

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias

ESTUDIO DE TÉCNICAS DE REDUCCIÓN DEL

TIEMPO DE FERMENTACIÓN EN ACEITUNAS

NEGRAS (*Olea europaea sativa* L.),

VARIEDAD SEVILLANA

DE TACNA

TESIS

Presentada por:

Bach. CARMEN BEATRIZ TICONA PARI

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

TACNA - PERÚ

2024

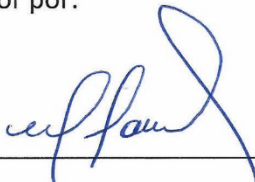
UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias

**ESTUDIO DE TÉCNICAS DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE
FERMENTACIÓN EN ACEITUNAS NEGRAS (*Olea
europaea sativa* L.), VARIEDAD SEVILLANA
DE TACNA**

Tesis sustentada y aprobada el martes 20 de junio del 2006, estando conformado el jurado calificador por:

Presidente : 
Dr. MIGUEL ANGEL LARREA CESPEDES

Secretario : 
Dr. SAMUEL ROMAN CERRO RUIZ

Vocal : 
Dr. ENRIQUE ALFONSO DE FLORIO RAMIREZ

Asesor : 
Dra. LILIANA DEL CARMEN LANCHIPA BERGAMINI

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo Liliana del Carmen Lanchipa Bergamini en mi condición de asesor acreditado por la Resolución de Facultad N° 1991-2003-FAIA de la tesis de investigación titulado:

ESTUDIO DE TÉCNICAS DE REDUCCIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN EN ACEITUNAS NEGRAS (*Olea europaea sativa* L.), VARIEDAD SEVILLANA DE TACNA.

Presentado por Bachiller CARMEN BEATRIZ TICONA PARI para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias.

Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual TURNITIN cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es 06 %. Por lo que **CERTIFICO LA SIMILARIDAD** de la TESIS está de acuerdo al nivel PERMITIDO, para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio Institucional.

Se emite el presente certificado con fines de continuar con los trámites respectivos para su obtención del título profesional.



DNI: 00427135

Dra. Liliana del Carmen Lanchipa Bergamini
Asesor



DEDICATORIA

A mis queridos padres quienes siempre me apoyaron para el logro de mis metas. A mi esposo y a mis hijas por ser mi fuente de motivación e inspiración para mi constante superación.

AGRADECIMIENTOS

A todos los profesores que me apoyaron con su tiempo, entendimiento e información para esta investigación, gracias por su experiencia, tiempo y conocimientos.

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
1.1 Generalidades sobre el olivo.....	4
1.1.1 Caracteres generales.....	4
1.1.2 Clasificación taxonómica.....	4
1.1.3 Situación del cultivo del olivo y su industria en el Perú.....	5
1.1.4 Variedades.....	8
1.2 Aceituna de mesa.....	9
1.2.1 Definición.....	9
1.2.2 Composición química de la aceituna.....	9
1.2.3 Desarrollo y maduración del fruto.....	13
1.2.4 Clasificación de las aceitunas de mesa.....	15
1.3 Operaciones generales en el procesamiento de aceituna de mesa.....	16
1.3.1 Recolección.....	16
1.3.2 Lavados.....	17

1.3.3	Colocación en salmuera y fermentación.....	18
1.4	Fermentación a bajas concentraciones salinas.....	20
1.4.1	Bacterias importantes en la fermentación láctica.....	22
1.4.2	Cambios durante la fermentación.....	24
1.4.3	Pérdida de humedad.....	25
1.5	Problemas y alteraciones post-fermentación.....	25
1.5.1	Ablandamiento.....	25
1.5.2	Crecimiento de levaduras superficiales.....	26
1.5.3	Alambrado.....	27
1.6	Aditivos usados en fermentación.....	28
1.7	Clorinación del agua.....	29
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....		31
2.1	Lugar de ejecución.....	31
2.2	Materiales.....	31
2.2.1	Materia prima.....	31
2.2.2	Insumos.....	31
2.2.3	Reactivos y medios de cultivo.....	32
2.2.4	Materiales de vidrio.....	32

2.2.5	Utensilios.....	33
2.3	Equipos.....	33
2.3.1	De proceso.....	33
2.3.2	De análisis y control.....	33
2.4	Metodología.....	35
2.4.1	Análisis de la materia prima.....	35
2.4.1.1	Evaluación del índice de madurez en la materia prima.....	35
2.4.2	Procedimiento.....	38
2.5	Análisis estadístico.....	43
2.6	Métodos de análisis.....	44
2.6.1	Análisis proximal.....	44
2.6.2	Análisis fisicoquímicos.....	44
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS E IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES.....		46
3.1	Formulación de la hipótesis.....	46
3.2	Identificación de variables e indicadores.....	46
3.2.1	Variables.....	46
3.2.1.1	Variables independientes.....	46
3.2.1.2	Variables dependientes.....	46

3.2.2	Indicadores.....	46
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIONES.....		48
4.1	Análisis de la materia prima.....	48
4.1.1	Análisis químico de la materia prima.....	48
4.2	Evaluación del índice de madurez.....	52
4.3	Procesamiento de aceitunas negras utilizando el método tradicional.....	53
4.3.1	Análisis fisicoquímicos durante la fermentación tradicional.....	53
4.3.2	Análisis microbiológico.....	56
4.4	Procesamiento de aceitunas negras utilizando el método acelerado.....	57
4.4.1	Análisis fisicoquímicos durante la fermentación acelerada.....	57
4.4.2	Análisis microbiológicos durante la fermentación acelerada.....	63
4.5	Análisis estadístico de datos - evaluación sensorial.....	66
4.5.1	Efecto de las técnicas de incrementos de concentración salina y tiempos de permanencia a cada concentración en el atributo color.....	66
4.5.2	Efecto de las técnicas de incrementos de concentración salina y tiempos de permanencia a cada concentración	

en el atributo sabor.....	68
4.5.3 Efecto de las técnicas de incrementos de concentración salina y tiempos de permanencia a cada concentración en el atributo textura.....	69
4.6 Análisis del producto terminado.....	70
4.6.1 Análisis químico.....	70
4.7 Análisis del producto en almacenamiento.....	74
4.7.1 Análisis químico del producto en almacenamiento.....	74
4.7.2 Análisis microbiológico del producto en almacenamiento.....	75
4.8 Análisis sensorial.....	76
4.9 Flujo definitivo.....	76
CONCLUSIONES.....	80
RECOMENDACIONES.....	82
BIBLIOGRAFÍA.....	83
ANEXOS.....	86

ÍNDICE DE CUADROS

N°		Pág.
1.	Superficie cosechada de las principales variedades de Tacna (2004)	6
2.	Composición química de las aceitunas variedad sevillana (contenido en 100 g de pulpa fresca)	13
3.	Escala para la obtención del índice de madurez de la aceituna.....	36
4.	Composición química de la pulpa de la aceituna negra sin procesar.....	52
5.	Análisis del pH y acidez de la salmuera durante el proceso de fermentación de la aceituna negra – método tradicional (90 días).....	55
6.	Resultados del análisis microbiológico de la aceituna fermentada mediante el método tradicional.....	57
7.	Análisis físico – químico de la salmuera durante el proceso de fermentación de la aceituna – Diseño Experimental.....	58
8.	Recuento de bacterias lácticas, hongos y levaduras durante la fermentación de aceitunas negras – método acelerado.....	64
9.	Análisis de la composición química de la aceituna procesada mediante fermentación tradicional.....	72
10.	Análisis de la composición química de la aceituna procesada	

	mediante fermentación acelerada.....	73
11.	Composición química de la aceituna negra después de 45 días de almacenamiento.....	74
12.	Resultados del análisis microbiológico de aceituna negra fermentada bajo el método acelerado.....	75
13.	Resultados de la prueba Ranking para la aceptabilidad de aceitunas negras producto final.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Nº	Pág.
1.	Aceituna negra (<i>Olea europaea sativa</i> L.), variedad sevillana.....7
2.	Fibra fermentadora pequeña, de 10 Kg de capacidad.....34
3.	Foto de la aceituna negra (<i>Olea europaea sativa</i> L.), variedad sevillana con índice de madurez 6.....37
4.	Diseño experimental para la determinación de la técnica de mejores condiciones en la fermentación de la aceituna negra variedad sevillana.....45
5.	Variación del pH en la salmuera durante la fermentación de la aceituna negra – método tradicional (90 días)55
6.	Variación de la acidez en la salmuera durante la fermentación de la aceituna negra – método tradicional (90 días).....56
7.	Evolución del pH en las diferentes técnicas de fermentación acelerada.....60
8.	Valores promedio de pH de las diferentes técnicas de fermentación acelerada61
9.	Producción de ácido láctico en las diferentes técnicas de fermentación acelerada.....62

10.	Valores promedio de producción de ácido láctico en las diferentes técnicas de fermentación acelerada.....	63
11.	Crecimiento de bacterias lácticas, hongos y levaduras en las diferentes técnicas durante la fermentación acelerada.....	65
12.	Promedio de calificación para el atributo color del producto final obtenido por las diferentes técnicas de fermentación acelerada.....	67
13.	Promedio de calificación para el atributo sabor del producto final obtenido por las diferentes técnicas de fermentación acelerada.....	68
14.	Promedio de calificación para el atributo textura del producto final obtenido por las diferentes técnicas de fermentación acelerada.....	69
15.	Resultados de las sumatorias de la prueba de Ranking.....	77
16.	Diagrama de flujo definitivo para la fermentación de aceitunas negras (<i>Olea europaea sativa</i> L.), variedad sevillana, procesada bajo el método acelerado.....	78
17.	Aceituna negra (<i>Olea europaea sativa</i> L.), variedad sevillana Procesada bajo el método acelerado.....	79

ÍNDICE DE ANEXOS

N°		Pág.
1.	Análisis de covarianza y prueba de significancia para la evaluación del pH.....	87
2.	Análisis de covarianza y prueba de significancia para la evaluación de la acidez	88
3.	Análisis de covarianza y prueba de significancia para la evaluación del color.....	89
4.	Análisis de varianza y prueba de significancia para la evaluación del sabor	90
5.	Análisis de varianza y prueba de significancia para la evaluación de la textura.....	91
6.	Formato del Test hedónico para el color de las aceitunas.....	92
7.	Formato del Test hedónico para el sabor de las aceitunas.....	93
8.	Formato del Test hedónico para la textura de las aceitunas.....	94
9.	Equivalente de sal para soluciones puras.....	95

RESUMEN

El Olivo, (*Olea europaea sativa* L.), variedad sevillana, fue sometido a un proceso de fermentación a nivel de laboratorio a fin de realizar un estudio de la utilización de diferentes técnicas de reducción del tiempo de fermentación. En el desarrollo del diseño experimental, durante el proceso de fermentación de la aceituna negra, fueron estudiadas las variables independientes: técnicas de incrementos de concentración salina (A: 0 - 2 - 4 - 6 - 8 °Bé, B: 0 - 4 - 6 - 8 °Bé, C: 2 - 4 - 6 - 8 °Bé) y técnicas de tiempos de permanencia a cada concentración (T1: 5 -10 -15 -10 días y T2: 10 - 5 -10 -15 días), siendo evaluados a través de las características fisicoquímicas y sensoriales en el producto final. Estas condiciones permitieron obtener una acidez desarrollada de 0,69 % de ácido láctico y un pH de 4,01; la cual se obtuvo de la interacción de la técnica de incrementos de concentración salina C con la técnica de tiempos de remontajes T1. Se realizó un análisis comparativo del producto de las técnicas en mención con una muestra de aceitunas fermentadas mediante el método tradicional (NaCl a 8 °Bé, por un tiempo de 90 días), del cual podemos concluir que, con respecto a la humedad, el método tradicional reporta una pérdida de humedad mayor (7,48 %) que las aceitunas fermentadas mediante el método acelerado (4,14 %); en lo que respecta a grasa, cenizas, proteínas, carbohidratos, fibra y azúcares reductores, ambas técnicas tienen un comportamiento similar en cuanto al consumo de estos componentes durante la fermentación.

ABSTRACT

The olive tree (*Olea europaea sativa* L.), variety sevilla, was subjected to a fermentation process at laboratory level in order to study the use of different techniques to reduce the fermentation time. In the development of the experimental design, during the fermentation process of the black olive, the following independent variables were studied: techniques of salt concentration increments (A: 0 - 2 - 4 - 6 - 8 °Bé, B: 0 - 4 - 6 - 8 °Bé, C: 2 - 4 - 4 - 6 - 8 °Bé) and techniques of residence times at each concentration (T1: 5 -10 -15 -10 days and T2: 10 - 5 - 10 -10 -15 days), being evaluated through physicochemical and sensory characteristics in the final product. These conditions allowed obtaining a developed acidity of 0.69 % of lactic acid and a pH of 4.01; which was obtained from the interaction of the technique of salt concentration increments C with the technique of pumping times T1. A comparative analysis was made of the product of the techniques mentioned with a sample of olives fermented by the traditional method (NaCl at 8 °Bé, for a period of 90 days), from which we can conclude that, with respect to moisture, the traditional method reports a greater loss of moisture (7,48%) than olives fermented by the accelerated method (4,14%); as regards fat, ash, protein, carbohydrates, fiber and reducing sugars, both techniques have a similar behavior in terms of the consumption of these components during fermentation.

INTRODUCCIÓN

El olivo ha constituido desde los tiempos más remotos, un alimento fundamental, esto por su alto contenido en proteínas y carbohidratos, que el cuerpo humano puede ingerir fácilmente. Ha sido un alimento básico en la dieta de los campesinos durante muchos siglos. Su uso en diversas comidas es posible gracias a sus cuatro sabores principales: agrio, dulce, salado y amargo; y a su moderna condición de alimento complementario, que ha propiciado su actual desarrollo mundial.

En los valles de Yauca en Arequipa, Ilo en Moquegua y Azapa en Arica, esta planta encontró las mejores condiciones para desarrollarse y producir un tipo de aceitunas naturales únicas en el mundo. Posteriormente a mediados del siglo XX, se iniciaron las plantaciones de olivos productores de esta misma variedad en Acarí, Bella Unión y Mollendo, pertenecientes al departamento de Arequipa, y en las zonas de Magollo, la Yarada y los Palos, ubicados en el departamento de Tacna, el cual se ha convertido en el mayor productor de aceitunas negras peruanas.

En la actualidad la aceituna de mesa es procesada utilizando el método tradicional, es decir, colocación de éstas en una solución de NaCl a 8 -12 °Bé, durante tres a cuatro meses, período tras el cual concluye la fermentación, obteniéndose las características fisicoquímicas y sensoriales óptimas para su comercialización. Este tiempo es relativamente largo, el cual afecta directamente

al productor, ya que podría decirse que durante este lapso el capital invertido se encuentra inmóvil, y tendrá que esperar hasta que termine la fermentación para poder vender la aceituna procesada; así mismo solo podrá utilizar una vez al año cada tanque de fermentación, ya que la campaña de aceituna negra empieza en Mayo y termina en Julio.

Considerando el requerimiento de aceituna en el mercado durante los meses de Mayo, Junio y Julio, el precio de éstas aumenta considerablemente, por lo que algunos productores han optado por utilizar métodos para macerar la aceituna en un período de tiempo de 40 días para poder comercializarlas rápidamente y con el dinero obtenido seguir macerando aceituna, obteniéndose así dos campañas al año en vez de una. De acuerdo a los productores que emplean dichos métodos, todos coinciden en señalar que no cuentan con parámetros específicos y adecuados para este tipo de proceso, por lo cual el producto obtenido no es uniforme, produciéndose a veces pérdidas en algunos tanques (ablandamiento excesivo, alambrado, etc.).

Los objetivos del presente trabajo fueron:

Objetivo general:

- Realizar un estudio sobre la aplicación de técnicas de incrementos de concentración salina y tiempos de permanencia en cada concentración, utilizadas para reducir el tiempo de fermentación en las aceitunas negras, (*Olea europaea sativa* L.), variedad Sevillana.

