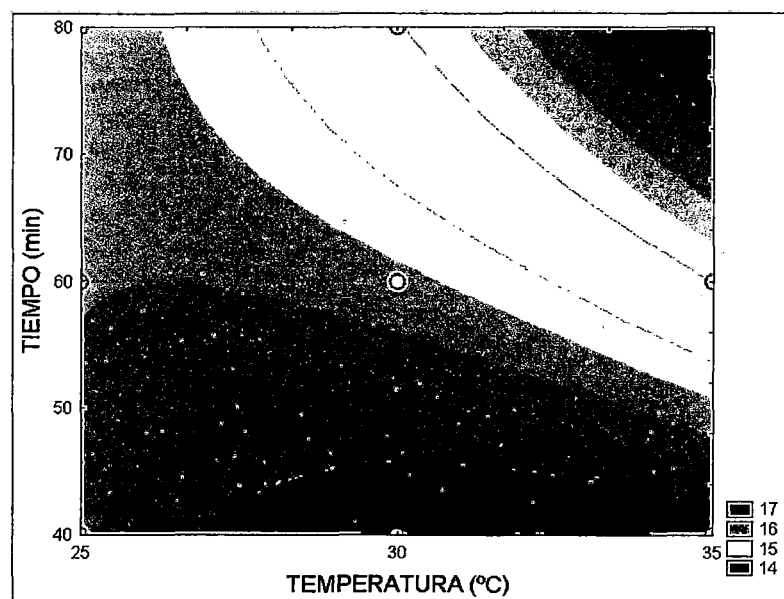


Figura N° 15: Curvas de nivel mostrando del efecto de temperatura y tiempo de batido sobre el rendimiento del aceite manteniendo constante el índice de madurez 4.

Fuente: Elaboración propia.

5.3.3. EFECTO DE LAS VARIABLES ÍNDICE MADUREZ, TEMPERATURA Y TIEMPO DE BATIDO EN LA ACIDEZ DEL ACEITE

El modelo completo y el grado de significación de las variables independientes, son mostrados en el Cuadro N° 13. El análisis de varianza (ANVA) para el modelo completo es presentado en el Cuadro N° 14.

En el grado de significación del modelo completo, la acidez del aceite fue influenciado significativamente, por los efectos cuadráticos y de interacción de índice de madurez (X_1), temperatura de batido (X_2) y tiempo de batido (X_3).

El análisis de varianza del Cuadro N° 14 (ANVA) para el modelo de regresión completo elaborado a partir de los resultados de la acidez del aceite, mostró un alto coeficiente de determinación de 0,9949 y un valor de coeficiente de variación de 2,40 %. El modelo presenta regresión altamente significativa $F_c = 107,77$ vs. $F_t = 4,77$ para una probabilidad $\leq 0,05$.

Debe recordarse que lo manifestado por Montgomery (1991), para que la regresión no sea solamente estadísticamente significativa, sino también útil con fines predictivos, el valor de ésta, es decir, la razón $F_c = 107,77$ debe ser mucho mayor que el valor de $F_t = 4,77$. En este caso el F_c es mucho mayor que el F_t , y cumple la condición.

Y de igual forma el análisis de varianza presenta falta de ajuste no significativo $F_c = 0,42$ y $F_t = 19,16$, por lo que se puede usar con fines de predicción.

CUADRO N° 13. Modelo de regresión completo de las variables independientes en la acidez del aceite obtenido.

MODELO COMPLETO					
$Y_{\text{Acidez}} = 2,23 + X_1 - 0,01 + X_1^2 0,01 + X_2 - 0,11 + X_2^2 0,00 + X_3 - 0,01$ $+ X_3^2 0,00 + X_1 X_2 0,00 + X_1 X_3 0,00 + X_2 X_3 0,00$					
Factores	Coefficientes	Std Err	t(2)	p < 0,05	
Intercepto	2,23	0,23	9,83	0,01	S.
X ₁	-0,01	0,02	-0,73	0,54	NS.
X ₁ ²	0,01	0,00	4,80	0,04	S.
X ₂	-0,11	0,01	-8,78	0,01	S.
X ₂ ²	0,00	0,00	9,61	0,01	S.
X ₃	-0,01	0,00	-6,22	0,02	S.
X ₃ ²	0,00	0,00	9,13	0,01	S.
X ₁ X ₂	0,00	0,00	0,00	1,00	NS.
X ₁ X ₃	0,00	0,00	-0,50	0,67	NS.
X ₂ X ₃	0,00	0,00	0,50	0,67	NS.

X₁= Índice de Madurez; X₂= Temperatura de batido; X₃= Tiempo de batido.
 S = Significativo al 95 % de confianza; N S = No significativo al 95 % de confianza. Fuente: Elaboración propia.
 Fuente: Elaboración propia

CUADRO N° 14: Análisis de varianza para el modelo completo de los resultados experimentales de la acidez del aceite

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL MODELO COMPLETO						
Promedio :	0,34	Coef. de Determinación R ² :	0,9949			
Desviación :	0,01	Coef. de Variación C.V. :	2,40%			
Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F calculado	F tabla	
Regresión	0,063048	9	0,0070054	107,77	4,77	S.
Residuo	0,000325	5	0,0000650			
Falta de ajuste	0,000125	3	0,0000417	0,42	19,16	N.S.
Error puro	0,000200	2	0,0001000			
Total	0,063373	14				
Varianza explicada :			99,49%			
Máxima Varianza explicada :			99,68%			

X₁ = Índice de madurez ; X₂ = Temperatura (°C) ; X₃ = Tiempo (minutos);

S. = Significativo al nivel de 5 % de probabilidad

N.S. = No significativo al nivel de 5 % de probabilidad

Fuente: *Elaboración propia.*

En la Figura N° 16 se observa el diagrama de Superficie de Respuesta del modelo completo; allí se muestra la variación de la acidez del aceite de oliva en función de las variables independientes de índice de madurez y temperatura de batido, a nivel constante de tiempo de batido de 60 minutos, y se observa que se tiene la región de máxima respuesta de acidez mayor de 0,479% a medida que aumenta el índice de madurez y la temperatura de batido.

Por lo que a valores altos (5,5 a 6) de índice de madurez y de temperaturas (34 y 35)°C, la acidez del producto aumenta. Un aumento de

La temperatura adecuada oscila entre 25-30 °C, ya que si sobrepasa provoca alteraciones en la calidad del aceite de oliva (Westfalia, 2005). Conforme avanza la madurez de la aceituna la acidez disminuye. Se ha observado una mayor acidez al retrasar la cosecha de las aceitunas (Hermoso y Uceda, 1991).

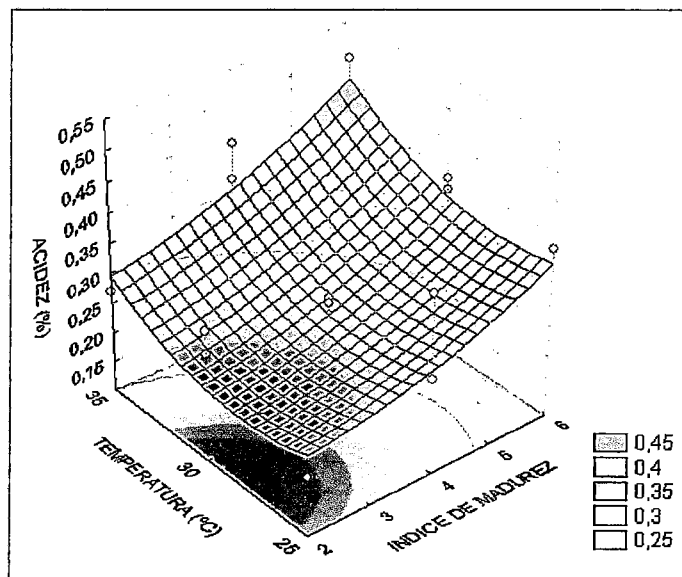


Figura N° 16: Diagrama de superficie de respuesta del efecto de índice de madurez y temperatura de batido sobre la acidez del aceite a tiempo de batido constante de 60 minutos.

Fuente: Elaboración propia.

5.4. EFECTO DE LA VARIABLES ÍNDICE DE MADUREZ, TEMPERATURA Y TIEMPO DE BATIDO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES

De acuerdo con los datos experimentales mostrados en el Cuadro N° 15, se establecieron los modelos de regresión completa para las características sensoriales de aroma y sabor.

CUADRO N° 15: Efecto de los Resultados de las Variables Independientes sobre las Características Sensoriales.

<i>Tratamiento</i>	X1	X2	X3	SABOR	AROMA
1	2	25	60	5,00	5,25
2	6	25	60	6,50	5,00
3	2	35	60	5,50	5,75
4	6	35	60	5,50	5,00
5	2	30	40	6,00	5,93
6	6	30	40	6,00	5,25
7	2	30	80	5,00	5,00
8	6	30	80	6,00	5,30
9	4	25	40	5,50	6,40
10	4	35	40	6,50	5,75
11	4	25	80	6,50	5,25
12	4	35	80	5,00	6,13
13	4	30	60	6,50	5,30
14	4	30	60	6,20	5,30
15	4	30	60	6,50	5,50

X1 = Índice de madurez

X2 = Temperatura de batido (°C)

X3 = Tiempo de batido (minutos)

Fuente: Elaboración propia

5.4.1 Efecto sobre el Sabor

En los niveles de significación del modelo de regresión completo (Cuadro N° 16), se observa que el sabor del aceite fue influido significativamente, por los efectos lineales, cuadráticos y de interacción de las variables índice de madurez (X_1), temperatura de batido (X_2) y tiempo de batido (X_3).

El análisis de varianza del modelo de regresión completo (Cuadro N° 17), elaborado a partir de los resultados del sabor del aceite, mostró un coeficiente de determinación de 0,9746 %.

El modelo presenta regresión altamente significativa $F_c = 21,31$ vs $F_t = 4,77$. Muestra, además, que el residuo no presenta falta de ajuste significativo $F_c = 0,69$ vs $F_t = 19,16$, por lo cual la ecuación se puede usar con fines de predicción.

CUADRO N° 16: Modelo de regresión completo y grado de significación de las variables independientes del sabor del aceite.

MODELO COMPLETO					
$Y_{\text{sabor}} = -22,463 + X_1 1,806 + X_1^2 -0,113 + X_2 1,280 + x_2^2 -0,013 + X_3 -0,213 + x_3^2 -0,0005 + X_1 X_2 -0,037 + X_1 X_3 0,006 + X_2 X_3 -0,006$					
Factores	Coefficientes	Std.Err.	t(2)	p < 0,05	
Intercepto	-22,46250	3,93	-5,72	0,029	S.
X ₁	1,80625	0,34	5,26	0,034	S.
X ₁ ²	-0,11250	0,02	-4,99	0,038	S.
X ₂	1,28000	0,23	5,68	0,030	S.
x ₂ ²	-0,01300	0,00	-3,61	0,069	N.S.
X ₃	0,21313	0,04	5,52	0,031	S.
x ₃ ²	-0,00050	0,00	-2,22	0,157	N.S.
X ₁ X ₂	-0,03750	0,01	-4,33	0,049	S.
X ₁ X ₃	0,00625	0,00	2,89	0,102	N.S.
X ₂ X ₃	-0,00625	0,00	-7,22	0,019	S.

X₁= Índice de Madurez; X₂= Temperatura de batido; X₃= Tiempo de batido.
 S = Significativo al 95 % de confianza; N.S = No significativo al 95 % de confianza.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 17: Análisis de varianza para el modelo completo para los resultados experimentales del análisis sensorial en el sabor del aceite.

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL MODELO COMPLETO					
Promedio	:	5,88	Coef. de Determinación R ² :	0,9700	
Desviación	:	0,16	Coef. de Variación C.V.:	2,27%	
Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F calculado	F tabla
Regresión	4,70	9	0,52	21,32	4,77 S.
Residuo	0,12	5	0,02		
Falta de ajuste	0,06	3	0,02	0,69	19,16 N.S.
Error puro	0,06	2	0,03		
Total	4,82	14			
Varianza explicada		:	97,00%		
Máxima Varianza explicada		:	98,79%		

S. = Significativo al nivel de 5 % de probabilidad

N.S. = No significativo al nivel de 5 % de probabilidad

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura N° 17 se presentan las curvas de nivel del modelo de regresión completo. Para las variables X₂ (temperatura de batido °C) y X₃ (tiempo de batido °C), se muestra una aceptación mayor de 6,439 en la escala hedónica; para el sabor en aceite es mayor de 6,0 (ver Anexo N° 04). Esto sucede para cuando la temperatura aumenta y el tiempo de batido disminuye a un nivel constante el valor 4 de índice de madurez. El contenido de polifenoles es parte responsables del amargor de los aceites (Hermoso y Uceda, 1991), y son influidos por el tiempo de batido, como se discutió anteriormente.

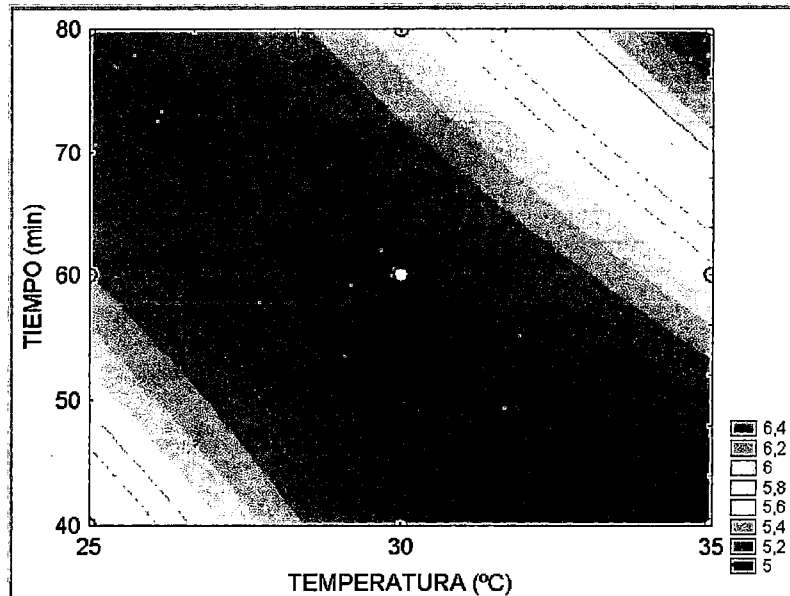


Figura N° 17: Curvas de nivel mostrando el efecto de temperatura y tiempo de batido en el sabor del aceite a índice de madurez constante de 4.

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura N° 18 se muestran las curvas de nivel del modelo matemático completo. Para las variables X_1 (índice de madurez °C) y X_2 (temperatura de batido °C), para un nivel constante de tiempo de batido de 60 minutos, a mayor índice de madurez y menor temperatura batido, se tiene una aceptación mayor de 6,439 en la escala hedónica para el sabor del aceite.

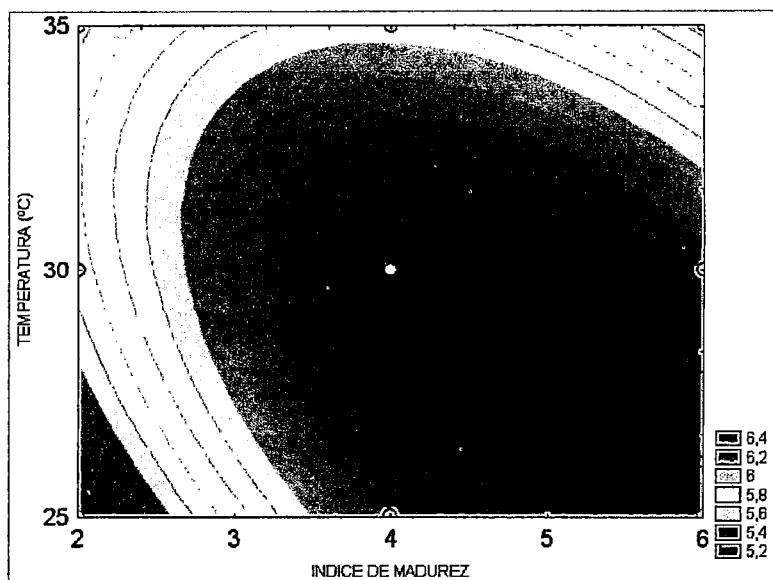


Figura N° 18: Curvas de nivel mostrando el efecto de índice de madurez y temperatura de batido, en el sabor a tiempo de batido constante de 60 minutos.