Objetivos específicos:

- Determinar la técnica de incrementos progresivos de concentración salina a emplearse y el tiempo de permanencia en cada concentración.
- Determinar la secuencia de bacterias lácticas, hongos y levaduras, presentes durante la fermentación de las aceitunas sometidas a diferentes técnicas de reducción del tiempo de fermentación.
- Realizar los análisis fisicoquímicos y sensoriales en las diferentes técnicas de fermentación acelerada y el proceso normal de fermentación de la aceituna negra.
- Evaluar las características físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales del producto final en almacenamiento durante 45 días.

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Generalidades sobre el olivo

1.1.1 Caracteres generales

El olivo (*Olea europaea sativa* L.), pertenece a la familia de las oleáceas, que incluye variedades de plantas que se encuentran en climas tropicales y templados de todo el mundo. El olivo cultivado es un árbol de tamaño medio. Al ser una planta tan rústica, crece en zonas extremadamente secas y suelos poco fértiles. Produce mucho más cuando se cultiva en zonas con buena pluviometría y suelos fértiles. El olivo prospera en regiones subtropicales, climas áridos y templados, e incluso en suelos salinos o laderas calcáreas que resultan inadecuados para la mayoría de los demás tipos de cultivos (Barranco, 1997). Resiste la sequía y el frío, necesita muchas unidades de calor para madurar el fruto y frío invernal para florecer, y tiene una fuerte inclinación a la alternancia entre cosechas.

1.1.2 Clasificación taxonómica

Según E. Strasburger la clasificación taxonómica del olivo es como sigue:

Reino : Eucariota

Subreino : Cormobionta

División	:	Spermatophyta
Sub división	:	Magnoliophytina (Angiosperma)
Clase	:	Magnolictae (Dicotyledoneae)
Orden	:	Oleales (Lingustales)
Familia	:	Oleaceas
Género	:	Olea
Especie	:	<i>Olea europaea sativa</i> L.

1.1.3 Situación del cultivo del olivo y su industria en el Perú

Todas las plantaciones están ubicadas en la parte sur del país, especialmente en los departamentos costeros de Ica, Arequipa, Moquegua y Tacna. La variedad más utilizada es la sevillana. Casi toda la producción es para elaborar aceituna de mesa y en pequeña escala aceite de oliva.

El departamento de Tacna, como la zona más importante de desarrollo del olivo en el Perú, escapa a las zonas ecológicamente aptas para este cultivo. Por su comportamiento reflejado en una excelente producción, está asociado a un clima totalmente influenciado por la corriente peruana, que hace del mismo un cultivo próspero y de alta rentabilidad

Las principales variedades de olivo del departamento de Tacna, de acuerdo a Hurtado (2004) son: sevillana, ascolana, pendolino, empeltre larga, empeltre redonda. En el cuadro 1 podemos apreciar la superficie cosechada de las principales variedades de Tacna.

Cuadro 1: Superficie cosechada de las principales variedades de Tacna (2004)

Variedad	Zona	Superficie(ha)	%
Sevillana	Los palos	630,00	27,60
	La Yarada	1170,00	51,25
	Magollo	342,00	14,98
	Para	135,00	5,91
	Ite	6,00	0,26
Ascolana	Los palos	21,00	32,26
	La Yarada	39,00	45,50
	Magollo	11,00	17,09
	Para	4,00	4,67
	Ite	0,1,00	0,12
Pendolino	Los palos	5,00	24,35
	La Yarada	11,00	53,58
	Magollo	3,00	14,61
	Para	5,00	7,31
	Ite	0,03	0,15
Empeltre larga	Los palos	14,00	27,60
	La Yarada	26,00	51,25
	Magollo	7,60,00	14,98
	Para	3,00	5,91
	Ite	0,14	0,26
Empeltre redonda	Los palos	7,00	27,59
	La Yarada	13,00	51,24
	Magollo	3,80	14,98
	Para	1,50	5,91
	Ite	0,07	0,28

Fuente: Hurtado, 2004



Figura 1: Aceituna negra (*Olea europaea sativa* L.), variedad sevillana

1.1.4 Variedades

En los últimos siglos, el cultivo del olivo ha progresado, dando lugar a una mayor gama de variedades y mejores frutos. En Tacna se cultivan numerosas variedades, algunas de las cuales son:

➤ **Variedad sevillana o criolla**

Constituye más del 95% de los olivos que se plantan en Tacna. El árbol es fuerte, tiene una gran cubierta vegetal y se adapta fácilmente a su entorno. Produce frutos grandes y deliciosos que contienen entre un 14 y un 15% de aceite. Los frutos pesan entre 8 y 12 gramos. (Figura 1)

➤ **Variedad gordal sevillana**

Esta variedad tiene condiciones extraordinarias de adaptación al medio. No existen plantaciones de importancia en el departamento de Tacna. Este cultivo produce frutos grandes, de maduración temprana y carne firme, que suelen encontrarse en el centro de las ramas. El fruto es bien grueso pero con carne de mediocre calidad. Sus aceitunas tienen un peso promedio de 12,5 gramos y su calibre es bastante irregular. Tiene bajo contenido de aceite (alrededor de 14 a 18%) (Hermoso, 1997).

➤ **Variedad ascolana**

Este tipo procede de Italia, donde se valora mucho su procesamiento en verde. Los árboles están caídos a pesar de tener una exuberante vegetación. Este cultivo produce frutos muy grandes, pero su pulpa es tierna y muy blanda y su cutícula extremadamente fina. Estos factores la hacen susceptible de sufrir daños durante la recolección y el

almacenamiento en cestas, cajas o jabas. El fruto tiene forma ovalada, pesa 10 gramos en promedio y sólo tiene un 13% de aceite. Su pulpa se separa fácilmente del hueso y es blanda. Como los frutos se caen rápidamente al madurar, se aconseja procesarlos en verde. (www.agroinformación.com)

1.2 Aceituna de mesa

1.2.1 Definición

Según la Norma Técnica Peruana para aceituna de mesa, se le define como el producto elaborado a partir del fruto del olivo cosechado (*Olea europaea sativa* L.), limpio, en buen estado, y debidamente maduro, con o sin un medio de cobertura líquida adecuado, que se someterá a los procesos necesarios que garanticen la calidad y conservación del producto envasado.

1.2.2 Composición química de la aceituna

El olivo es un alimento de mucha importancia debido a su alto contenido en proteínas e hidratos de carbono, así como de vitaminas y minerales. Numerosas variables, como el tipo y el grado de madurez en el momento de la cosecha, influyen en la composición química de la pulpa comestible. Otros elementos importantes son el tipo de cultivo, la ubicación y la calidad del suelo. Según Barranco, D. (1997), la pulpa de aceituna se compone de los siguientes elementos:

- **Agua:** El agua constituye la mayor parte del fruto (hasta un 50 -70%). Suele denominarse “aguas de vegetación” y se acumula en las vacuolas. Una parte más pequeña se encuentra en el citoplasma y en los demás componentes celulares.
- **Sustancia grasa:** Constituye el 17-30% del peso de la fruta y se encuentra en la pulpa y la almendra en forma de lipoproteínas. Los ingredientes primarios son el agua y el aceite, y al mismo nivel de madurez, se descubre que ambos tienen una conexión inversa.
- **Glucósidos:** Concentra la oleuropeína, responsable del sabor amargo de las frutas. En una solución alcalina diluida, este glucósido amargo se hidroliza fácilmente.
- **Carbohidratos:** Una parte importante de las aceitunas está constituida por hidratos de carbono, en particular los monosacáridos y oligosacáridos libres de la pulpa, de los cuales los principales azúcares son la glucosa (componente principal), la fructosa, el manitol y la sacarosa, mientras que la xilosa y la ramnosa están presentes en menor cantidad. El contenido de azúcar para los tipos de mesa nunca puede ser inferior al 4% del peso de la pulpa.
Entre un 3% y un 6% de polisacáridos se encuentran en la membrana celular (membrana celulosa-péctica) de la pulpa de aceituna.
- **Pectinas:** Determina el grado en que las células vecinas se adhieren entre sí, al igual que en todas las células vegetales. Constituye el 1,5% de la

pulpa de la aceituna y se compone principalmente de acetilos, grupos carboxilo esterificados y anhídrido galacturónico.

- **Proteínas:** Alrededor del 1,5% de las proteínas de la pulpa de la aceituna están en forma de aminoácidos; todos los aminoácidos están presentes (incluidos los esenciales), con la arginina constituyendo más del 25% del total y la leucina y la valina siguiéndole de cerca. Tanto la membrana citoplasmática como el protoplasma contienen estas proteínas (Barranco, 1997).
- **Ácidos orgánicos:** El contenido del 1,5% de ácidos orgánicos del zumo del fruto es parcialmente responsable del efecto tampón del producto fermentado por actuar como amortiguador. Estos tres ácidos son el oxálico, el málico y el cítrico. El pH del zumo celular oscila entre 4,1 y 5,4 unidades según el tipo.
- **Cenizas:** El nivel de cenizas de la pulpa varía entre el 0,68 y el 1,0%, siendo el potasio el elemento más prevalente y le siguen de lejos el fósforo, el calcio, el magnesio y el sodio.
- **Taninos:** Además de servir de sustrato para el pardeamiento enzimático, los taninos proporcionan a los tejidos vegetales su sabor (astringencia) y textura (incrustación de las paredes celulares) característicos. Las aceitunas frescas tienen una acidez elevada y son astringentes debido a los taninos. Representan entre el 1,5% y el 2,0% del peso de la pulpa.
- **Sustancias colorantes:** Estas se dividen en dos grupos
 - Sustancias colorantes liposolubles: clorofila (a y b) y carotenoides

➤ Sustancias colorantes hidrosolubles: antocianinas

Las aceitunas verdes tienen una proporción de 2,5:1 de clorofilas a y b, que siempre van acompañadas de pigmentos carotenoides que dan a las aceitunas su tonalidad amarilla. Durante la fase verde de crecimiento del fruto, los pigmentos carotenoides quedan ocultos por las clorofilas y, al ser insolubles, se reúnen en los cloroplastos del citoplasma.

Las oxiflavonas se transforman en antocianinas cuando hay hidratos de carbono y oxígeno presentes. Se crean durante la maduración y posteriormente se acumulan en las células epidérmicas, y más tarde en las células del mesocarpio.

La síntesis de antocianinas es controlada por factores genéticos, pero también influyen la maduración e intensidad de la iluminación solar y la nutrición. Cuando las aceitunas se destinan a convertirse en aceitunas negras, su nivel de antocianinas pasa a ser significativo e importante.

En el Cuadro 2 se reporta la composición de las aceitunas negras variedad sevillana.

Cuadro 2: composición química de las aceitunas variedad sevillana (contenido en 100 g de pulpa fresca).

Componente	Aceituna madura %	Aceituna verde %
Humedad	67,54	71,83
Grasa	20,97	15,64
Proteínas	1,57	1,50
Cenizas	2,36	2,28
Fibra	1,64	1,81
Carbohidratos	7,36	8,60
Azúcares reductores	4,10	4,80

Fuente: Marzano, 1988.

1.2.3 Desarrollo y maduración del fruto

La mayoría de los conocimientos existentes sobre el crecimiento y la maduración de los frutos del olivo se basan en las características físicas externas (Barranco 1997). Se tienen en cuenta varias etapas del proceso de crecimiento, desarrollo y maduración del fruto.

Puesto que es aquí donde se pone en marcha la maquinaria que controla la síntesis y el almacenamiento de los lípidos de reserva, la fase inicial del desarrollo es la que resulta más interesante.

Hermoso *et al.* (1997) afirma que se han descrito las fases que se enumeran a continuación:

- **Fase I de crecimiento rápido:** esto se debe a que se produce una importante expansión celular entre 10 y 16 días después de la polinización, a la que sigue una vigorosa división celular. Tras la floración, esta fase dura entre siete y nueve semanas, y termina con el inicio del endurecimiento del endocarpio, o esclerificación (Rallo, 1994).

- **Fase II de crecimiento lento:** en el que el desarrollo de las células cesa o se ralentiza. En este momento, el endocarpio ha terminado de endurecerse. La última fase del endurecimiento del endocarpio se corresponde con la máxima expansión del embrión y la semilla. La acumulación de ácidos grasos comienza durante esta fase.

- **Fase III de crecimiento rápido:** La acumulación de aceite en las células de la pulpa provoca un notable aumento del tamaño del fruto. Cuando la epidermis de la aceituna empieza a cambiar de color, este periodo llega a su fin. Cerca del final de este periodo, la semilla alcanza la madurez y tiene un alto índice de germinación. Es el momento en que la aceituna cambia de color y la acumulación de ácidos grasos alcanza su punto máximo.

- **Maduración propiamente dicha del fruto:** se da cuando la capacidad de germinación disminuye en comparación con la fase anterior y se alcanza el mayor grado de madurez (frutos negros).

1.2.4 Clasificación de las aceitunas de mesa

La Norma de Calidad del Consejo Oleícola Internacional (1980) divide las aceitunas de mesa en cuatro categorías: verdes, de color cambiante, negras y ennegrecidas.

- **Verdes:** son aceitunas recogidas de frutos que han alcanzado un tamaño típico, antes del envero y durante el periodo de maduración. Estas aceitunas deben ser firmes, duras e inalterables a una ligera presión entre los dedos. Cualquier mancha en ellas sólo debe proceder de su coloración natural. El color del fruto puede variar del amarillo pajizo al verde.
- **De color cambiante:** producido a partir de frutos de color rosa, rosa vino o castaño que se recogen antes de que estén completamente maduros, independientemente de que hayan sido sometidos a un tratamiento alcalino y estén listos para el consumo.
- **Negras:** procedente de frutos recolectados justo antes o en plena madurez; según la región de producción y el período de recolección, puede ser de color castaño oscuro, negro verdoso, negro violáceo, violeta oscuro o negro rojizo.
- **Ennegrecidas por oxidación:** se elaboran a partir de frutos poco maduros que han sufrido una oxidación para oscurecerlas y un tratamiento con lejía alcalina para eliminar su amargor. Tras ser tratadas con lejía alcalina, pierden su amargor y deben ser esterilizadas por calor y almacenadas en salmuera previamente.

1.3 Operaciones generales en el procesamiento de aceituna de mesa

1.3.1 Recolección

Las aceitunas de color negro natural deben recolectarse cuando alcanzan un grado de madurez adecuado; por ello, calibrar el color superficial de una aceituna no es un método útil para juzgar cuando recolectarla. Para comprobarlo, hay que hacer un corte perpendicular al hueso en una muestra de fruto que sea suficientemente representativa. A continuación, debe observarse el color de la pulpa, considerándose generalmente como un estado de madurez adecuado el color violeta que alcanza aproximadamente 2 milímetros del hueso (Fernández Díez y Colbs, 1985).

La mayor parte de la fruta se recolecta a mano; el método más eficaz es el sistema de ordeño, en el que el jornalero recoge la fruta una a una desde el suelo o desde escaleras adecuadas a la altura de los árboles y la coloca en un recipiente apropiado que lleva en el pecho. Una vez llenas, se colocan en contenedores especialmente fabricados o en cajas perforadas de unos 22 kg de peso para garantizar que se mantengan bien aireadas e ilesas. La fruta se transporta en estos contenedores o a granel, pero este método provoca cierto deterioro de la fruta (www.agroinformación.com).

Antes de su entrega a las fábricas de aderezo, los tamaños pequeños, no comerciales, suelen separarse de las hojas y ramitas en el campo. En cualquier caso, la fábrica realiza este procedimiento antes de la transformación. Una vez recibida la fruta, se recoge la información necesaria para identificar el lote durante la fase de transformación y se elige una muestra representativa, a partir de la cual se evalúa la calidad de la fruta. La proporción de calibres no utilizados, el calibre medio y la distribución de calibres, así como el porcentaje de defectos diferenciando entre tipos e intensidades son los datos clave que hay que averiguar (www.agroinformación.com).

1.3.2 Lavados

Este proceso se realiza antes de que comience la fermentación, con el objetivo de minimizar la suciedad y los restos de tierra que los frutos llevan encima. Este es uno de los pasos más cruciales en la producción de encurtidos, ya que el desarrollo normal de la fermentación natural se ve dificultado por la suciedad de los frutos y la presencia de hojas y frutos podridos (Gascón *et al.*, 2000).

El lavado se realiza simplemente con agua potable. Para asegurar la asepsia durante el tratamiento se realizan lavados enérgicos en solución de agua clorada (2ppm).

En Grecia, las aceitunas solían someterse a numerosos lavados estáticos con agua después de introducirlas en los recipientes de fermentación. El procedimiento duraba de dos a tres días e implicaba hasta cinco cambios de líquido. Las ventajas de este tipo de trabajo son las siguientes:

- a) Un claro proceso de limpieza que elimina la suciedad, el barro y otros restos adheridos a las frutas.
- b) Favorecer la difusión del principio amargo oleuropeína y consiguiente endulzamiento de los frutos.
- c) Cuando se utilizaban salmueras inferiores, el nivel de cloruro sódico (NaCl) de la pulpa se elevaba progresivamente para evitar el arrugamiento con la adición de la última salmuera (Fernández Diez y Colbs, 1985).

1.3.3 Colocación en salmuera y fermentación

Una vez que las aceitunas se colocan en los recipientes de fermentación, se les añade salmuera, donde permanecen hasta su comercialización entre seis y doce meses. Las aceitunas suelen conservarse durante las fases de fermentación y conservación en una salmuera de 10-12 °Bé. La sal se regula hasta aproximadamente un 6-8% al cabo de unos días (www.infoagro.com).

En Francia, para la elaboración de aceitunas negras naturales, los frutos se recogen sobremaduros. Según los estudios realizados, esta forma de preparación tiene la ventaja de disminuir el paso de sustancias hidrosolubles de

los frutos a las salmueras y disponer de una flora adaptada al medio, aunque indispensable de vigilar estrechamente para evitar alteraciones (Fernández Diez y Colbs, 1985).

El pH inicial de estas soluciones no suele modificarse. Sin embargo, controlar esta característica en valores de 4 - 4,5 unidades se ha convertido en una práctica habitual en los últimos tiempos para evitar el desarrollo de microorganismos Gram negativos, que provocan un desprendimiento muy turbulento al principio de la fermentación y están relacionados con determinados tipos de alteraciones. Se emplea ácido clorhídrico de calidad alimentaria, de uso suspendido en la actualidad, así como ácido láctico o acético como acidulante. El efecto inhibitor de este último puede hacer que se utilice con más frecuencia.

Las levaduras son los principales microorganismos que intervienen en la fermentación tradicional porque suelen ser muy resistentes a las altas concentraciones de sal, aunque los porcentajes típicos de trabajo del 8-10% de sal no son ideales para el crecimiento de los microorganismos en general. Por el contrario, es normal que se produzca una fermentación característicamente láctica cuando los niveles de sal se mantienen por debajo del 8% (Fernández Diez y Colbs, 1985).

Para conseguir una fermentación típica con levadura, las adiciones de sal pueden hacerse con frecuencia, sin dejar que bajen nunca del 7-8%; alternativamente, pueden hacerse con más moderación y dejar que disminuyan

durante varios meses, lo que da lugar a una actividad más notable de las bacterias lácticas. (Fernández Diez y Colbs, 1985).

Otras características también pueden verse influenciadas de forma particular por el contenido de sal. La cantidad de azúcares reductores y la solubilización de los polifenoles están claramente condicionadas en el caso de la fermentación espontánea por levaduras solas. El mecanismo se ralentiza a medida que aumenta el contenido en NaCl (Fernández Diez y Colbs, 1985).

Según el tipo, el proceso de fermentación suele provocar una disminución de la textura. Dependiendo del tipo y sobre todo del pH, el color de la fruta también se aclara significativamente, pasando del negro púrpura de la fruta madura a un rosa ligeramente oscuro, los que tienen un mayor contenido en antocianinas o polifenoles en general, se aclaran menos. En el lado opuesto, surgen tonos rojizos extremadamente intensos cuando se desarrolla una acidez láctica excesiva. Por el contrario, otros procesos de fermentación que se realizan en presencia de oxígeno suelen ayudar a su conservación en zonas del espectro más próximas al púrpura (Rodríguez de la Borbolla, 1985).

1.4 Fermentación a bajas concentraciones salinas

La fermentación láctica se ve favorecida por el tratamiento con salmuera, y la duración del proceso depende de la variedad, la temperatura, los microbios y el tratamiento previo. En Argentina se utilizan diferentes concentraciones que oscilan entre el 2 y el 12%, siendo el 2% la más empleada la cual debe ser

acidulada con ácido acético e incrementando gradualmente la concentración de NaCl hasta el 7% (Gascón *et al.*, 2000).

Con las variedades más sensibles deben utilizarse concentraciones bajas de sal (2 - 5% en EE.UU, para sevillana y ascolana). Borbolla *et al.* (1971) utilizó en gordal, hojiblanca y manzanilla concentraciones del 2 - 8%, sin encontrar arrugado debido al cloruro de sodio (Gascón *et al.*, 2000).

Se puede lograr una fermentación con bajas concentraciones de sal (2 - 4%):

*Añadiendo cultivo puro de *Pediococcus cerevisiae* y *Lactobacillus plantarum*, si la fermentación es en envases pequeños con pasteurización.

*Sí la fermentación es a gran escala con acidificación de la salmuera a pH 3,8 (acidez 0,1 %), ya no se añade la mezcla de *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus cerevisiae* y tiene lugar la fermentación (Rodrigo M. y Alvaruz A. 1985).

El efecto del pH es bastante bien difundido, corrigiéndolo al inicio a valores inferiores de 4,5 unidades, se puede inhibir el crecimiento de bacilos negativos en las etapas iniciales y de gérmenes anaeróbicos responsables de alteraciones. (Fernández Díez y Colbs, 1985). Aunque muchas especies pueden tolerar grandes variaciones de pH (de 2,8 a 8,5 unidades), el intervalo de pH ideal para el desarrollo de las levaduras se sitúa entre 4,5 y 6,5 unidades. (Burgeois y Colbs, 1994).

Si los valores de pH no han sido corregidos inicialmente la fermentación se realiza en ausencia de bacterias lácticas, este desciende con el tiempo antes de estabilizarse en un valor comprendido entre 4 y 4,5 unidades. La formación de lactobacilos y cocos lácticos puede provocar un descenso que puede alcanzar las 3,6 -3,7 unidades, con valores intermedios entre éstas y 4,0 en función del grado de acidez generado. Si se ha producido una corrección a 4,5 al principio, se produce un pequeño aumento en los días iniciales, llegando aproximadamente a 5,0 unidades, que evolucionará como se ha descrito anteriormente (Fernández Díez y Colbs, 1985).

1.4.1 Bacterias importantes en la fermentación láctica

El crecimiento de las bacterias lácticas asegura, por el aumento de la acidez, la supresión de la flora gram negativa y de las bacterias esporulantes.

La progresión de especies microbianas a través del proceso permite distinguir 4 etapas:

*Inicio: Flora diversa Gram +

*Fermentación 1: Bacterias lácticas y levaduras

*Fermentación 2: Levaduras ácidotolerantes (Principio de defecto)

*Post-fermentación: Desarrollo en superficie de levaduras o de mohos oxidativos si la anaerobiosis es deficiente.

Los principales determinantes del orden en que se desarrollan las especies son la composición inicial de la población, la tasa de crecimiento en la salmuera en cuestión y la tolerancia a los ácidos.

Todos los alimentos vegetales fermentan de forma similar, con ligeras diferencias. Este proceso se caracteriza por el desarrollo progresivo de bacterias lácticas, que podemos clasificar según su creciente tolerancia al ácido:

- *Leuconostoc mesenteroides*
- *Lactobacillus brevis*
- *Pediococcus acidilactici*
- *Pediococcus pentosaceus*
- *Lactobacillus plantarum*

Leuconostoc mesenteroides no tolera bien la sal, ni la acidulación, es intrascendente en las salmueras superiores a un 5% de NaCl.

Lactobacillus plantarum es el que soporta más la acidez, es el que concluye la mayor parte de las fermentaciones vegetales. (Duran M., 1976).

1.4.2 Cambios durante la fermentación

Las bacterias utilizan los azúcares naturales que se encuentran en los vegetales durante los procesos de fermentación para crear ácido láctico. Además, emiten dióxido de carbono gaseoso, que sube a la superficie y remueve la mezcla. En cuanto no hay más azúcar disponible, el proceso de fermentación termina. El crecimiento de las bacterias de la fermentación se ve impedido por soluciones salinas muy concentradas, como las que contienen más de un 17% de sal, hasta que la salmuera se diluye mediante algún procedimiento.

Los intrincados cambios que experimentan las proteínas y los hidratos de carbono confieren a los alimentos fermentados un tacto más suave. Las variaciones en el bouquet y el aroma, que también son intrincadas y no suelen estar bien registradas, pueden resumirse así:

- Reducción del dulzor y aumento de la acidez por la conversión de los azúcares en ácidos orgánicos, en la fermentación.
- Aumento del contenido en sal de algunos alimentos por incremento de la misma para encaminar el proceso de fermentación.
- Disminución del amargor de algunos alimentos por la actividad de enzimas específicos. (Rodrigo M. y Alvaruiz A., 1985).

1.4.3 Pérdida de humedad

La eliminación de humedad a través de la presión osmótica será determinante, a pesar de la reacción de la fruta a la actividad altamente compleja de la sal. La fruta se encogerá permanentemente, el producto final perderá peso y el ritmo de fermentación cambiará si el contenido inicial de sal es mayor, lo que también aumenta la presión osmótica externa y la producción de zumo (www.agroinformación.com).

1.5 Problemas y alteraciones post-fermentación

1.5.1 Ablandamiento

Cualquiera de los siguientes factores podría ser la causa: demasiada exposición al aire, un periodo de almacenamiento demasiado largo (las verduras se ablandan durante el almacenamiento en salmuera, sea como sea); exposición a temperaturas extremadamente altas o bajas, etc.

Es uno de los cambios más comunes y difíciles de monitorear en las aceitunas negras. Los cambios que sufren las sustancias pécticas como consecuencia de la actividad de las enzimas pectinolíticas implicadas en el mecanismo de degradación biológica desempeñan un papel importante en este fenómeno de ablandamiento (Fernández Díez y Colbs, 1985).

Aunque el reblandecimiento excesivo de cualquier recipiente de fermentación es poco frecuente, los tanques pueden experimentar un reblandecimiento leve de forma regular. Este fenómeno se ha relacionado con la enzima poligalacturonasa (PG), producida por el crecimiento de hongos en recipientes vacíos que no se han limpiado adecuadamente. Incluso después de una limpieza superficial, la PG se libera progresivamente en los componentes (Holdsworth, 1988).

1.5.2 Crecimiento de levaduras superficiales

Ciertas levaduras tienen la capacidad de crecer en soluciones salinas concentradas en presencia de aire y producir una telilla en la superficie de la salmuera. Los encurtidores holandeses eliminan el oxígeno, permitiendo así la formación de levaduras espumosas durante la primera fase del encurtido. Sin embargo, también son capaces de descomponer y consumir allí el ácido láctico, lo que deja a los productos en salmuera más vulnerables a otros tipos de deterioro.

Según Frazier (1981), pueden crecer dos tipos generales de levaduras: las levaduras de fermentación, que crecen en la masa de salmuera y fermentan los azúcares para producir dióxido de carbono y alcohol, y las levaduras oxidativas o formadoras de película, que crecen en la superficie de la salmuera y oxidan el ácido láctico. Se identificaron tres géneros de levaduras, siendo los más comunes *Debaryomyces*, *Encomyopsis* y *Cándida*. destacando la primera.

1.5.3 Alambrado

Este problema confiere a las aceitunas verdes su aspecto distintivo de surcos subcutáneos que se extienden típicamente en sentido transversal al eje del fruto y presentan una hendidura evidente en el exterior. Sin embargo, en las aceitunas negras, el aspecto es una secuencia de grietas internas de la pulpa que pueden originarse bajo la piel y extenderse hasta el hueso, o pueden originarse en el propio hueso y llegar hasta la piel. Además, las aceitunas pueden presentar una acumulación de gas que les da un aspecto de "globo", con o sin una película translúcida que las separa de la piel. En este último caso, el gas suele acumularse y se denomina "afarolado".

Ahora es evidente que existe un alambrado que no está relacionado con el desarrollo de bacilos gram-negativos, ya que ciertos procesos han eliminado completamente estas bacterias. Por lo antes citado, la propia fruta y las bacterias que suelen crecer en ella son las fuentes del alambrado, que puede producirse durante la fermentación espontánea como un proceso perfectamente normal (Fernández Diez y Colbs, 1985).

En cuanto a las propiedades físico-químicas de las salmueras, la utilización de ácido acético como acidulante es sustancialmente superior a la utilización de HCl. Aunque es un condicionante importante para generar fermentaciones lácticas, la concentración de sal no tiene una influencia significativa (Fernández Diez y Colbs, 1985).

La fermentación anaeróbica, la fermentación láctica y la conservación en medio estéril son las mejores adaptaciones para evitar la alteración. El tono rojizo de las aceitunas procedentes de la fermentación láctica se elimina a lo largo del proceso de clasificación y selección (Fernández Diez y Colbs, 1985).

1.6 Aditivos usados en fermentación

Entre los aditivos que forman parte de la solución de cobertura se tienen:

✓ Acidulantes

El ácido tiene la capacidad de inhibir cuando se añade directamente a los alimentos, cuando es un componente natural del alimento y cuando se crea a través de la fermentación. Si no es un componente natural del alimento, es necesario introducirlo o fermentarlo rápidamente para evitar que los organismos alterantes u otros dañinos tengan la oportunidad de crecer significativamente y empezar a tener un impacto (Cheftel y Cheftel, 1982).

La mayoría de las adiciones de esta categoría son ácidos orgánicos, que se encuentran de forma natural en los alimentos e incluyen los ácidos cítrico, tartárico, láctico y acético. Sólo su pureza y la cantidad ingerida preocupan en el estudio de la toxicología. (Cheftel y Cheftel, 1982). El ácido acético y los acetatos son productos totalmente inocuos a las concentraciones utilizables en los alimentos (www.google.com).

✓ **Cloruro de calcio**

También se sugiere añadir cloruro cálcico para minimizar las pérdidas de textura. Según Buescher *et al*, (1981), el contenido ideal de calcio se sitúa entre el 0,1 y el 0,4% en equilibrio expresado como cloruro de calcio. Sin embargo, las investigaciones han demostrado que la presencia de cloruro cálcico desde el inicio de la fermentación no interfiere en el curso natural del proceso, siendo comúnmente utilizadas concentraciones de 0,1% (Rodrigo *et al*, 1985). En caso de utilizar concentraciones superiores al 0,4%, puede afectar la difusión - ósmosis del fruto a las salmuera, endureciendo las paredes celulares y alterando la fermentación.

1.7 Clorinación del agua

Uno de los elementos más utilizados en el sector alimentario es el cloro. La clorinación del agua se realiza para eliminar microorganismos (incluidas bacterias, levaduras y mohos) del agua para que sea potable y, en mayores cantidades, para desinfectar superficies, electrodomésticos, cubiertos, inodoros y lavado de la materia prima a utilizarse.

Las soluciones de agua clorada preparadas con distintas concentraciones, que oscilan entre 50 y 80 miligramos de cloro por litro de lejía, son los compuestos más utilizados. La cantidad de lejía que hay que añadir a los litros de agua que hay que clorar se determina utilizando el valor de concentración que figura en las

etiquetas. Las ventajas de los hipocloritos son su bajo poder residual, su rápida actividad germicida y su asequibilidad.

Se generan concentraciones más fuertes, de 2 a 7 mg/litro (2 - 7 ppm), para el agua destinada a otros usos, como la limpieza de fábricas y baños o el pelado o lavado de frutas y verduras. Normalmente, los preparados se elaboran con una concentración de hasta 5 mg / litro (5 ppm). (Gascón *et al.*, 2000).

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Lugar de ejecución

El actual trabajo de investigación fue llevado a ejecución en los siguientes lugares:

- Los análisis físicos, físico-químicos, microbiológicos y sensoriales se llevaron a cabo en los laboratorios de análisis de los alimentos, microbiología de los alimentos y evaluación sensorial, de la Facultad de ingeniería de industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna.
- Las pruebas experimentales se realizaron en la planta olivícola “La Esperanza S.A.”, Tacna.