Fuente: Elaboración propia.

5.4.2 Efecto sobre el Atributo Aroma

En el nivel de significación del modelo de regresión completo (Cuadro N° 18), se observa que el aroma del aceite fue influido significativamente, por los efectos lineales, cuadráticos y de interacción de las variables índice de madurez (X_1), temperatura de batido (X_2) y tiempo de batido (X_3).

El análisis de varianza (ANVA) del modelo de regresión completo, mostrado en el Cuadro N° 19, elaborado a partir de los

resultados del aroma del aceite, mostró un coeficiente de determinación de 0,9667 %.

El modelo presenta regresión altamente significativa, donde $F_c = 16,14$ vs $F_t = 4,77$. Muestra, además, que el residuo no presenta falta de ajuste significativo, donde $F_c = 1,47$ vs $F_t = 19,16$; por lo cual la ecuación se puede usar con fines de predicción.

CUADRO N° 18: Modelo de regresión completo y niveles de significación de las variables independientes en el aroma del aceite.

MODELO COMPLETO					
$Y_{\text{Aroma}} = 21,366 + X_1 0,550 + X_1^2 - 0,0786 + X_2 - 0,636 + x_2^2 0,007 + X_3 - 0,245 + x_3^2 0,000 + X_1 X_2 - 0,012 + X_1 X_3 0,006 + X_2 X_3 0,003$					
Factores	Coefficientes	Std.Err.	t(2)	p < 0,05	
Intercepto	21,36583	2,62	8,16	0,015	S.
X_1	0,55042	0,23	2,41	0,138	S.
X_1^2	-0,07865	0,02	-5,23	0,035	S.
X_2	-0,63625	0,15	-4,23	0,052	N.S.
x_2^2	0,00792	0,00	3,29	0,081	S.
X_3	-0,24494	0,03	-9,52	0,011	S.
x_3^2	0,00079	0,00	5,29	0,034	S.
$X_1 X_2$	-0,01250	0,01	-2,17	0,163	N.S.
$X_1 X_3$	0,00613	0,00	4,24	0,051	S.
$X_2 X_3$	0,00383	0,00	6,63	0,022	S.

X_1 = Índice de Madurez; X_2 = Temperatura de batido; X_3 = Tiempo de batido. S = Significativo al 95 % de confianza; N.S = No significativo al 95 % de confianza.

Fuente: Elaboración propia.

CUADRO N° 19: Análisis de varianza para el modelo completo de los resultados experimentales del análisis sensorial en el aroma del aceite.

ANÁLISIS DE VARIANZA DEL MODELO COMPLETO					
Promedio	:	5,47	Coef. de Determinación R^2:	0,9667	
Desviación	:	0,13	Coef. de Variación C.V.:	2,37%	
Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F calculado	F tabla
Regresión	2,470	9	0,28	15,14	4,77 S.
Residuo	0,085	5	0,02		
Falta de ajuste	0,0587	3	0,02	1,47	19,16 N.S.
Error puro	0,0267	2	0,01		
Total	2,5642	14			
Varianza explicada	:	96,67%			
Máxima Varianza explicada	:	98,96%			

S. = Significativo al nivel de 5 % de probabilidad

N.S. = No significativo al nivel de 5 % de probabilidad

Fuente: Elaboración propia

En la Figura N° 19 se aprecian las curvas de nivel del modelo matemático completo, para las variables independientes, a nivel constante de tiempo de batido de 60 minutos; para el aroma del aceite se tiene una aceptación mayor de 5,736 en la escala hedónica, para cuando el índice de madurez está dentro de un rango de 2 a 4; y a una temperatura de batido de 34°C a 35°C.

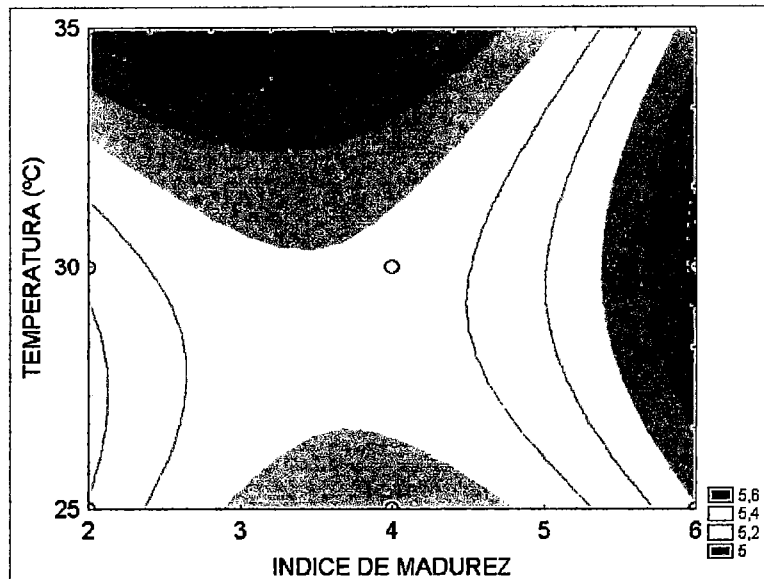


Figura N° 19: Curvas de nivel mostrando el efecto de índice de madurez y temperatura de batido del aroma del aceite; a tiempo de batido constante de 60 minutos.

Fuente: Elaboración propia

En la Figura N° 20 se muestran las curvas de nivel del modelo matemático completo. Para las variables X_2 (temperatura de batido °C) y X_3 (tiempo de batido °C), para un nivel constante de índice de madurez de 4, muestra que el aroma del aceite tiene una aceptación mayor de 6,439 en la escala hedónica; el comportamiento de temperatura y tiempo de batido es directamente proporcional.

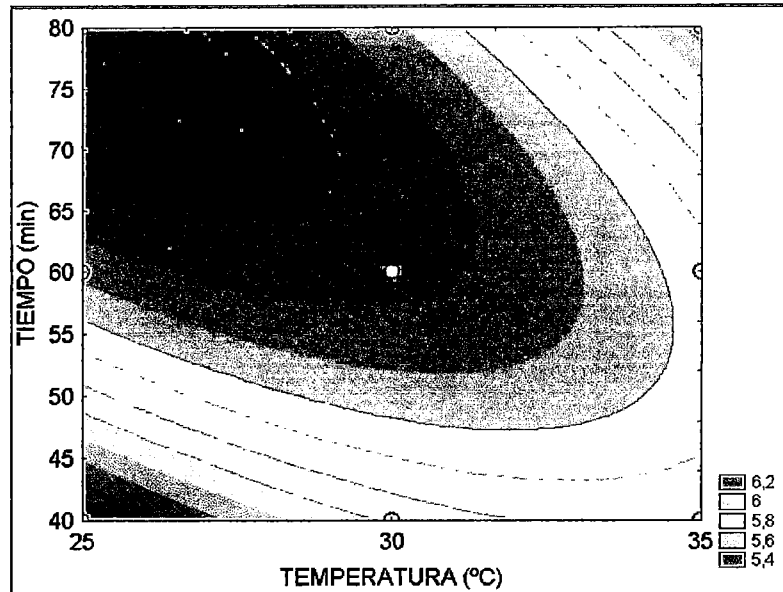


Figura N° 20: Curvas de nivel mostrando el efecto temperatura y tiempo de batido el aroma del aceite obtenido; constante el índice de madurez de 4.

Fuente: Elaboración propia.

5.5. OPTIMIZACIÓN MEDIANTE LA METODOLOGÍA DE LA FUNCIÓN DESEADA

Para lograr la optimización de compuestos fenólicos totales en la extracción del aceite de oliva, se usa la metodología de la función deseada, mediante el software estadístico Design – Expert 7,02. Optimizando primero las variables independientes de estudio, para encontrar el tratamiento óptimo de trabajo.

5.5.1. DETERMINACIÓN DE TRATAMIENTO ÓPTIMO

Luego de la optimización de las variables independientes, mediante la metodología de la función deseada, se presenta en el Cuadro N° 21 el tratamiento óptimo, es decir, con variables independientes óptimas y con resultados maximizados de fenoles totales, buen rendimiento y adecuada acidez.

CUADRO N° 20: Cuadro de resultados óptimos de las variables independientes y variables respuesta.

FACTORES	Criterio 1	Óptimo	Criterio 2	Óptimo
X1: Índice de madurez	En rango	3,2	En rango	2,4
X2: Temperatura batido	En rango	25	En rango	25,63
X3: Tiempo batido	En rango	80	En rango	55,66
Y1: Fenoles totales	maximizar	100,0	En rango	92,19
Y2: Rendimiento	maximizar	14,27	En rango	12,71
Y3: Acidez	En rango	0,51	En rango	0,38
Función deseada		0,81	En rango	1

Fuente: Elaboración propia.

Después de desarrollar la optimización se elige la combinación del **criterio 1**, como solución óptima en el presente trabajo de estudio, dado que presenta valores más adecuados de fenoles y rendimiento. Los valores de la función deseada de probabilidad (0,81) de las variables independientes son: índice de madurez 3,2, temperatura de batido 25°C y tiempo de batido 80 minutos. Y como variables respuestas maximizadas: fenoles totales 100,00 mg/kg ác. cafeíco, rendimiento 14,27% y acidez en rango de 0,51 %. Además, los valores de la función deseada son mayores que la solución correspondiente al **criterio 2**.

Según el criterio 2, la función deseada se acerca a la unidad (1,0). Pero los valores en fenoles totales y rendimiento son menores que los del criterio 1, por lo cual no es recomendable escoger este criterio.

Los valores de las variable independientes son: índice de madurez 2,4, temperatura de batido 25,63°C y tiempo de batido 55,66 minutos. Y como variables respuestas: fenoles totales 92,19 mg/kg ac. cafeico, rendimiento 12,71 % y acidez en rango de 0,38 %.

En la Figura 21 se muestra el comportamiento de las variables optimizadas de función deseada 0,813 de probabilidad que suceda.

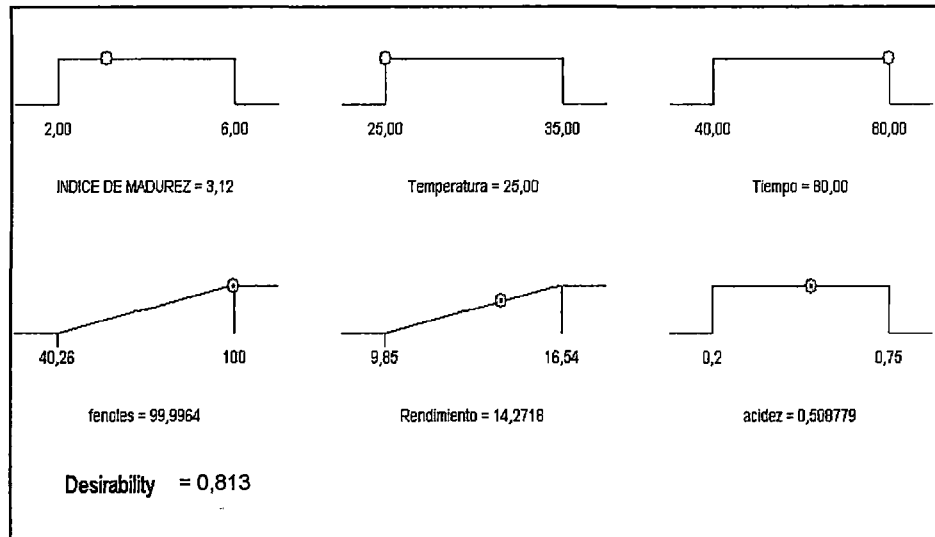


Figura N° 21: Gráficos de nivel mostrando el comportamiento de las variables independientes óptimas, sobre las variables respuestas.

Fuente: Elaboración propia. (Software Desing Expert 7,02)

En la Figura N° 22 se muestran las curvas de nivel realizadas mediante la metodología de la función deseada, por el software estadístico Design – Expert 7,02. En la curvas de nivel se muestran los valores óptimos, según la función deseada 0,813 de probabilidad el índice de madurez, temperatura y tiempo de batido óptimos encontrados.

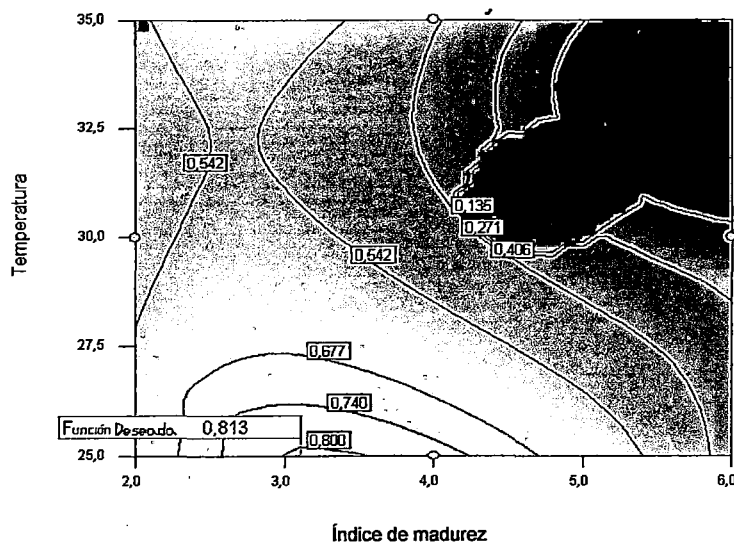


Figura N° 22: Curvas de nivel mostrando el índice de madurez, temperatura óptimos.

Fuente: Elaboración propia.

5.6 PRODUCTO TERMINADO

5.6.1 Análisis Físicoquímicos

En el Cuadro N° 22 se presentan los resultados de los análisis físicoquímicos de un aceite de oliva virgen normal y del aceite optimizado en función de las respuestas obtenidas, es decir, el tratamiento de variables óptimas del diseño. Según la función deseada (0,81), de las variables independientes, son: índice de madurez 3,2, temperatura de batido 25°C y tiempo de batido 80 minutos. Usando estos parámetros, luego de una prueba experimental real, se obtuvieron resultados luego de un día de obtención del aceite, que resultaron: polifenoles totales 118,2 mg /kg

ác. cafeico, índice de acidez 0,2 % e índice de peróxidos 3,39 meq O₂/kg.

CUADRO N° 21: Resultados de análisis químicos del tratamiento de las variables óptimas, en comparación con otros aceites de oliva.

DETERMINACIÓN DE ANÁLISIS	RESULTADOS V.Optimizado	Muestra A	Muestra B
Polifenoles (mg/kg ác. Cafeico)	118,2	54,2	28,2
Índice de acidez (%)	0,1	0,37	0,5
Índice de peróxidos (meq O ₂ /kg)	3,39	10,1	13,5
Espectrofotometría Ultravioleta K ₂₇₀	0,19	0,22	0,25

M(A)= M. Esperanza (2 meses), M(B):=M. Montefiori (3 meses), V= variable Opt
Fuente: Elaboración propia.

De los resultados obtenidos vistos en el Cuadro N° 22, se puede concluir que las respuesta encontradas están próximas y en rango para los criterios óptimos, según el Cuadro N° 21 de resultados óptimos. Esto confirma que las variables y los niveles de trabajo son adecuados.

Además, en este Cuadro N° 22 se presenta una comparación del aceite de oliva obtenido, de variables optimas, con otros aceites de oliva (características normales), donde se puede apreciar que el aceite de mayor tiempo de vida muestra (M.B), que tiene menores contenidos de polifenoles totales 28,2 ppm ac. cafeico asimismo,

aumenta la acidez (0,5 %), además es necesario mencionar que la muestra (M.B) es un aceite que fue obtenido por decanter.

5.6.2. Balance de Materia

En el Cuadro N° 23 se observan los datos de balance de masa y rendimiento para el aceite de oliva de mayor contenido de polifenoles totales. Se inició con un peso de 750 g de materia prima, que representa el 100 %, y, por efecto, las diferentes operaciones en el proceso de extracción como son: molienda, batido, prensado, decantado, etc., se obtuvo un rendimiento experimental de 14,40 %, un buen rendimiento.