2.2 Materiales

2.2.1 Materia prima

Se utilizó como materia prima aceitunas negras de la variedad sevillana (*Olea europaea sativa* L.), con un índice de madurez óptimo, proviene de la zona de producción de la Yarada - Tacna

2.2.2 Insumos

- Agua potable
- Sal de uso industrial (99% de pureza) Ácido acético (99% de pureza).

- Cloruro de calcio (99% de pureza)

2.2.3 Reactivos y medios de cultivo

- Ácido sulfúrico SO_4H_2 (0,255 N; 0,1 N; 1,8 M)
- Hidróxido de sodio NaOH (0,313 N; 0,1 N; 40%)
- Sulfato de cobre CuSO_4
- Sulfato de potasio K_2SO_4
- Indicador fenolftaleína.
- Dicromato de potasio $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$
- Agua peptonada tamponada
- Agar plate count (APC)
- Agar rogosa
- Agar patata - glucosa (APG)
- Caldo brilla

2.2.4 Materiales de vidrio

- Termómetro, escala: - 10 °C a 150 °C
- Salinómetro, escala de 0 a 30 °Bé
- Bureta de 25 ml
- Matraces (50 ml y 100 ml)
- Vasos de precipitados de 250 ml
- Tubos de ensayo
- Pipetas de (2 ml, 10 ml)
- Placas Petri

- Embudo
- Mortero
- Crisoles

2.2.5 Utensilios

- Tinas de 10 litros de capacidad
- Baldes
- Coladeras

2.3 Equipos

2.3.1 De proceso

Fibras fermentadoras pequeñas, de 10 kg de capacidad, diseñadas especialmente para el proceso (**Figura 2**).

2.3.2 De análisis y control

- Balanza Sartorius (capacidad: 300 - 0,001g).
- Balanza analítica Metler, (capacidad máx. 130 g).



Figura 2: Fibra fermentadora pequeña, de 10 Kg de capacidad

- pH-metro marca Corning (rango de 0 - 14).
- Estufa Memmert (rango de temperatura 0 °C a 240 °C) .
- Mufla Termolyne, modelo FD 1520 M.
- Espectrofotómetro Carl Zeis JENA.
- Extractor Soxleth marca Lab-Line, modelo S/001.
- Micro-digestor de nitrógeno, Labconco, modelo 6030-0

2.4 Metodología

2.4.1 Análisis de materia prima

2.4.1.1 Evaluación del índice de madurez en la materia prima

El método que se usó para la determinación del índice de la madurez fue el sensorial. El color de piel para el aceituna que se procesó bajo el método que se plantea en el presente trabajo fue negra con pulpa morada (3/4 partes de la pulpa) sin llegar al hueso, ya que ésta se encuentra en un estado de madurez adecuado para este fin. Se tomó una muestra representativa del área a cosechar y se calculó el índice de madurez (I_m) por el método citado de Tous Marti y Romero Aroca (1993) (Escala para la obtención del índice de madurez para la aceituna).

Se empleó la siguiente fórmula

$$I_m = \underline{(a \times 0 + b \times 1 + c \times 2 + d \times 3 + e \times 4 + f \times 5 + g \times 6 + h \times 7)}$$

En la fórmula, los valores de a hasta h son el número de aceitunas de clase cero hasta 7 respectivamente, I_m debe ser: $0 \geq I_m \leq 7$. La escala para el índice de madurez se observa en el Cuadro 3.

Cuadro 3: Escala para la obtención del índice de madurez de la aceituna

Color de aceituna	Puntaje	Numero de frutos
Verde intenso	0	a
Verde amarillento	1	b
Verde con manchas rojizas	2	c
Rojiza o morada	3	d
Negra con pulpa blanca	4	e
Negra con pulpa morada sin llegar a la mitad	5	f
Negra con pulpa morada sin llegar al hueso	6	g
Negra con pulpa negra en su totalidad	7	h

Fuente: Tous Marti, 1984

Para las anotaciones del Estado de la pulpa se hacen cortes perpendiculares al ras del hueso, observando la profundidad del color negro y expresando si éste alcanza menos de la mitad, la mitad o si llega al hueso. Para iniciar la recolección en el proceso en negro se tomó un índice de madurez de 6 (Figura 3).

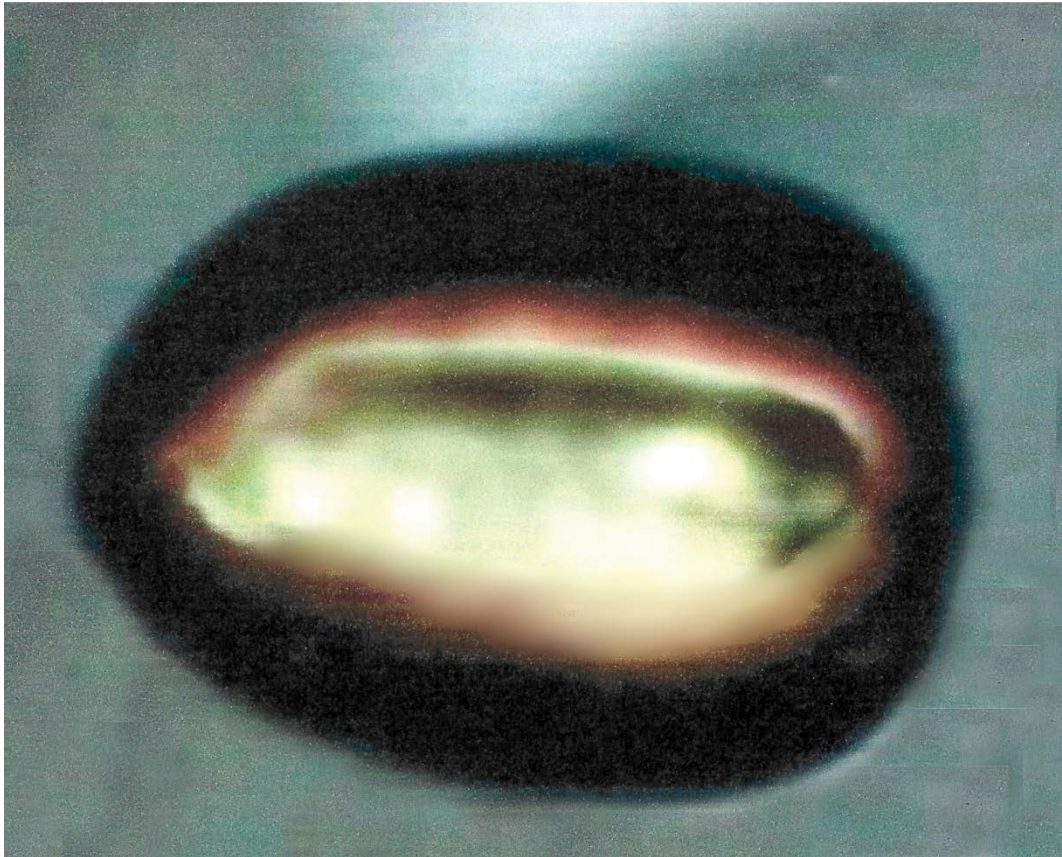


Figura 3: Foto de la aceituna negra (*Olea europaea sativa* L.) variedad sevillana con índice de madurez 6.

2.4.2 Procedimiento

Para el presente trabajo se aplicó el flujo del diseño experimental indicado en la figura 4, el cual abarcó los siguientes procesos:

- **Recepción de materia prima:** Se utilizaron aceitunas negras de la variedad sevillana, que se cultiva en nuestro departamento. Estas debieron ser recién cosechadas y de buena calidad, sin presentar magulladuras ni golpes; así mismo presentar un índice de madurez óptimo; esto quiere decir que la mayoría de las aceitunas debía presentar una coloración negra con pulpa morada sin llegar al hueso, I.M. 6..
- **Pesado:** se pesaron 10 Kg de materia prima para cada técnica aplicar en el experimento.
- **Lavado:** Se procedió a realizar un lavado con agua clorada en una dosis de 2 ppm de hipoclorito de sodio; esto con el fin de eliminar el polvo y otros elementos contaminantes que arrastran las aceitunas, así como para disminuir al máximo la carga microbiana indeseable que arrastran.
- **Acondicionamiento:** Las muestras fueron acondicionadas en su respectivo fermentador, teniendo cuidado de que estos no estuvieran demasiado llenos para evitar daños mecánicos en el fruto.

- **Dosificación de NaCl y fermentación:** Para este proceso se realizaron 3 técnicas de incrementos de concentración salina (A, B, C), así como dos técnicas de tiempo de permanencia a cada concentración (T1 y T2), haciendo un total de 6 muestras:

Prueba (A / T 1): técnica de incrementos de concentración salina A / tiempo de permanencia T1

Se inició la fermentación con 0° Bé de NaCl, es decir solo agua potable (clorada), luego, a los 5 días se hizo un incremento de NaCl hasta 2 °Bé, pasados 10 días de incremento se volvió a adicionar NaCl hasta llevar la salmuera a un valor de 5 °Bé y por último a los 15 días se añadió NaCl hasta 8 °Bé; luego se mantuvo en este valor por un tiempo de 10 días hasta que se estabilizó el producto y se dio por finalizada la fermentación (40 días).

Prueba: (A / T2): técnica de incrementos de concentración salina A / tiempo de permanencia T2

Se inició con 0° Bé, a los 10 días se incrementó la concentración de NaCl hasta 2 °Bé, pasado 5 días de este incremento se volvió a adicionar NaCl hasta llevar la salmuera a un valor de 5 °Bé y por último a los 10 días se añadió NaCl hasta 8 °Bé; luego se mantuvo en este valor por un tiempo de 15 días hasta que se estabilizó el producto y se dió por finalizada la fermentación (40 días).

Prueba (B / T 1): técnica de incrementos de concentración salina B / tiempo de permanencia T1

Se inició con 0 °Bé de NaCl, es decir solo agua potable (clorada), luego, a los 5 días se hizo un incremento de NaCl hasta 4 °Bé, pasados 10 días de incremento se volvió a adicionar NaCl hasta llevarla salmuera a un valor de 6 °Bé y por último a los 15 días se añadió NaCl hasta 8 °Bé; luego se mantuvo en este valor por un tiempo de 10 días hasta que se estabilizó el producto y se dió por finalizada la fermentación (40 días).

Prueba: (B / T2): técnica de incrementos de concentración salina B / tiempo de permanencia T2

Se inició la fermentación con 0 °Bé de NaCl, a los 10 días se hizo un incremento de NaCl hasta 4 °Bé, pasados 5 días de incremento se volvió a adicionar NaCl hasta llevar la salmuera a un valor de 6 °Bé y por último a los 10 días se añadió NaCl hasta 8 °Bé; luego se mantuvo en este valor por un tiempo de 15 días hasta que se estabilizó el producto y se dió por finalizada la fermentación (40 días).

Prueba: (C / T1): técnica de incrementos de concentración salina C / tiempo de permanencia T1

Se inició la fermentación con 2 °Bé de NaCl, a los 5 días se hizo un incremento de NaCl hasta 4 °Bé, pasados 10 días de este incremento se volvió a adicionar NaCl

hasta llevar la salmuera a un valor de 6 °Bé y por último a los 15 días se añadió NaCl hasta 8 °Bé; luego se mantuvo en este valor por un tiempo de 10 días hasta que se estabilizó el producto y se dió por finalizada la fermentación (40 días).

Prueba: (C / T2): técnica de incrementos de concentración salina C / tiempo de permanencia T2

Se inició la fermentación con 2 °Bé de NaCl, a los 10 días se hizo un incremento de NaCl hasta 4 °Bé, pasados 5 días de incremento se volvió a adicionar NaCl hasta llevar la salmuera a un valor de 6 °Bé y por último a los 10 días se añadió NaCl hasta 8 °Bé; luego se mantuvo en este valor por un tiempo de 15 días hasta que se estabilizó el producto y se dió por finalizada la fermentación (40 días).

➤ **Fermentación:**

Se sometió las muestras a soluciones Salinas iniciales de muy baja concentración a fin de acelerar el proceso fermentativo, y se fue adicionando poco a poco NaCl en los tiempos establecidos hasta estabilizar el producto. Cabe destacar que al inicio de la fermentación se adicionó ácido acético al 0,1% y cloruro de calcio al 0,1% en todas las pruebas a realizar, esto como parte de los parámetros constantes establecidos en el flujograma para el procesamiento de aceitunas negras naturales (no se consideraron como variables); Así mismo se procedió a realizar los controles físico-químicos y microbiológicos respectivos (pH, % de

acidez, °Bé y recuento de microorganismos) durante la evolución de la fermentación.

Se sometió a fermentación una muestra testigo de aceitunas a 8 °Bé, con las mismas características que las anteriormente descritas (adición de ácido acético y cloruro de calcio) por un tiempo de 3 meses (fermentación tradicional), con el fin de realizar una evaluación comparativa al final de la fermentación con respecto a los diferentes tratamientos.

➤ **Producto terminado**

Una vez concluida la fermentación se procedió a realizar un análisis físicoquímico, sensorial y microbiológico a cada una de las muestras, realizando un análisis comparativo con respecto a la muestra testigo.

➤ **Elección del mejor tratamiento**

De acuerdo a los resultados obtenidos de los análisis anteriormente mencionados se seleccionó aquel que presentó las mejores características sensoriales. Se realizó el análisis sensorial, empleando el Test de escala Hedónica, con la finalidad de conocer la aceptabilidad del producto final.

2.5 Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de covarianza (ANCOVA), para poder determinar la influencia de los factores: técnicas de incremento de concentración salina y técnicas de tiempo de permanencia a cada concentración; tomando como cofactor a los días de fermentación a fin de eliminar su efecto en las variables respuesta, que son a la producción de acidez y a la evolución del pH en cada uno de los tratamientos. Se tomó en cuenta el pH y acidez producida, debido a que son datos que nos indican directamente la evolución y buena marcha de la fermentación.

Así mismo se evaluaron las diferentes características sensoriales (color, sabor, textura) del producto final mediante un análisis de varianza (ANVA); un panel semi-entrenado, constituido por 13 personas, realizó la calificación por comparación con una muestra de aceituna procesada mediante el método tradicional, para tal fin se aplicó el test de escala Hedónica, con la correspondiente prueba de Tukey, con el fin de determinar la efectividad y aceptación del mejor tratamiento.

A los 45 días de almacenamiento, se evaluó la aceptabilidad general con la prueba de Ranking a fin de conocer la estabilidad del producto final.

2.6 Métodos de análisis

2.6.1 Análisis proximal

Este análisis se realizó tanto en la aceituna negra cruda, variedad sevillana, con el índice de madurez óptimo IM 6; así como en la aceituna procesada. Todos los análisis fueron realizados en muestra por duplicado; siendo los siguientes:

- Humedad (método por pérdida de peso), A.O.A.C, 1981.
- Proteína (método Kjeldahl), A.O.A.C, 1981.
- Grasa (método Soxhlet), A.O.A.C, 1981.
- Cenizas (método por calcinación), A.O.A.C, 1981.
- Fibra bruta (método por hidrólisis ácida y alcalina), A.O.A.C, 1981.
- Carbohidratos (por diferencia restando de 100 el contenido de humedad, proteína, grasas y cenizas), A.O.A.C, 1981.

2.6.2 Análisis fisicoquímicos

- pH (método potenciométrico).
- Acidez titulable (método por titulación con hidróxido de sodio 0,1 N).
- Azúcares reductores (método Smogyi - Nelson).
- Sal en grados Baumé (método densimétrico).