El cuadro y el flujo de balance de masa, del tratamiento de las variables óptimas, se puede apreciar respectivamente en el Cuadro N° 23 y en el Anexo N° 10.

CUADRO N° 22: Balance de Masa.

Operación unitaria	Materia ingresa		Materia que sale		Materia que continua	
	g	%	g	%	g	%
Pesado	750		0		750	
Lavado	750	100 %	2	0,27 %	748	99,73 %
Molienda (g)	748	100 %	2,5	0,33 %	745,5	99,40 %
Batido (g)	745,5	100 %	1,5	0,20 %	744	99,47 %
Prensado (g)	744	99 %	150	20,12 %	594	79,68 %
Decantación sep. líquido (g)	594	99 %	486	65,32 %	108	14,52 %
Rendimiento	108				108	14,40 %

Fuente: Elaboración propia con software MS Excel XP.

5.6.3 Flujo Definitivo del Proceso de Investigación

En la figura N° 23, se presenta el flujo de operaciones definitivo con los resultados de los parámetros óptimos de trabajo, determinados según el estudio realizado para la optimización de polifenoles totales.

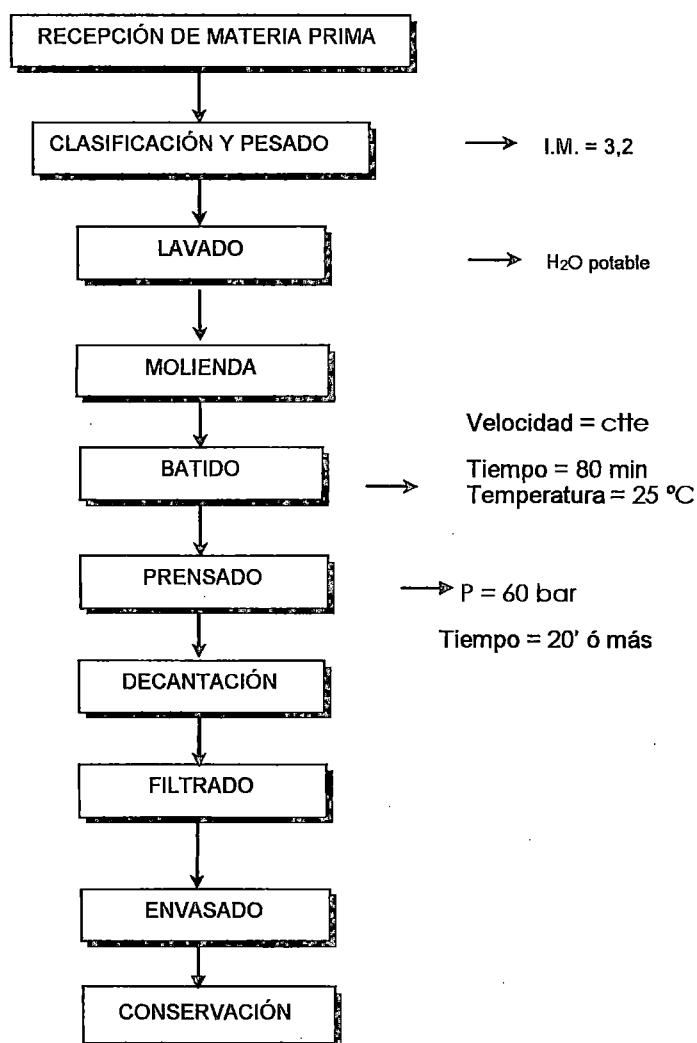


Figura N° 23: Flujo definitivo en la optimización de compuestos fenólicos totales en la extracción de aceite de oliva virgen.

Fuente: Elaboración propia.

CONCLUSIONES

1. Los parámetros más adecuados de las variables de estudio para la optimización de compuestos fenólicos totales en la extracción del aceite de oliva virgen de la variedad sevillana, usando la metodología de la función deseada, son: índice de madurez 3,2; temperatura de batido 25 °C grados celsius y tiempo de batido 80 minutos.
2. La optimización de los compuestos fenólicos totales, en función de las variables de estudio, da como resultado 100,00 mg / kg ác. cafeico, a una semana de obtención del aceite. El resultado real experimental utilizado en los valores óptimos de las variables de estudio es de 118,20 mg / kg ácido caféico, por lo que se concluye que los valores obtenidos por la metodología estadística utilizada (función deseada) se cumplen para una probabilidad de 81,3 %; ambos resultados se encuentran dentro del rango del contenido de polifenoles totales presentes en los aceites de 50 y 500 ppm de ácido caféico.
3. El rendimiento óptimo obtenido por medio de la metodología de la función deseada (criterio 1), en función de las variables de estudio es de 14,27 %; y el rendimiento real experimental óptimo es de 14,40 %; comprobando así que este valor se encuentra cercano al rango del criterio 1, por lo que se manifiesta que se obtuvo un buen rendimiento.

4. Los resultados experimentales de los análisis químicos evaluados al tratamiento en condiciones óptimas determinadas fueron: 0,2 % de acidez, 3,39 MeqO₂/kg de índice de peróxido y 0,19 de absorción ultravioleta K₂₇₀ de 0,51% de acidez. Estos valores son menores de acuerdo a lo permitido para estos análisis de aceite de oliva virgen. Por lo tanto, cumplen con la Norma de la Calidad Reglamentaria para el aceite de oliva del Consejo Oleícola Internacional (C.O.I.).

5. Los valores de las características sensoriales, evaluados a un mes de su obtención en función de las variables independientes, fueron de 6,5 para el sabor y 6,0 para el color, según la escala hedónica sensorial de rango 1 a 9. La interpretación es "me gusta un poco". Entonces hay aceptación en cuanto al sabor y aroma del producto. Esto se dio cuando el índice de madurez estuvo en un rango de 2 a 4, la temperatura de batido de 34°C a 35°C y el tiempo de batido constante a 60 minutos para el sabor. Para el aroma se da a temperatura menor de 25°C y tiempo máximo de 40 minutos a constante índice madurez de 4. El contenido de polifenoles es parte responsables de los aromas y características del aceite oliva.

VI. RECOMENDACIONES

1. Es necesario realizar un estudio sobre el contenido de compuestos fenólicos y la estabilidad oxidativa durante la conservación del aceite de oliva virgen.
2. Estudiar la bioactividad de los compuestos fenólicos en relación con la estabilidad oxidativa en las características sensoriales y su influencia en la calidad del aceite de oliva.
3. Estudiar la capacidad o poder antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva en comparación con otros antioxidantes.
4. Evaluar el amargor del aceite de oliva, y cómo influye en las características sensoriales, así como en la calidad del aceite de oliva virgen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **ALBA, J.** (1994). *Nuevas tecnologías par la obtención de aceite de oliva*. Editorial Agro Latino, S.L. Barcelona, España.
2. **ALCUBILLA, M.** (1971). *Polifenoles del liber del abeto rojo*. Tesis doctoral. Madrid, 206 pp.
3. **BARRANCO, D. RALLO, L.** (1998). *Épocas de maduración de cultivares de olivo*. Investigación Agraria, Córdoba, España.
4. **BARRANCO, D. RALLO, P.** (2000). *Are Oblonga and frantoio olives the same cultivar*. Trujillo, España.
5. **BARRANCO, D. FERNANDEZ, R.** (2000). *Elaboración del aceite de oliva virgen*. en: *El cultivo del olivo*. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca, Editorial Mundi-Prensa, Madrid– España.
6. **BELTRÁN, G., JIMENEZ, A. y UCEDA, M.** (1995). *Efecto del régimen hídrico del cultivo sobre la fracción fenólica del aceite de oliva, variedad Arbequina*. 1er Simposium de olivera. Les Borges Blanques. España.
7. **BOSKOU, D.** (1998). *Química y Tecnología del Aceite de Oliva*. AMV Ediciones, Editorial, Mundi Prensa, Madrid, España.
8. **CIVANTOS, L., CONTRERAS, R y GRANA, R.** (1992). *Obtención del aceite virgen*. Editorial Agrícola Española, Madrid, España.
9. **FAO-INIA** (1975). *Manual de Elaiotecnia*, Editorial Agrícola Española- Madrid, España.

10. **FRIAS, L. GARCIA, A.**, (1991). *Análisis de laboratorio de almazara*. Editorial Dirección G. de Investigación y Extensión Agraria, Centro de información agraria. Publicación de la Junta de Andalucía. Sevilla, España.
11. **GIOVACHINO, D. L.** (1991). *Extracción del aceite de las aceitunas por presión, centrifugación y percolación efecto de las técnicas sobre los rendimientos en aceite de oliva*, Madrid, España.
12. **GUTIERREZ, GONZALES y QUIJANO, R. C.L.** Janer del Valle, M.L. **GUTIERREZ ROSALES, F y VAZQUEZ RONCERO. A** (1977). Relación entre los polifenoles, la calidad y la estabilidad del aceite de oliva virgen. *Grasa y Aceites*.
13. **HERMOSO, M.** (1997). *El cultivo del olivo*. Ediciones Mundi Prensa, Madrid, España. Pág.: 145-162.
14. **HERMOSO, M. UCEDA. M.** (1991). *Elaboración de aceite de oliva de calidad*. Dirección General de Investigación, Tecnológica y Formación Agroalimentaria y Pesquera. Junta de Andalucía, España.
15. **HUMANES, J.** (1992). *Producción de aceite de oliva de calidad influencia del cultivo*. Ediciones Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca, España.
16. **KING, YOUNG,** (1999). *Characteristics and occurrence of phenolic phytochemical*. *J Am Diet Assoc*.
17. **MARTINEZ, I. PERIAGO.** (2000). *Significado nutricional de los compuestos fenólicos*. Universidad de Murcia, España

18. **MIRANDA, G. E.** (2003). *Optimización del rendimiento del proceso de extracción del aceite de oliva virgen de la var. sevillana*. Tesis, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann , Tacna, Perú
19. **MONTGOMERY, DOUGLAS C.** (1991). *Diseño y análisis de experimentos*. Grupo Editorial Iberoamericano, México.
20. **MURILLO, J.** (1993). *El aceite de oliva virgen*. Editorial Librería General, Zaragoza, España.
21. **PRICE, M. SCOYOC y BUTLER.** (1978). *Critical evaluation of the reaction as an assay for in sorghum grain* .J. agric. Food Chem.
22. **RAMOS, E. MUÑOZ, J.** (2005). VII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos - Lambayeque, Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, Universidad san Martín de Porres, Lima, Perú.
23. **RECHNER AR, SPENCER JP.** (2001). *Novel biomarkes of the metabolism of caffeic acid derivatives in vivo*. Free Radical Biology and Medicin 30(11): 1213-1222.
24. **RODRÍGUEZ E., ANDRADA C y PÉREZ A.** (2003). *Momento oportuno de cosecha de aceituna*. Madrid, España.
25. **SAKIHAMA Y, COHEN, MF. YAMASAKI.** (2002). *Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities; phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants*. Toxicology. 177: 67-80.
26. **VASQUEZ, R.A. y GRACIAN C.E.** (1971). *Cambios en los polifenoles de la aceituna durante la maduración*. Grasa y Aceite.

27. **WESTFALIA SEPARATOR.** (2005). 1er Encuentro Nacional de Mantenedores y Operadores de Planta de Extracción de Aceite de Oliva, Mechanical Separation División Chile S.A.
28. **AGRO INFORMACIÓN.** *Aceite de oliva. calidad del aceite de oliva.*
www.infoagro.com/olivo/aceite_de_oliva.asp.2005.
29. **BIBLIOTECA DE INFORMACIÓN MÉDICA.** *Sobre el aceite de oliva.*
www.europa.eu.int/comm/agriculture/prom/olive/medinfo/es/media/press.t
30. **COMPUESTOS FENÓLICOS.** *Los compuestos fenólicos, los taninos y azúcares y alcoholes alifáticos.*
www.Portalfarma.com/.../general/gp00011.nsf/04DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/\$File/web_fenolicos.htm_101k.
31. **COMPUESTOS FENÓLICOS.** *Fenoles simples, ácido vainílico, ácido cumárico, ácido cafeico, el tirosol.*
www.hojiblancaycordoliva.com/historia%20del%20aceite%20de%20oliva/parte_1htm-24k
32. **DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE FENOLES.** (2003): *Reactivo de Folin.*
www.Reduc.edu.cu/CEDEPA/pags/archlabca/proced/factores/factores.html.
33. **ESPÍNOLA, FRANCISCO y LÓPEZ, ALBERTO.** (2004). (Universidad de Jaén). *Información general sobre el aceite de oliva en España. Olivicultura, variedades, denominaciones de origen.*
www.ujaen.es/huesped/aceite.htm.

34. **EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE OLIVA.** *Los compuestos fenólicos totales del fruto del olivo, el aceite del olivo.*
www.congresosnavarra.com/cesia2004/ponencias/IPA/IPA_27_PDF.
35. **MATE.** (1996). *Análisis del sector del aceite de oliva.*
www.ujaen.es/huesped/aceite/articulos/paper.htm.
36. **HORTICOM, N; PEREZ, GARCÍA y CARLOS,** (2004). *Poscosecha de la aceituna y calidad del aceite de oliva, Instituto de la Grasa,*www.poscosecha.com/pos_article.php?temav=id=58569n_ses=210-95k.
37. **OBTENCIÓN DEL ACEITE DE OLIVA DE CALIDAD.**
www.ujaen.es/huesped/aceite/informacion.htm.
38. **VALOR TOTAL DEL POLIFENOL EN EL ACEITE DE OLIVA.** (2004)
www.oxitest.com/Polifenoli_sp.pdf.

ANEXOS

ANEXO N° 01

TABLA PARA DETERMINAR EL ÍNDICE DE MADUREZ EN LA ACEITUNA.

ÍNDICE DE MADUREZ

Se utiliza para determinar el momento óptimo de recogida de la aceituna. Para su cálculo se toman 2 kg de aceitunas situadas a la altura del operador y en las cuatro orientaciones del árbol. Se separan 100 frutos y se clasifican en las siguientes categorías:

0. Piel verde intenso
1. Piel verde amarillento.
2. Piel verde con manchas rojizas, en menos de la mitad del fruto. Inicio de envero.
3. Piel rojiza o morada en más de la mitad del fruto. Final de envero.
4. Piel negra y pulpa blanca.
5. Piel negra y pulpa morada sin llegar a la mitad de la pulpa.
6. Piel negra y pulpa morada sin llegar al hueso.
7. Piel negra y pulpa morada totalmente hasta el hueso.

Se llama **Índice de Madurez** al sumatoria del número de frutos de cada categoría por el valor numérico de su categoría dividido por 100, es decir, siendo A,B,C,D,E,F,G,H el número de frutos de cada categoría 0;1;2;3;4;5;6 y 7 respectivamente, el índice de madurez es:

$$IM = (A \times 0 + B \times 1 + C \times 2 + \dots + H \times 7) / 100$$

Fuente: Rodríguez, *et al.* (2003).

ANEXO N° 02

CUADRO DE CALIDADES DEL ACEITE DE OLIVA

Denominación	Definición
ACEITE DE OLIVA "VIRGEN EXTRA"	<ul style="list-style-type: none"> · Aroma y sabor impecables, limpios y francos. · Puntuación en el test de cata: Superior a 6,5. · Acidez máxima: 1 %
ACEITE DE OLIVA "VIRGEN"	<ul style="list-style-type: none"> · Aroma y sabor impecables, limpios y francos. · Puntuación en el test de cata: Superior a 5,5. · Acidez máxima: 2 %
ACEITE DE OLIVA "VIRGEN CORRIENTE"	<ul style="list-style-type: none"> · Aroma y sabor aceptables. · Puntuación en el test de cata: Superior a 3,5. · Acidez máxima: 3,3 %
ACEITE DE OLIVA "VIRGEN LAMPANTE"	<ul style="list-style-type: none"> · No apto para el consumo directo. · Se destina a la refinación para elaborar Aceite de Oliva refinado.
ACEITE DE OLIVA (*)	<ul style="list-style-type: none"> · Obtenido mediante la mezcla de aceite de oliva refinado y aceite de oliva virgen. · Aroma y sabor que varían de suaves a medios, dependiendo de la cantidad y calidad del Aceite de Oliva Virgen empleado. · Acidez máxima: 1,5 %
<p>(*) Conviene insistir para que el consumidor tenga claro lo que elige; <u>que cuando compra una botella que dice simplemente ACEITE DE OLIVA, está comprando una mezcla de Aceite Refinado de Oliva y Aceite de Oliva Virgen, y que cuando ve un 0,4° ó 1° de Acidez Máxima significa normalmente que el 0,4° puede tener alrededor de un 10% de Aceite de Oliva Virgen y sabor inapreciable; y el de 1° entre un 40% y un 60% de Virgen con un sabor más intenso (gustoso).</u></p>	

Fuente: www.aceitesborges.es

ANEXO N° 03

LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN LOS DIVERSOS ALIMENTOS.