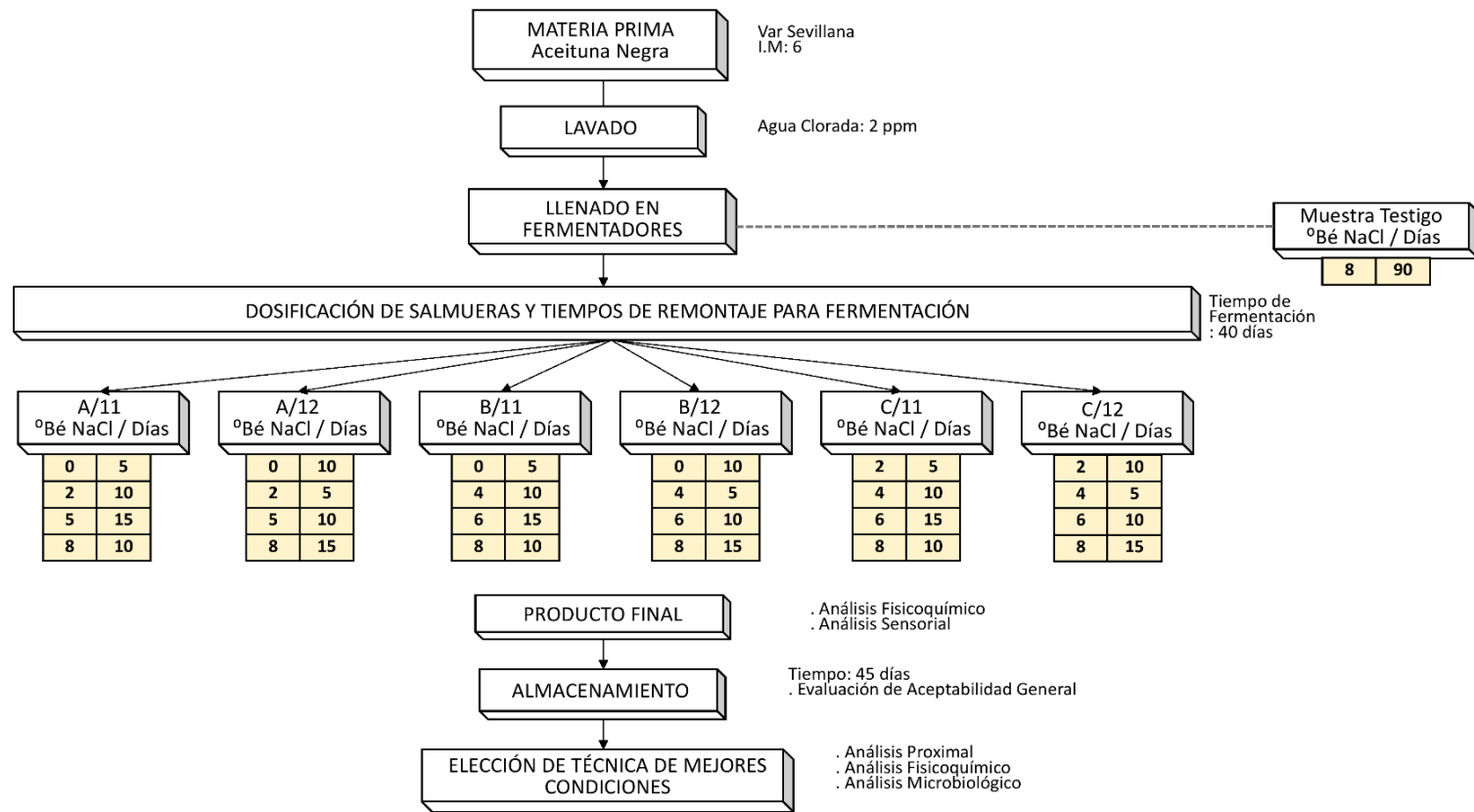


Figura 4: Diseño experimental para la determinación de la técnica de mejores condiciones en la fermentación de la aceituna negra variedad sevillana.

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS E IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

3.1 Formulación de la hipótesis

Es posible reducir el tiempo de fermentación de las aceitunas negras variedad sevillana (*Olea europaea sativa* L.), aplicando técnicas adecuadas de incrementos de concentraciones de NaCl y técnicas de tiempos de permanencia a cada concentración, para la obtención de un producto final de óptima calidad.

3.2 Identificación de variables e indicadores

3.2.1 Variables

3.2.1.1 Variables independientes

Técnicas de incremento de concentración salina (C1, C2, C3)

Técnicas de incrementos de permanencia a cada concentración (T1, T2)

3.2.1.2 Variables dependientes

Características fisicoquímicas (acidez y PH)

Características sensoriales (color, sabor y textura)

3.2.2 Indicadores

Los límites generales más recomendados para las características físicas y químicas del producto terminado son las siguientes (Fernández Diez *et al.*, 1985; Unidad Estructural de Biotecnología de Alimentos 1990):

pH.....3,6 - 4,5 unidades

Acidez libre..... 0,3 - 1,5 (g/100 ml, en ácido láctico)

Cloruro de sodio..... 8,0 - 10,0 (g/100 ml)

Azúcares reductores.....0,2 - 0,4 (g/100 ml, expresado como
glucosa)

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Análisis de la materia prima

4.1.1 Análisis químico de la materia prima

En el cuadro 4 se reporta el análisis químico de la materia prima. Se realizaron análisis a dos tipos de muestras, debido a que la aceituna procesada por el método tradicional (90 días) se realizó cincuenta días antes que el proceso acelerado (40 días), con el fin de que ambas concluyan el experimento en el mismo tiempo, para así poder realizar los análisis sensoriales respectivos en los dos tipos de muestras.

- **Humedad:** la humedad obtenida fue de 68,98% (para las aceitunas sometidas al método tradicional) y 65,34% (para las aceitunas sometidas al método acelerado); correspondientes a las muestras de aceituna en estudio, se considera próxima a la señalada por otros investigadores. Marzano (1988), reporta una humedad de 67,54% para aceituna madura. Belitz Grosch (1992) es más amplio con respecto a este análisis, reportando una humedad de 50 a 75%. La humedad obtenida en ambas muestras analizadas en el presente trabajo se encuentra dentro de los rangos establecidos por dicho autor

- **Proteínas:** tomando como referencia valores reportados por Belitz Grosch, 1992, se tiene de 1 a 3% del contenido de proteínas en las aceitunas negras; siendo 1,78% (para las aceitunas sometidas al método tradicional) y 1,54% (para las aceitunas sometidas al método acelerado) los valores reportados en el análisis de proteínas para las muestras en el presente estudio. Dichos valores son cercanos al valor reportado por Marzano (1988), que indica un valor de 1,57% de proteínas en las aceitunas maduras. Rodríguez de la Borbolla *et al* (1972) y Fernández Díaz *et al* (1969), comentan que las aceitunas presentan un bajo contenido de nitrógeno total.
- **Grasa:** se obtuvo un 18,2% (para las aceitunas sometidas al método tradicional) y 21,46% (para las aceitunas sometidas al método acelerado) en Base Seca de materia grasa correspondientes a las muestras en estudio, que están entre los valores reportados por Belitz Grosch (1992), para las aceitunas negras. Esta diferencia entre los valores de ambas muestras se debe a que fueron cosechadas en tiempos diferentes, con el fin de que concluyan el mismo día para hacer las evaluaciones correspondientes.
- **Carbohidratos:** según menciona Belitz Grosch, 1992, el % de carbohidratos para aceituna negra es de 5 a 15%, mientras que la aceituna en estudio reportó un 6,72% (para las aceitunas sometidas al método tradicional) y 7,46% (para las aceitunas sometidas al método acelerado), valores que se sitúan dentro de los valores citados por dicho autor.

- **Cenizas:** El valor de cenizas concuerda con los valores señalados por Marzano (2,36%); encontrándose para la aceituna en estudio 2,15% (para las aceitunas sometidas al método tradicional) y 2,32% (para las aceitunas sometidas al método acelerado).
- **Fibra:** el contenido de fibra bruta de la aceituna negra fue de 2,17% (para las aceitunas sometidas al método tradicional) y 1,88% (para las aceitunas sometidas al método acelerado), este valor está dentro de los valores reportados por Belitz Grosch (1992), que reporta de 1 a 4% de fibra bruta para aceitunas negras.
- **pH:** Se reportaron valores de 5,04 (para las aceitunas sometidas al método tradicional) y 4,97 unidades (para las aceitunas sometidas al método acelerado).
- **Acidez:** el contenido de acidez fue de 0,895% (para las aceitunas sometidas al método tradicional) y 0,864% (para las aceitunas sometidas al método acelerado), expresado como ácido cítrico, el cuál es el ácido predominante en el fruto.
- **Azúcares reductores:** se obtuvo valores de 4,40% (para las aceitunas sometidas al método tradicional) y 4,87% (método acelerado), los cuales están dentro de los valores reportados por Belitz Grosch (1992) que cita valores de 2 a 6% de azúcares reductores para aceitunas negras. El contenido en azúcares para las aceitunas son de gran importancia en los procesos de fermentación y son los que determinan el rendimiento de la misma, ya que de acuerdo al porcentaje de este componente en el fruto

se ve o no favorecida la fermentación, con el consecuente desarrollo de ácido láctico y otros compuestos por parte tanto de las bacterias lácticas como de las levaduras; al respecto, las muestras de aceituna en estudio tienen un buen porcentaje de azúcares reductores.

- ***Oleuropeína***: los datos reportados de ambas muestras fueron de 1,65 (para las aceitunas sometidas al método tradicional) y 1,54 unidades (para las aceitunas sometidas al método acelerado), dado que el método es comparativo y de carácter cualitativo, los resultados son expresados en unidades de absorbancia. Según Rodríguez de la Borbolla *et al* (1972), la dificultad de establecer la determinación cuantitativa, se basa en el hecho de que a lo largo de la purificación el producto parece sufrir cambios en la absorción en el ultravioleta, por lo que, a pesar de haber sido aislado y purificado, no se ha podido establecer la correspondiente ley de Beer.

Cuadro 4: Composición química de la pulpa de la aceituna negra sin procesar

Composición de la materia prima	Método tradicional		Método acelerado	
	Contenido (%)		Contenido (%)	
	B.H.	B.S.	B.H.	B.S.
Humedad	68,98	----	65,34	----
Materia grasa	1,82	58,05	21,46	56,78
Proteínas	1,78	5,68	1,54	4,29
Cenizas	2,15	6,86	2,32	6,46
Fibra	2,17	6,92	1,88	5,24
Carbohidratos	6,72	22,49	7,46	24,23
Oleuropeína (1)	1,65	----	1,54	----
Azúcares reductores	4,40	----	4,87	----
pH	5,04	----	4,97	----
Acidez *	0,895	----	0,864	----

Fuente: Elaboración propia

(1) En unidades de absorbancia a 345 nm de longitud de onda

(*) % de ácido cítrico

4.2 Evaluación del índice de madurez

Se emplearon aceitunas negras variedad sevillana, con un punto de madurez óptimo (índice de madurez de 6); para tal fin se tomó una muestra representativa de aceitunas y se realizó un muestreo tal como se indica en el ítem 2.4.1.1, realizándose la selección y lavado respectivo.

4.3 Procesamiento de aceitunas negras utilizando el método tradicional

La salmuera de fermentación se preparó a 8 °Bé, manteniéndose constante este valor por un periodo de 3 meses (90 días), realizando los respectivos remontajes de sal. Así mismo se realizó la adición de cloruro de calcio y ácido acético en concentración de 0,1% en la salmuera de fermentación.

4.3.1 Análisis fisicoquímicos durante la fermentación tradicional

En el cuadro 5 se registran los valores de pH y acidez en el tiempo, hasta los 90 días de fermentación, que es el tiempo mínimo de fermentación que se da a un procesamiento normal de aceitunas negras. Los análisis de pH y acidez de la salmuera durante el proceso de fermentación muestran el comportamiento de la materia prima en esta importante fase.

El pH asciende paulatinamente hasta el décimo día, con un promedio de 4,56; para luego ir descendiendo lentamente hasta llegar a 3,85 en el día 90 (figura 5). Este ascenso es debido a la salida de material soluble, ya que iniciadas las 48 y 72 horas el agua, los minerales, azúcares y otras sustancias contenidas en los frutos se diseminan por ósmosis a las salmueras, los cuales, debido al pH inicial del fruto aumentan el pH del medio líquido exterior hasta alcanzar el equilibrio.

En el mismo cuadro y en la figura 6, se observan los valores de acidez expresada en porcentaje de ácido láctico producido. Esta se incrementa con respecto al tiempo hasta alcanzar un valor máximo de 0,96% en el día 90. Debido a las características metabólicas primarias de muchas de sus especies y al hecho de que proliferan durante el proceso de fermentación, el proceso tradicional de fermentación de aceitunas negras naturales en salmuera produce una flora microbiana compuesta principalmente por levaduras, las cuales son consideradas causantes de la fermentación.

En una fermentación tradicional se consideran representativas las especies *Saccharomyces oleaginosus* y *Hansenula anómala* en primer lugar, y en segundo término *Torulopsis cándida*, *Derbarmyces hansenu*, *Cándida dioaldens* y *Pichia membranaefaciens* (Fernandez Diez y Colbs, 1985). Así mismo pueden desarrollarse bacterias lácticas, su crecimiento en el proceso tradicional se considera circunstancial, ya que solo aparece cuando el contenido de sal desciende por debajo de 8 a 8,5%. Según Fraizer (1981), la población láctica está compuesta por *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*, los dos últimos mencionados, son microorganismos que desaparecen antes debido a una baja resistencia a la acidez que los lactobacilos. En cuanto a las levaduras que se desarrollan durante toda la fermentación, crecen desde los inicios y llegan a su máximo incremento entre los 10 y 25 días de acomodar las aceitunas en la salmuera.

Cuadro 5: Análisis de pH y acidez de la salmuera durante el proceso de fermentación de la aceituna negra – método tradicional (90 días).

Análisis	Tiempo (días)						
	0	5	10	15	30	60	90
pH	3,80	4,90	4,56	4,28	4,12	3,96	3,85
Acidez (% de ácido láctico)	0,108	0,356	0,423	0,560	0,640	0,752	0,960

Fuente: elaboración propia

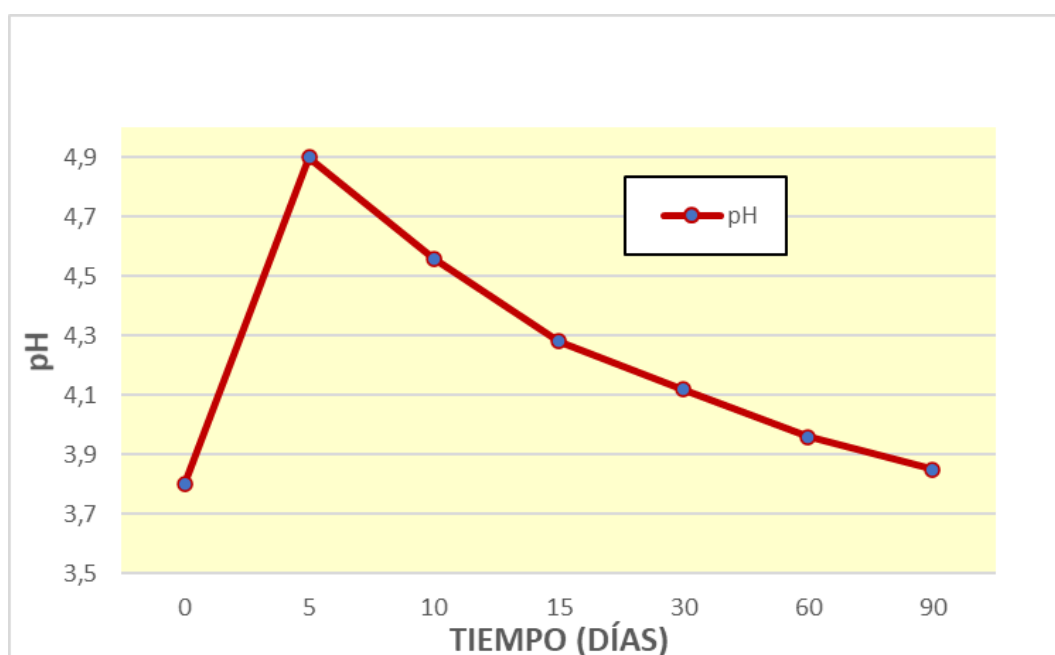


Figura 5: Variación del pH en la salmuera durante la fermentación de la aceituna negra - método tradicional (90 días).

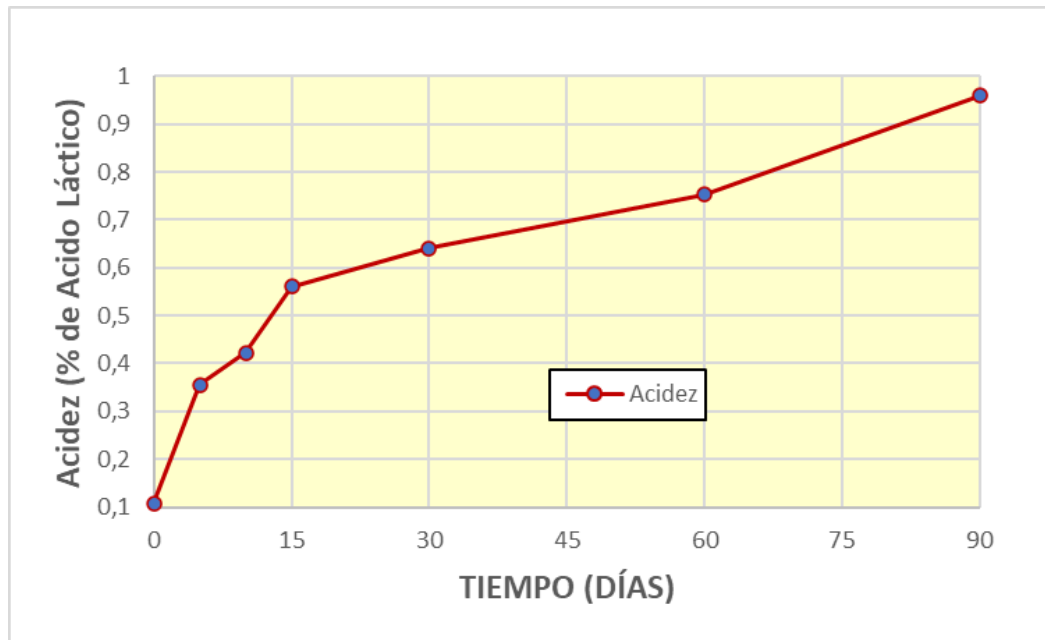


Figura 6: Variación de la acidez en la salmuera durante la fermentación de la aceituna negra - método tradicional (90 días).

4.3.2 Análisis microbiológico

Los resultados del análisis microbiológico realizado al final de la fermentación, se aprecian en el Cuadro 6, las cifras encontradas al final del proceso indican un recuento ligeramente alto, tanto de bacterias lácticas y de hongos y levaduras, lo cual nos indica que la fermentación aún continúa. A pesar de que la fermentación de aceitunas negras es rápida (3 meses aproximadamente), la disolución del principio amargo oleuropeína es lenta. La mayor parte del amargor se pierde en un periodo variable de tres a cinco meses (Rodríguez de la Borbolla, 1972).

Cuadro 6: Resultados del análisis microbiológico de la aceituna fermentada mediante el método tradicional.

Determinaciones microbiológicas	Resultados		
	A los 30 días de fermentación (ufc/ml)	A los 60 días de fermentación (ufc/ml)	A los 90 días de fermentación (ufc/ml)
Recuento de bacterias lácticas	1,8x10 ⁶	1,2x10 ⁴	2,5x10 ³
Coliformes totales	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Recuento de hongos y levaduras	4,1x10 ⁵	2,4x10 ⁷	1,2x10 ³

Fuente: Elaboración propia

4.4 Procesamiento de aceitunas negras utilizando al método acelerado

4.4.1 Análisis fisicoquímicos durante la fermentación acelerada

En el cuadro 7 se aprecian los resultados de los análisis de pH y acidez en la salmuera durante el proceso de la fermentación para los 6 tratamientos, durante 40 días, según el diseño estadístico propuesto; con las ideas desarrolladas debido al proceso en estudio.

La concentración de salmuera, en todos los ensayos, se tuvo que corregir cada 5 días y mantenerla a los valores especificados en el diseño experimental planteado hasta el final de la fermentación, es decir al día 40, donde el tejido celular de las aceitunas alcanzó la saturación de sal.

Cuadro 7: Análisis Físicoquímico de la salmuera durante el proceso de fermentación de la aceituna - Diseño Experimental

Técnica		Análisis	Dia								
Incremento de NaCl	Tiempo de permanencia		0	5	10	15	20	25	30	35	40
A	T1	pH	3,80	4,68	4,59	4,21	4,17	4,09	3,96	3,82	3,80
	T1	Acidez	0,10	0,17	0,23	0,30	0,36	0,38	0,43	0,48	0,58
	T1	°Bé	0,00	2,00	2,00	5,00	5,00	5,00	8,00	8,00	8,00
	T2	pH	3,80	4,72	4,39	4,08	3,82	3,75	3,60	3,56	3,50
	T2	Acidez	0,10	0,19	0,25	0,31	0,49	0,52	0,79	0,95	1,28
	T2	°Bé	0,00	0,00	2,00	5,00	5,00	8,00	8,00	8,00	8,00
B	T1	pH	3,80	4,55	4,37	4,39	4,16	4,12	4,09	4,05	4,00
	T1	Acidez	0,10	0,18	0,29	0,38	0,45	0,55	0,66	0,72	0,78
	T1	°Bé	0,00	4,00	4,00	6,00	6,00	6,00	8,00	8,00	8,00
	T2	pH	3,80	4,64	4,27	4,19	4,14	4,02	3,82	3,75	3,75
	T2	Acidez	0,10	0,16	0,20	0,38	0,46	0,53	0,69	0,78	0,95
	T2	°Bé	0,00	0,00	4,00	6,00	6,00	8,00	8,00	8,00	8,00
C	T1	pH	3,84	4,61	4,40	4,28	4,20	4,21	4,14	4,08	4,01
	T1	Acidez	0,10	0,22	0,32	0,38	0,45	0,54	0,60	0,66	0,69
	T1	°Bé	2,00	4,00	4,00	6,00	6,00	6,00	8,00	8,00	8,00
	T2	pH	3,84	4,58	4,49	4,13	4,13	3,88	3,82	3,79	3,64
	T2	Acidez	0,10	0,20	0,24	0,30	0,48	0,56	0,62	0,88	1,14
	T2	°Bé	2,00	2,00	4,00	6,00	6,00	8,00	8,00	8,00	8,00

Fuente: Elaboración propia

i) Efecto de las técnicas de incrementos de concentración salina y tiempos de permanencia a cada concentración, en la evolución del pH durante la fermentación.

Según los resultados de pH registrados en el Cuadro 7 y evaluados mediante el análisis de covarianza (ANCOVA), el efecto de las técnicas resultó ser no significativa, lo cual demuestra que no existe razón suficiente para afirmar que las diferentes técnicas presenten un comportamiento diferente en la evolución del pH a lo largo del tiempo de procesamiento (40 días) (Anexo 1). Sin embargo se destaca que para la técnica de tiempo de permanencia T1 se reportaron valores promedio de pH más elevados que la técnica de permanencia T2. Esta diferencia en los valores alcanzados en las pruebas anteriormente citadas se debe al tiempo en que se realizaron los respectivos incrementos de NaCl, observándose que mientras más tiempo permanecen las aceitunas en una salmuera diluida o en los primeros casos agua, hay una mayor difusión de los compuestos hidrosolubles de la aceituna y por lo tanto la velocidad de fermentación se acelera, con el consiguiente incremento de la acidez.

Como se observa en la Figura 7, el contenido de pH sufrió diversas tendencias, en los primeros días se produjo un ligero incremento hasta llegar a valores cercanos a 4,6, éste incremento se debe a la salida del jugo celular de la aceituna; luego de seguir el equilibrio, se produce un descenso del valor del pH hasta alcanzar a valores de 3,8, 4,0 y 4,01 (para las pruebas A1, B1 y C1 respectivamente); y a 3,5, 3,75 y 3,64 (para las pruebas A2, B2, y C2 respectivamente).

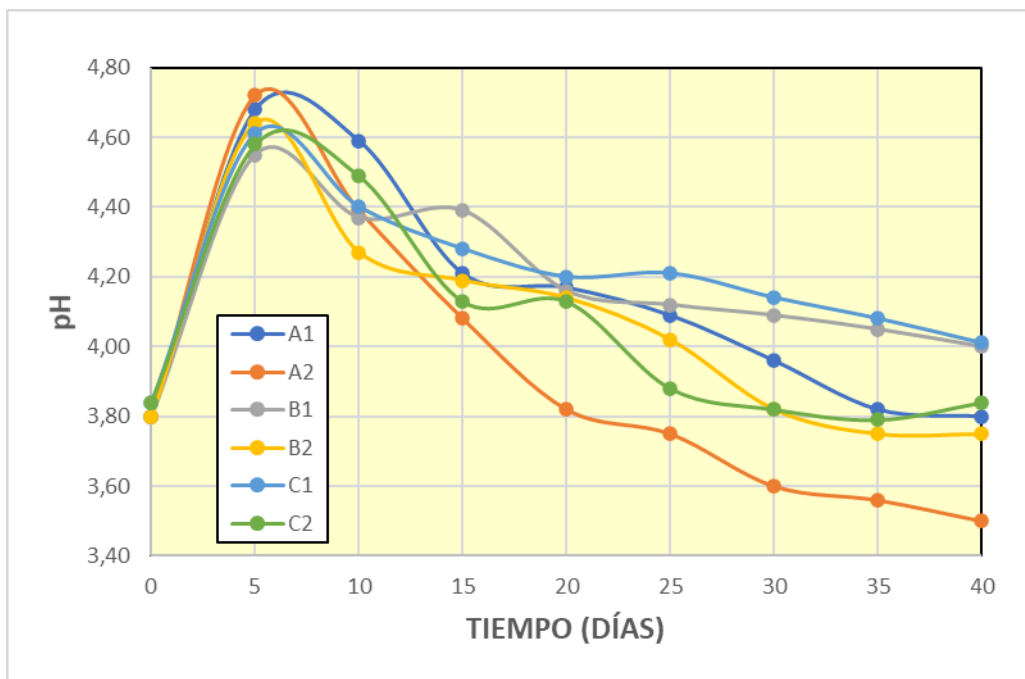


Figura 7: Evolución del pH en las diferentes técnicas de fermentación acelerada.

En la Figura 8 se observa la localización del promedio y los rangos de los valores máximos y mínimos de pH para cada técnica, en la cual se puede observar la tendencia de las técnicas con tiempo T2 a registrar niveles bajos de pH.

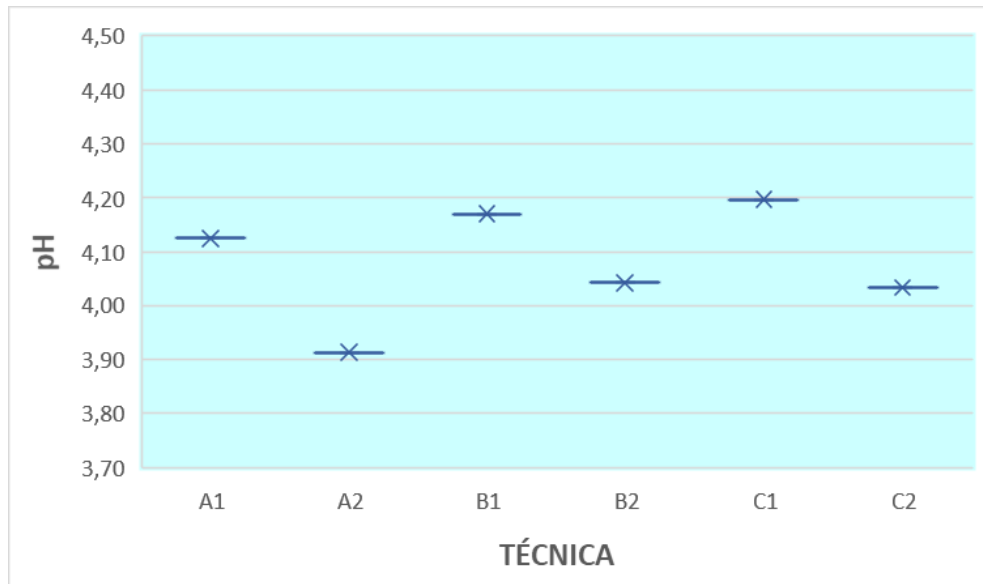


Figura 8: Valores promedio de pH de las diferentes técnicas de fermentación acelerada.

ii) Efecto de las técnicas de incrementos de concentración salina y tiempos de permanencia a cada concentración en la producción de ácido láctico durante la fermentación.

El análisis de covarianza según Anexo 2, realizado para evaluar el efecto de las técnicas de reducción del tiempo de fermentación, dió como resultado la diferencia significativa que existe entre ellas, tal es así que la prueba de significancia HSD Tukey muestra a la técnica A/T2 con un valor de acidez titulable promedio de 0,543%, la cual es la de mayor producción expresado como ácido láctico, y registra a la técnica A/T1 con un valor promedio de 0,336% como la de

menor acidez titulable; en general las técnicas correspondientes al tiempo T2 registran mayor contenido de acidez con respecto a las técnicas con tiempo T1, tal como se puede observar en la figura 9.

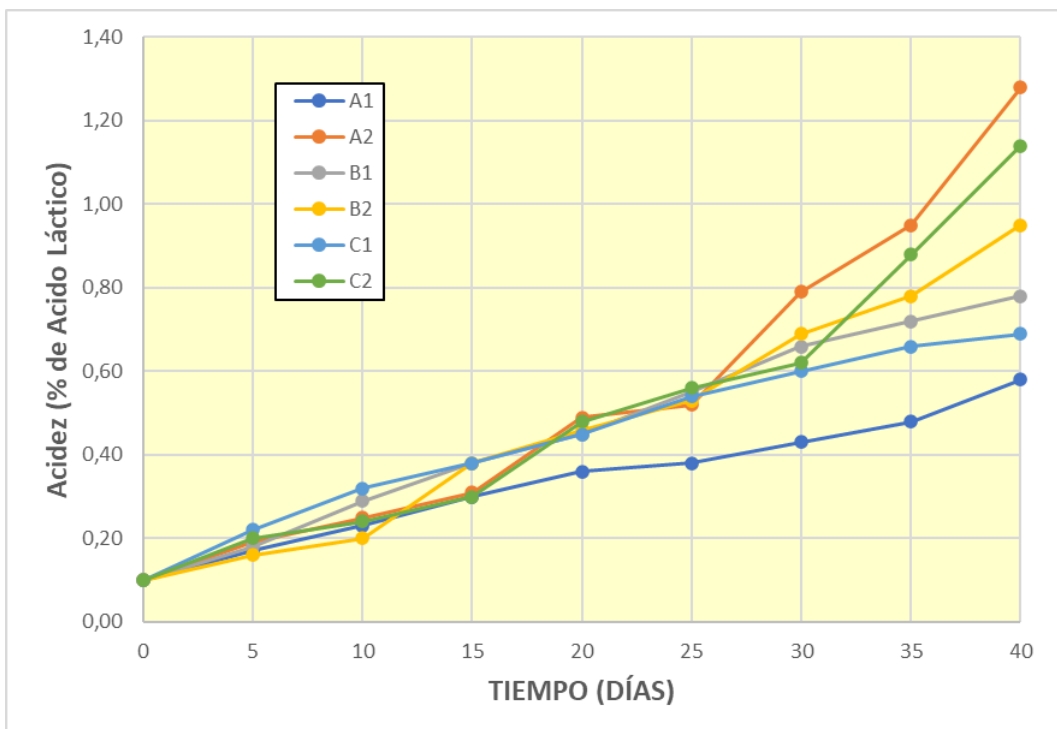


Figura 9: Producción de ácido láctico en las diferentes técnicas de fermentación acelerada.

En la figura 10 se observa la localización del promedio y los rangos de los valores máximos y mínimos de acidez titulable para cada técnica, en la cual se puede observar la tendencia de las técnicas con tiempo T2 a registrar altos niveles de % de acidez.