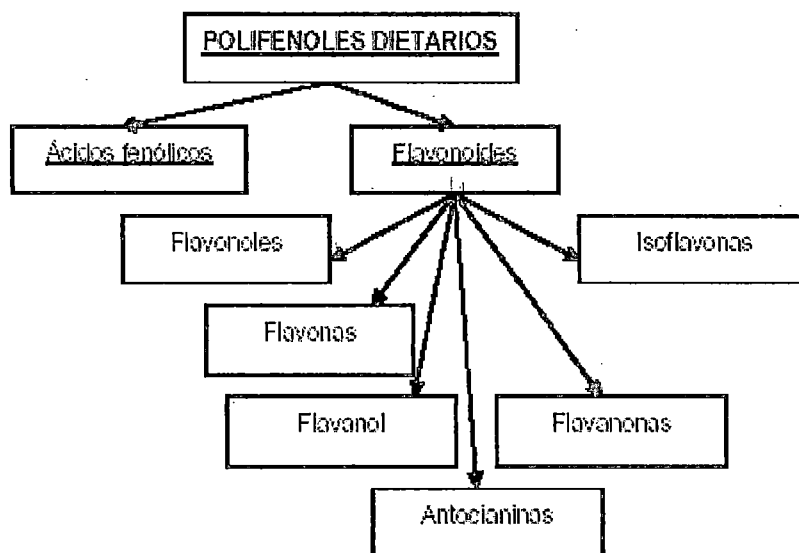


Figura: Polifenoles dietarios presentes en los alimentos de origen vegetal
Fuente: Serafín *et al.*, (1998).

Alimentos que contienen Compuestos Fenólicos:

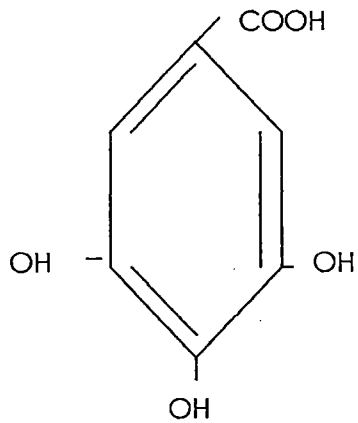
Tipo de compuesto fenólicos	Alimento o Bebida
Flavonoides	Aceituna, cebolla, col, lechuga arándano, brócoli, manzana, judías, endibia, té, apio, pera, vino tinto, blanco, soja.
Ácidos fenólicos	Arándano, cerezas, pera, manzana, naranja, patata, uva, cereza, frambuesa, fresa, café, zumo de uva.
Polifenoles	Lentejas, guisantes, vino tinto, blanco, zumo de uva.

Fuente: King, (1999).

ANEXO N° 04

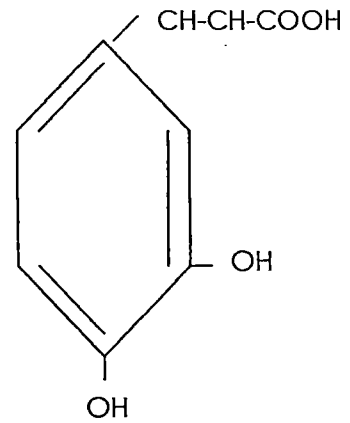
ESTRUCTURA DE LOS PRINCIPALES ÁCIDOS FENÓLICOS

Ácido Gálico



C₇ H₁₀ O₅
PM=174 g/mol

Ácido Cafeico



C₉ H₁₁ O₄
PM=183 g/mol

Ácido Tánico

C₇₆ H₅₂ O₄₆
PM=1700 g/mol

ANEXO N° 05

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DEL ACEITE DE OLIVA

1. Acidez Libre o Grado de Acidez

Procedimiento:

La muestra, previamente filtrada, se pesa, en un matraz Erlenmeyer de 250 ml de capacidad unos 5-10 g de aceite (según grado de acidez previsto). Se añade 50 ml de solución de éter etílico, previamente neutralizada. Se agitar hasta conseguir la disolución de la grasa, se le añaden unas gotas de fenoltaleína al 1 % y se valora con hidróxido potásico 0,1 N, hasta que una sola gota produzca el viraje rosa debe permanecer unos segundos del indicador fenoltaleína. Expresión de la acidez en porcentaje de ácido oleico.

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

2. Índice de Peróxidos

Procedimiento:

Pesar en un matraz de 250 ml. De cierre esmerilado, con su tapón, previamente limpio y seco. Añadir 1,2 a 2 g de aceite lo más rápidamente posible. Agregar 25 ml de mezcla de cloroformo ácido acético en la proporción de 10 partes Cloroformo y 15 de ácido acético. Agregar 1ml, de solución saturada de Yoduro Potásico.

- Cerrar el matraz
- Agitar durante un minuto
- Mantener durante 5 minutos en la oscuridad
- Agregar 75 ml, de agua destilada y agitar vigorosamente.
- Valorar el yodo liberado con tiosulfato sódico (0,01N) agitando en presencia de almidón (indicador).

El viraje se reconoce cuando cambie el color de violeta la blanco sucio. Después de cada adición de tiosulfato, hay que agitar con fuerza. Igual pero sin aceite realizar una prueba en blanco.

$$\text{IP (meq O}_2\text{/kg aceite)} = \frac{(V-V_0) \times N \times 1.000}{P}$$

V = ml tiosulfato gastados en el ensayo

V₀ = ml de tiosulfato gastados en el ensayo en blanco

N = Normalidad del tiosulfato sódico

P = Peso en gramos de aceite

3. Absorción Espectrofométrica Ultravioleta (K₂₃₂, K₂₇₀)

Procedimiento:

Se pesan 0,2 g de aceite filtrado en un matraz de 10 ml. Se agrega ciclohexano hasta el enrase, se tapa y se agita. Empleando ciclohexano con referencia, se llenan las cubetas, una con el disolvente sólo y otra con la solución de la muestra y se mide la extinción a 270nm. La lectura debe estar comprendida entre 0,1 y 0,8. Es conveniente hacer dos lecturas y hallar la medida.

$$\text{El Coeficiente } K_{270} = \frac{L}{C \times c}$$

L = Lecturas a 270 nm
C = [] de muestra (g /100cc)
c = Espesor cubeta en cm

ANEXO N° 06

EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES.

Procedimiento:

Mediante una extracción líquido –líquido, pesar 120 g de aceite en un matraz, colocar 120 ml de hexano y posteriormente se extrae con 120 ml de metanol/agua (60/40 v/v) en atmósfera de nitrógeno (es decir, ambiente sin oxígeno). La fase metanólica se reextrajo con 60 ml de hexano para eliminar los residuos lipídicos, y estos se separaron por centrifugación (4000 rpm por 15 minutos) y la fase metanólica se recogió y se evaporó para su sequedad a una temperatura de 35°C. El residuo se mezcla con 20 ml de metanol. A continuación se muestran los gráficos del proceso.

Descrito, por *Price y Butler*, y modificado por **Bartolomé** et al, (1995).

Separación del aceite extracto hidroalcohólico (compuestos insaponificables) y la grasa de aceite (fracción saponificable). Tal como se muestra a continuación en la figura.



Figura: Separación de la grasa y el extracto hidroalcohólico

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N° 07

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE FENOLES TOTALES

Se presenta dos formas de procedimiento analíticos:

1. Procedimiento Analítico

Principio: Los compuestos fenólicos (principalmente *polifenoles*) se determinan haciendo reaccionar los componentes de la bebida con el reactivo folin-ciocalteu, esta reacción es característica para compuestos que tienen un grupo hidroxilo unido a un anillo benceno. El reactivo folin-ciocalteu tiene una coloración amarilla que en presencia de fenol se toma azul. La intensidad de color se mide espectrofotométricamente. Los resultados se expresan en mg/kg aceite en ácido cafeico o equivalente de pirogalol.

Reactivos

Reactivo de *Folin Ciocalteau* (1N), diluya 1:1 en agua (mantener a 4°C).
Solución 5N de NaOH o Na₂ CO₃ al (20 %).
Solución *standard* de 50 ppm de ácido tánico.

Método de serie de patrones

1. Se toma 1 ml de extracto hidroalcohólico de la muestra, filtrado, y se lleva a un volumen de 100 ml de H₂O destilada. Se toma 10 ml de esta solución y se traspasa a un volumen de 50 ml.
2. Se agrega 1 ml de reactivo Folin y 1ml de NaOH 5N o 2,5 ml de Na₂ CO₃ al (20%), se mezcla y se enraza con agua destilada.
3. Se espera 5 minutos y se realiza la lectura en un espectrofotómetro a 670 nm nanómetros.
4. Se prepara una serie de patrones con concentraciones de 0; 2; 4; 6 y 8 ppm utilizando una solución patrón de ácido tánico de 50 ppm y completando con agua destilada hasta 10 ml, en volumétricos de 50 ml.

Punto	ml de sol. 50 ppm	ml agua	Folin
1	0	10	1
2	2	8	1
3	4	6	1
4	6	4	1
5	8	2	1

5. Se realiza el ajuste por mínimos cuadrados de la curva de absorbancia vs. Concentración y se calcula las concentraciones de la muestras, tener en cuenta el factor de dilución.

Fuente: www.Reduc.edu.cu/CEDEPA/pags/archlabca/proced/factores/factores.htm

2. Procedimiento Analítico

Reactivos:

Carbonato de sodio 7,5%; Reactivo Folin ciocalteu: diluido 10 veces;

Piragalol (50 μ g/ml) (ácido gálico)

Bebida diluida: se diluye en agua de manera que 0,4 ml de la dilución de una lectura ente 0,3 – 0,8nm.

Procedimiento:

Se adiciona en orden, piragalol, agua (o bebida diluida), bicarbonato y por ultimo Folin diluido, cantidades tal como aparecen en la siguiente tabla. la mezcla se coloca en baño de agua a 45°C por 20 minutos. Se lee la absorbancia a 765 nm., contra el blanco (B). Para determinar la concentración de polifenoles en la bebida se utiliza la curva preparada con los patrones y la dilución de la muestra.

Tubos	Agua	Ácido gálico	Folin	Na ₂ CO ₃	Extracto
P1	0,8	0,2	2,5	2,0	0
P2	0,6	0,4	2,5	2,0	0
P3	0,4	0,6	2,5	2,0	0
P4	0,2	0,8	2,5	2,0	0
P5	0,0	1,0	2,5	2,0	0
B	1,0	0,0	2,5	2,0	0
M1	0	0	2,5	2,0	0,4
M2	0	0	2,5	2,0	0,4

- Sistema de tubos para la curva patrón de compuestos fenólicos



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 08

FICHA DE ANÁLISIS SENSORIAL

Nombre y Apellidos:

Fecha:

PRODUCTO: ACEITE DE OLIVA EXTRA-VIRGEN

PRUEBE Y EVALUE CADA MUESTRA CODIFICADA, USANDO LA ESCALA HEDÓNICA, SEGÚN SU CRITERIO, PARA DESCRIBIR SU NIVEL DE AGRADO Y DESAGRADO PARA CADA ATRIBUTO.

N° DE MUESTRA

- | | |
|---|----------------------------|
| 9 | ME GUSTA EXTREMADAMENTE |
| 8 | me gusta mucho |
| 7 | me gusta ligeramente |
| 6 | me gusta un poco |
| 5 | ME ES INDIFERENTE |
| 4 | me disgusta poco |
| 3 | me disgusta ligeramente |
| 2 | me disgusta mucho |
| 1 | ME DISGUSTA EXTREMADAMENTE |

En relación al color

En relación al sabor

En relación al aroma

OBSERVACIONES

.....
.....

ANEXO N° 09

Calidad Reglamentaria R. C.E N° 2568/91. Para el aceite de oliva. Última modificación Reglamento CE N° 656/95.

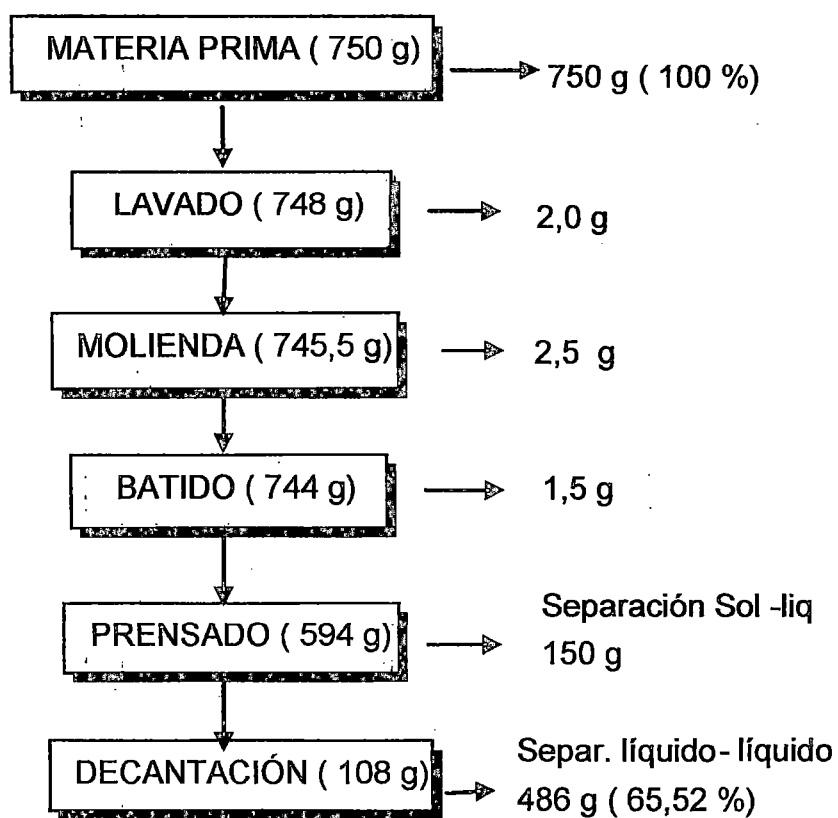
Categorías	acidez %	I. Peróxidos meq/O ₂ /kg	Solventes halogenados mg/kg	Colesterol %	K232	K270	ΔK	Panel Test.
A. Oliva Virgen Extra	M 1,0	M 20	M 0,20	M 0,5	M 2,50	M 0,20	M 0,01	m 6,5
A. Oliva Virgen	M 2,0	M 20	M 0,20	M 0,5	M 2,60	M 0,25	M 0,01	m 5,5
A. Oliva Virgen Corriente	M 3,3	M 20	M 0,20	M 0,5	M 2,60	M 0,25	M 0,01	m 3,5
A. Oliva Virgen Lampante	M 3,3	> 20	M 0,20	M 0,5	M 3,70	M 0,25	-	< 3,5
A. Oliva Refinado	M 0,5	M 5	M 0,20	M 0,5	M 3,40	M 1,20	M 0,16	-
Aceite de Oliva	M 1,5	M 15	M 0,20	M 0,5	M 3,30	M 1,00	M 0,13	-
A. Orujo de Oliva Crudo	M 2,0	-	-	M 0,5	-	-	-	-
A. Orujo de Oliva Refinado	M 0,5	M 5	M 0,20	M 0,5	M 5,50	M 2,50	M 0,25	-
A. Orujo de Oliva Refinado	M 1,5	M 1,5	M 0,20	M 0,5	M 5,30	M 2,00	M 0,20	-

Donde: M = máximo y m = mínimo

Fuente: Uceda, M y Hermoso, M (1997).

ANEXO N° 10

BALANCE DE MASA Y RENDIMIENTO DEL ACEITE DE OLIVA



Fuente: Elaboración propia.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Rendimiento Aceite}}{\text{Materia prima}} \times 100$$

Rendimiento = 14,40 %