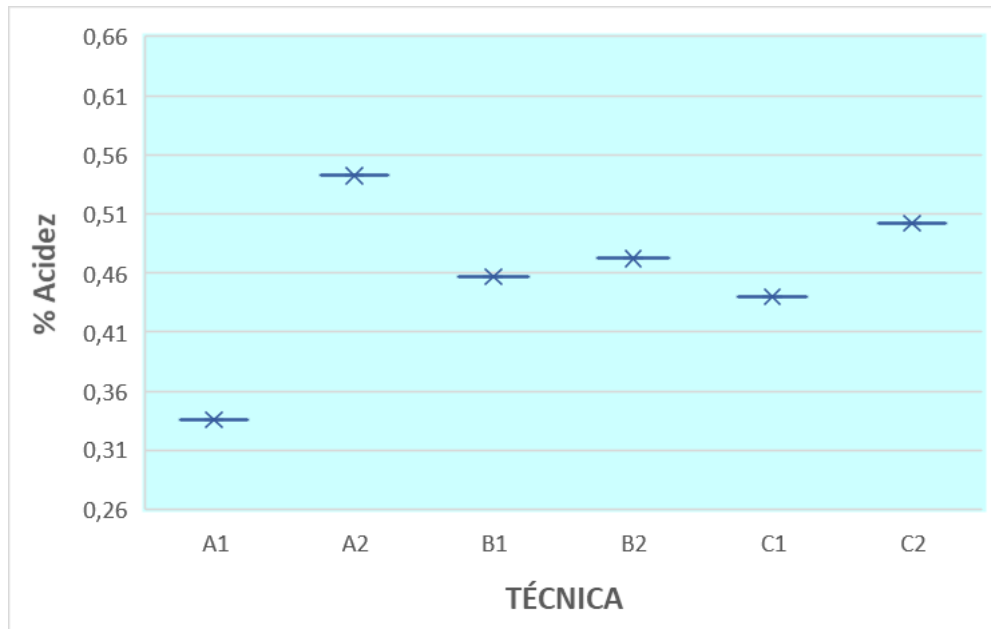


Figura 10: Valores promedio de producción de ácido láctico en las diferentes técnicas de fermentación acelerada.

4.4.2 Análisis microbiológicos durante la fermentación acelerada

Los resultados de los análisis microbiológicos se reportan en el Cuadro 8, los cuales se tomaron cada 10 días a lo largo del proceso fermentativo.

Cuadro 8: Recuento de bacterias lácticas, hongos y levaduras durante la fermentación de aceitunas negras - método acelerado.

Técnica	Tiempo (días)	Bacterias lácticas (ufc/ml)	Bacterias lácticas Log (ufc/ml)	Hongos y levaduras (ufc/ml)	Hongos y levaduras Log (ufc/ml)
AT1	1	710	2,85	240	2,38
AT1	10	53 000 000	7,72	1 200	3,08
AT1	20	2 000 000	6,30	18 000	4,26
AT1	30	250 000	5,40	26 000	4,41
AT1	40	7 200	3,86	1 800	3,26
AT2	1	630	2,80	130	2,11
AT2	10	37 000 000	7,57	1 800	3,26
AT2	20	25 000 000	7,40	1 200 000	6,08
AT2	30	9 800 000	6,99	2 200 000	6,34
AT2	40	2 400	3,38	56 000	4,75
BT1	1	530	2,72	310	2,49
BT1	10	1 600 000	6,20	1 800	3,26
BT1	20	2 100 000	6,32	900 000	5,95
BT1	30	160 000	5,20	6 500 000	6,81
BT1	40	780	2,89	4 400	3,64
BT2	1	270	2,43	190	2,28
BT2	10	72 000 000	7,86	520	2,72
BT2	20	11 000 000	7,04	230 000	5,36
BT2	30	600 000	5,78	1 800 000	6,26
BT2	40	2 800	3,45	14 000	4,15
CT1	1	110	2,04	180	2,26
CT1	10	7 000 000	6,85	1 200	3,08
CT1	20	1 200 000	6,08	210 000	5,32
CT1	30	390 000	5,59	7 000 000	6,85
CT1	40	1 700	3,23	19 000	4,28
CT2	1	110	2,04	130	2,11
CT2	10	800 000	5,90	10 000	4,00
CT2	20	5 900 000	6,77	350 000	5,54
CT2	30	320 000	5,51	6 600 000	6,82
CT2	40	2 400	3,53	130 000	5,11

Fuente: Elaboración propia

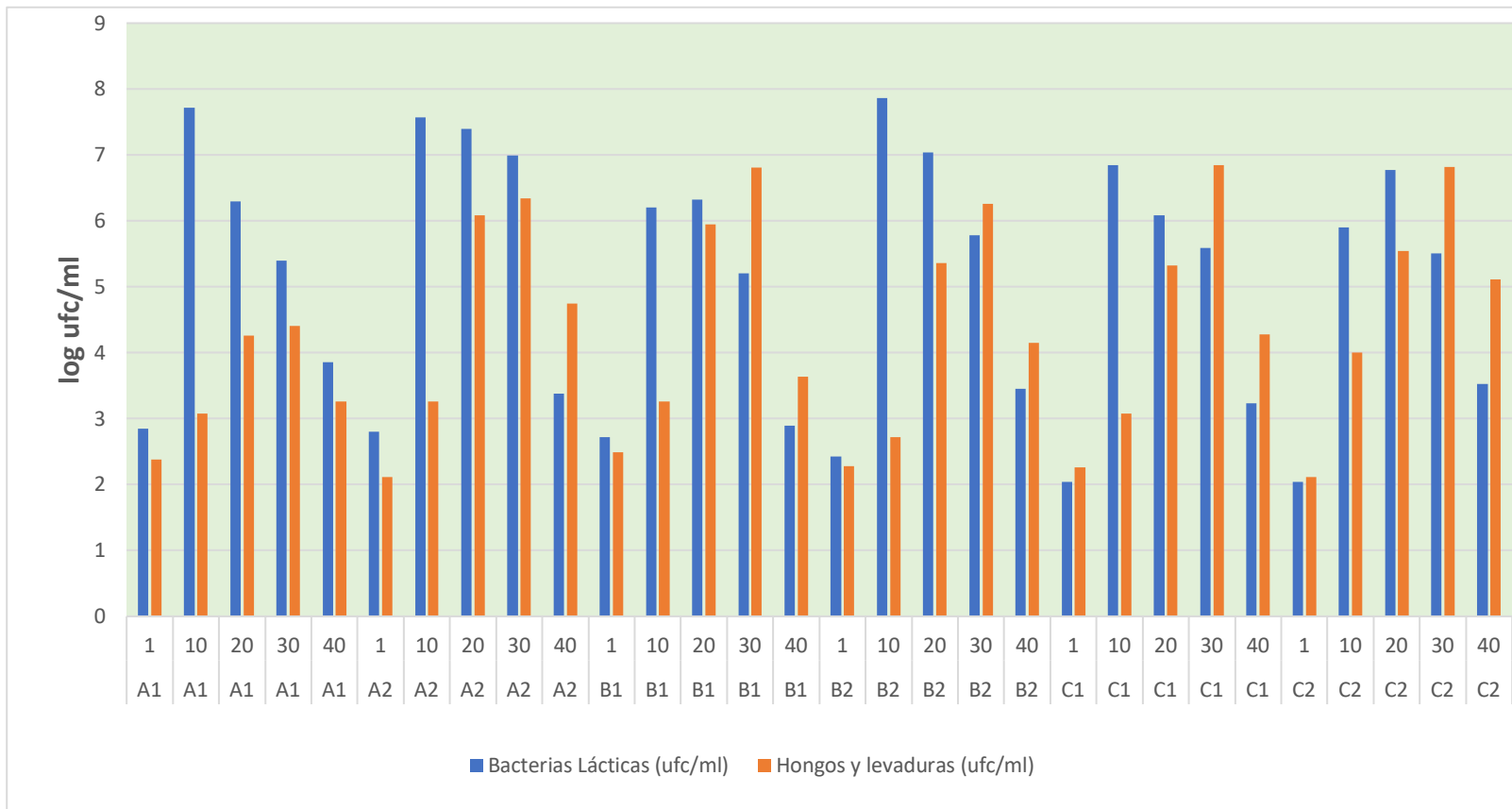


Figura 11: Crecimiento de bacterias lácticas, hongos y levaduras en las diferentes técnicas durante la fermentación

Acelerada.

En la figura 11 se puede apreciar el desarrollo de los microorganismos a lo largo de la fermentación. Como se puede observar, en la mayoría de casos, hay un predominio de bacterias lácticas (*Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Leuconostoc*), esto se debe al tiempo de permanencia de las aceitunas en las concentraciones especificadas para cada caso. Hay pruebas de rivalidad entre los dos tipos de microorganismos cuando se observa una disminución correspondiente de la población de levaduras junto con el crecimiento de la población láctica. (Rodríguez de la Borbolla, 1972).

4.5 Análisis estadístico de datos - evaluación sensorial

4.5.1 Efecto de las técnicas de incrementos de concentración salina y tiempos de permanencia a cada concentración en el atributo color

El análisis de varianza del Anexo 3, evalúa el efecto de las diferentes técnicas en el color del producto de la fermentación dando como resultado una diferencia significativa entre las diferentes muestras, tal es así que la prueba de significancia HSD Tukey la técnica C2 reporta el nivel de color más cercano al patrón, y que junto con la técnica C1 reportan valores promedio de calificación de 6,53 para C2 y 6,15 para C1, siendo para la muestra patrón X de 6,9; es decir el color obtenido para las técnicas de mejor comportamiento para el atributo color está en el rango me gusta moderadamente.

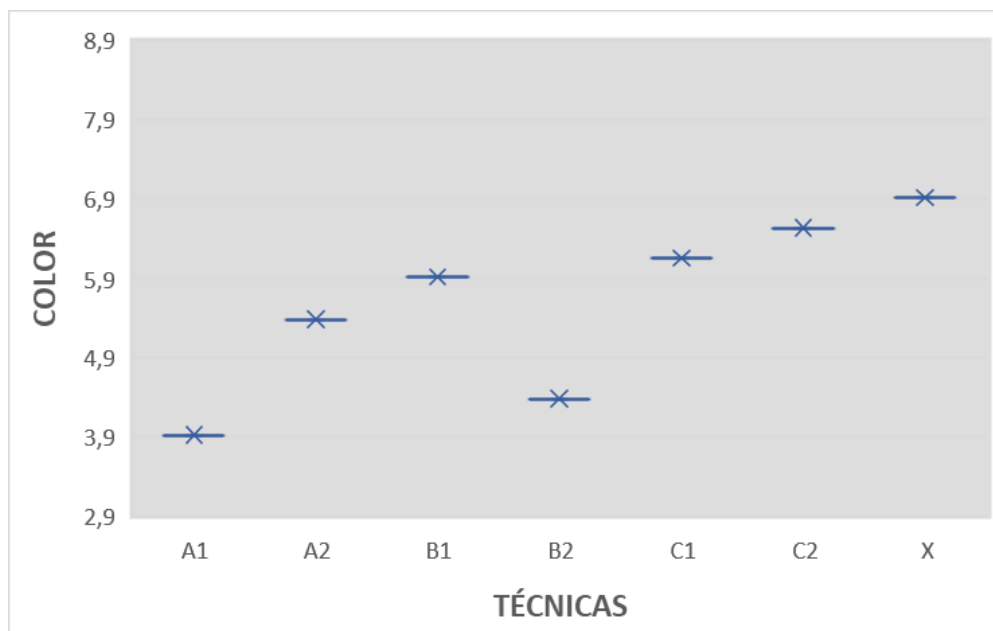


Figura 12: Promedio de calificación para el atributo color del producto final obtenido por las diferentes técnicas de fermentación acelerada.

La figura 12 muestra la tendencia general que tiene el grado de aceptación del color en función a las diferentes técnicas, además se ve el efecto lineal que hay en el nivel de color con respecto a las técnicas de incremento de concentración salina. Esta diferencia marcada en cuanto al color que presentan las diferentes muestras es debido al tipo de fermentación que desarrolló cada técnica. El desarrollo de una acidez láctica elevada da lugar a la aparición de tonos rojizos, mientras que en una fermentación con un desarrollo normal de levaduras, el color se conserva en regiones del espectro más cercanos a púrpura. (Rodríguez de la Borbolla, 1985).

4.5.2 Efecto de las técnicas de incrementos de concentración salina y tiempos de permanencia a cada concentración en el atributo sabor

El análisis de variancia para la evaluación del sabor de las diferentes técnicas, arrojó como resultado que la técnica C1 es estadísticamente más significativa con respecto a las técnicas A1 y A2, y además es la de mayor nivel con respecto a todas registrando un valor en la escala hedónica de 6,69; es decir está dentro del rango: *me gusta moderadamente*, indicando una aceptación satisfactoria para este tratamiento (Anexo 4).

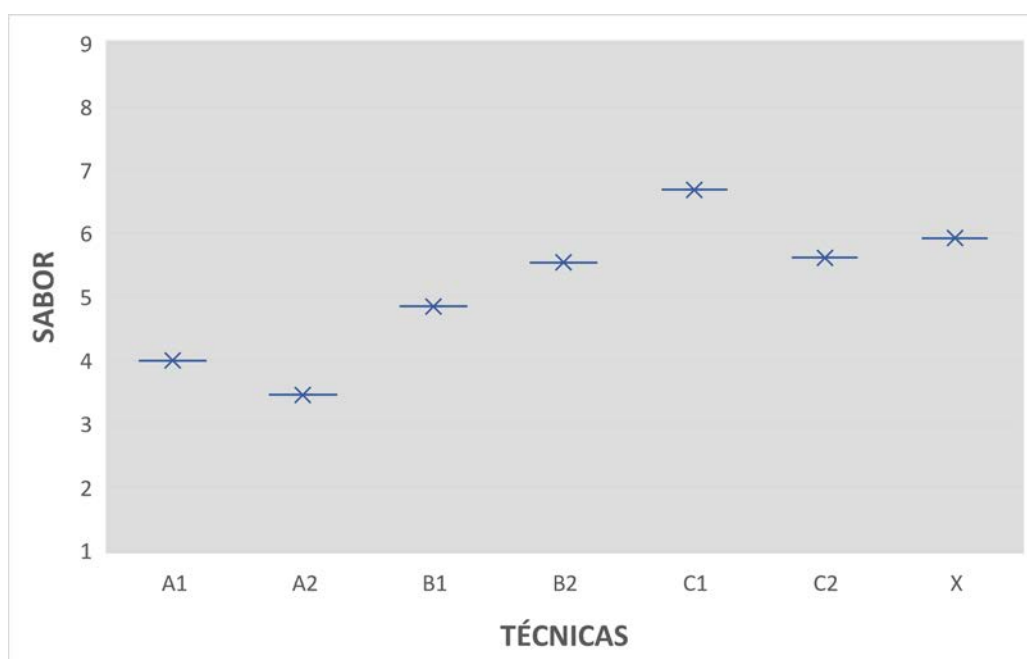


Figura 13: Promedio de calificación para el atributo sabor del producto final obtenido por las diferentes técnicas de fermentación acelerada.

La figura 13 destaca la diferencia significativa de la técnica C1 hallada por análisis de varianza, siendo inclusive más agradable que la muestra patrón.

4.5.3 Efecto de las técnicas de incrementos de concentración salina y tiempos de permanencia a cada concentración en el atributo textura.

En el Anexo 5 se verifica el efecto significativo de las diferentes técnicas con respecto a la textura, en el cual se observa para el patrón X un valor de 6,3 en la escala hedónica de 1 a 9, y un valor de 6 para la muestra C1, la cual es estadísticamente diferente a las muestras B2 y A1. Además, la muestra C1 da el mayor valor promedio de textura entre las diferentes técnicas desarrolladas, tal como se verifica en la figura 14.

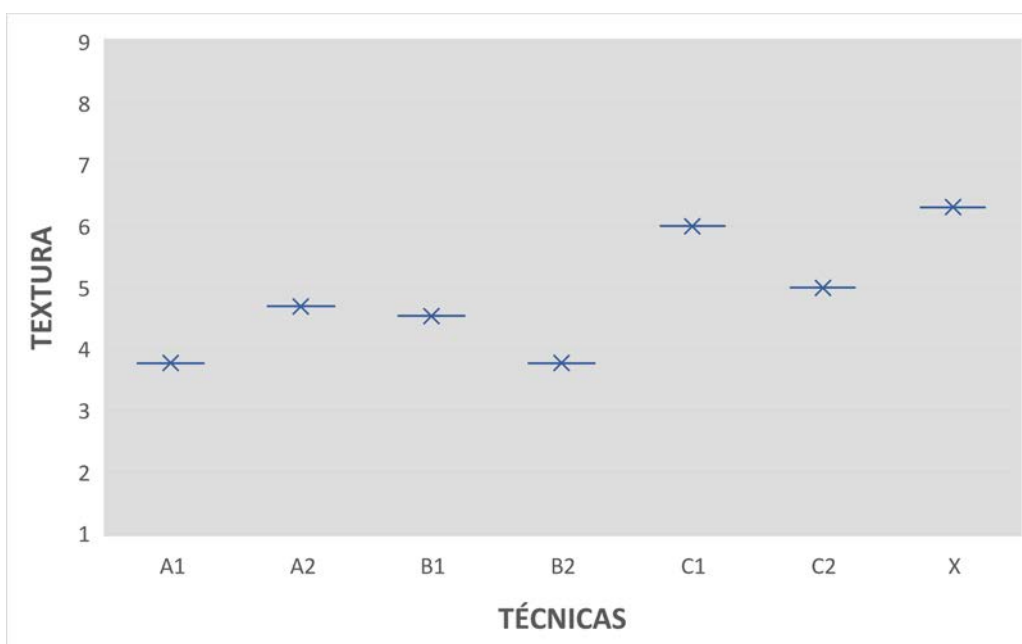


Figura 14: Promedio de calificación para el atributo textura del producto final obtenido por las diferentes técnicas de fermentación acelerada.

De los resultados obtenidos se concluye que para efecto de comercialización del producto final debe seguirse la técnica de reducción del

tiempo de fermentación codificada como C1, dado que es la que mejor textura y sabor presenta, siendo inclusive mejor que el patrón en el atributo sabor.

4.6 Análisis del producto terminado

4.6.1 Análisis químico

En los cuadros 9 y 10 se aprecian los resultados de la composición química de la aceituna procesada, en un análisis comparativo en base seca, tanto para el método tradicional, como para el método acelerado. Se considera como producto representante del método acelerado a la prueba C1.

- **Humedad:** Método tradicional: el contenido de agua disminuyó de 68,98 a 61,5% en el producto terminado; mientras que en el método acelerado la humedad disminuye de 65,34 a 61,2%. La pérdida de humedad durante el proceso fermentativo se debe a una ligera deshidratación del tejido del producto fermentado debido al ingreso de solutos, en especial la sal común. Debido al aumento de la presión osmótica externa provocado por el mayor contenido inicial de sal, que hace que la fruta se encoja permanentemente, se descarga más zumo y también se modifica el ritmo de fermentación. (www.agroinformación.com).
- **Proteínas:** El contenido de este componente disminuyó de 5,71 a 4,21% para el método tradicional y de 4,44 a 3,56% para el método acelerado, en base seca, según menciona Fernández (1985), esta merma se debe al consumo

de material nitrogenado por parte de bacterias productoras de ácido láctico durante la fermentación.

- **Grasa:** El contenido de este nutriente presentó poca variación, de 58,67 a 50,13% en base seca para el método tradicional, mientras que para el método acelerado disminuyó de 61,92 a 54,05% en base seca.
- **Carbohidratos:** Se pudo apreciar una fuerte disminución de 21,66 a 16,99% (método tradicional), y de 21,52 a 12,22% en el método acelerado. Esta disminución es debida al consumo de este nutriente por parte de las bacterias fermentativas.
- **Cenizas:** El gran aumento de cenizas en ambos casos, se debe indudablemente al agregado de NaCl a la salmuera preparada, y su difusión-ósmosis al fruto durante el proceso de fermentación, incrementándose así el contenido en el producto final.
- **Azúcares reductores:** Para el método tradicional se reportó un descenso de 4,40 a 0,70, mientras que para el método acelerado se reportó un descenso de 4,87 a 0,38.
- **Oleuropeína:** El contenido de esta disminuyó de 1,65 hasta 1,26 en el método tradicional, mientras que para el método acelerado el descenso fue de 1,54 a 0,98.

Cuadro 9: Análisis de la composición química de la aceituna procesada mediante fermentación tradicional

Componente	Método prima		Método final	
	Contenido (%)		Contenido (%)	
	B.H.	B.S.	B.H.	B.S.
Humedad	68,98	----	61,5	----
Materia grasa	18,2	58,67	19,3	50,13
Proteínas (1)	1,78	5,71	1,62	4,21
Cenizas	2,15	6,93	8,41	21,84
Fibra	2,17	7,00	2,63	6,83
Carbohidratos (2)	6,72	21,66	6,54	16,99
Oleuropeína (3)	1,65	----	1,26	----
Azúcares reductores	4,40	----	0,70	----
Acidez	0,895(*)	----	0,96(**)	----
pH	5,04	----	3,85	----

Fuente: Elaboración propia

(1) Factor de conversión de proteínas 6,25

(2) Por diferencia

(3) Medición en absorbancia a 345 nm

(*) Expresado en % de ácido cítrico

(**) Expresado en % de ácido láctico

Cuadro 10: Análisis de la composición química de la aceituna procesada mediante fermentación acelerada

Componente	Método prima		Método final	
	Contenido (%)		Contenido (%)	
	B.H.	B.S.	B.H.	B.S.
Humedad	65,34	----	61,2	----
Materia grasa	21,46	61,92	20,97	54,05
Proteínas (1)	1,54	4,44	1,38	3,56
Cenizas	2,32	6,69	9,70	25,00
Fibra	1,88	5,42	2,01	5,18
Carbohidratos (2)	7,46	21,52	4,74	12,22
Oleuropeína (3)	1,54	----	0,98	----
Azúcares reductores	4,87	----	0,38	----
Acidez	0,864(*)	----	0,69(**)	----
pH	4,97	----	4,01	----

Fuente: Elaboración propia

(1) Factor de conversión de proteínas 6,25

(2) Por diferencia

(3) Medición en absorbancia a 345 nm

(*) Expresado en % de ácido cítrico

(**) Expresado en % de ácido láctico

4.7 Análisis del producto en almacenamiento

Una vez concluido el experimento, se procedió a evaluar el comportamiento y la estabilidad del producto en almacenamiento luego de 45 días de almacenamiento, realizándose los análisis fisicoquímicos, sensorial y microbiológicos respectivos.

4.7.1 Análisis químico del producto en almacenamiento

En el Cuadro 11 se reporta el análisis químico de la aceituna durante el almacenamiento.

Cuadro 11: Composición química de la aceituna negra después de 45 días de almacenamiento.

Composición	Contenido (%)	
	B.H.	B.S.
Humedad	61,50	----
Materia grasa	20,85	54,16
Proteínas	1,28	3,32
Cenizas	9,70	25,19
Fibra	2,88	7,48
Carbohidratos	3,79	9,84
Oleuropeína (1)	0,88	----
Azúcares reductores	0,23	----
pH	3,92	----
Acidez (2)	0,86	----

Fuente: Elaboración propia.

(1) En unidades de absorbancia a 345 nm de longitud de onda

(2) % de ácido láctico

Como se puede apreciar, tanto la composición proximal y fisicoquímica han ido descendiendo lentamente durante su almacenamiento, debido a que todavía existe materia fermentable, llámense carbohidratos o azúcares reductores, los cuales son consumidos por los microorganismos presentes en el medio, con el consiguiente descenso de pH y aumento de la acidez láctica.

4.7.2 Análisis microbiológico del producto en almacenamiento

Los resultados de los análisis microbiológicos realizados a los 45 días, al producto final se aprecian en el Cuadro 12, las cifras encontradas indican un bajo recuento tanto en bacterias lácticas, de mohos y levaduras, y ausencia de coliformes; lo cual nos indica que es un producto de calidad microbiológica aceptable para productos de consumo humano, libre de patógenos y putrefactivos. Por otro lado, las cifras sirven para confirmar la efectividad del proceso empleado.

Cuadro 12: Resultados del análisis microbiológico de aceituna negra fermentada bajo el método acelerado.

Determinaciones Microbiológicas	Resultados
Recuento de bacterias lácticas	$1,2 \times 10^2$ ufc/ml
Coliformes totales	Ausencia
Recuento de mohos y levaduras	1×10^2 ufc/ml

Fuente: Elaboración propia

4.8 Análisis sensorial

De los resultados mostrados en el Cuadro 13, de la prueba de aceptabilidad aplicada a la aceituna procesada en almacenamiento durante 45 días; mediante la prueba de Ranking, utilizando la tabla de Kramer y con un nivel de significación establecido de 5%; se llegó a la conclusión que la muestra correspondiente a la técnica de fermentación acelerada C1 es más aceptada que las otras muestras, así mismo la menos aceptada resultó ser la técnica A1.

La figura 15 muestra gráficamente el distanciamiento marcado de las muestras A1, A2, B1 y B2 con respecto a las muestras C2 y C1 que es la técnica que mejor aceptación general alcanzó en la escala de Ranking de las 6 muestras.

4.9 Flujo definitivo

En la figura 16, se presenta el flujo definitivo para aceitunas negras (*Olea europaea sativa* L.), variedad sevillana, procesadas bajo el método de fermentación acelerada, con los parámetros finales obtenidos en base a los resultados y evaluaciones del diseño experimental realizados en la presente investigación.

Cuadro 13: Resultados de la prueba Ranking para la aceptabilidad de las aceitunas negras producto final.

JUECES	A/T1	A/T2	B/T1	B/T2	C/T1	C/T2
1	6	4	5	3	1	2
2	5	6	3	4	2	1
3	5	6	2	4	1	3
4	2	5	4	3	1	2
5	6	4	5	1	2	3
6	5	3	6	4	2	1
7	3	4	5	6	2	1
8	5	3	4	5	1	2
9	4	6	3	5	2	1
10	3	6	5	2	1	4
11	6	5	4	3	2	1
12	6	5	1	4	2	3
13	5	6	3	2	1	4
Σ	61	63	50	46	20	28

Fuente: Elaboración propia

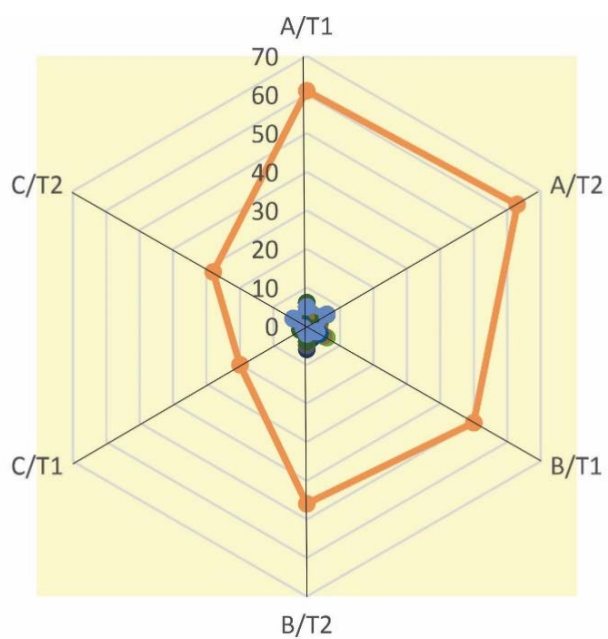


Figura 15: Resultados de las sumatorias de la prueba de Ranking

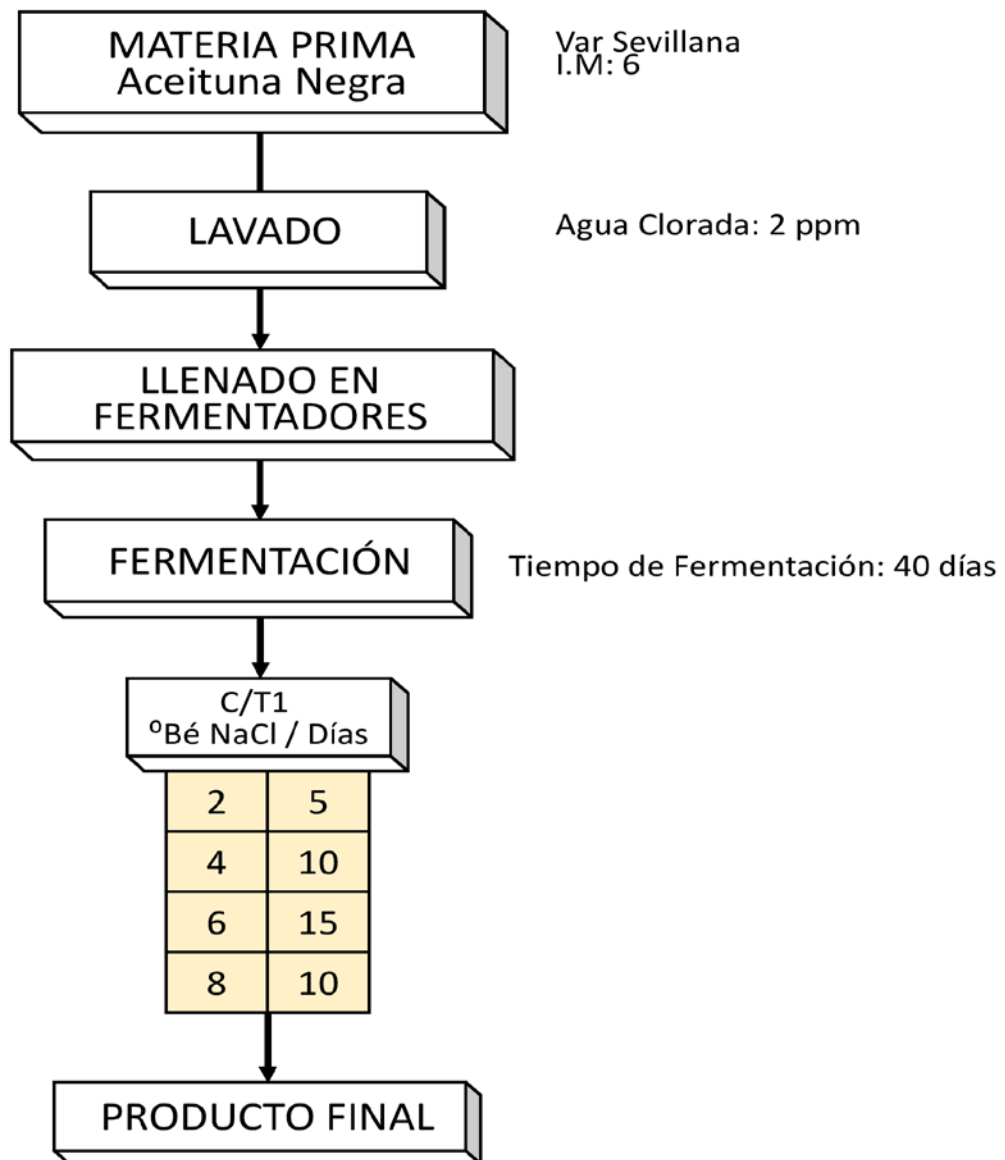


Figura 16: Diagrama de flujo definitivo para la fermentación de aceitunas negras (*Olea europaea sativa* L.), variedad sevillana, procesada bajo el método acelerado.



Figura 17: Aceituna negra (*Olea europaea sativa* L.), variedad sevillana, procesada bajo el método acelerado.

CONCLUSIONES

1. Para aplicar una técnica adecuada de reducción del tiempo de fermentación de la aceituna se debe utilizar la técnica C/T1, planteada en el presente trabajo, la cual consiste en la interacción de la técnica de incrementos progresivos de concentración salina C a lo largo de los días especificados en la técnica T1, iniciando con 2 °Bé durante 5 días, seguido por un incremento a 4 °Bé durante 10 días, luego 6 °Bé por 15 días y 8 °Bé durante 10 días.
2. En todas las técnicas de reducción del tiempo de fermentación estudiadas, la secuencia del crecimiento de microorganismos al inicio del proceso corresponden a una fermentación típicamente láctica, es decir, se observa un desarrollo inicial de bacterias lácticas, en mayor cantidad que los hongos y levaduras dado que éstas se pueden desarrollar a bajas concentraciones salinas; asimismo al incrementar las concentraciones de NaCl el crecimiento de hongos y levaduras se ve favorecido, con el consiguiente descenso del desarrollo de bacterias lácticas, dada su poca tolerancia a concentraciones salinas elevadas.
3. La técnica C/T1 (incremento de NaCl: 2 - 4 - 6 - 8 °Bé, con tiempo de permanencia 5 - 10 - 15 - 10 días), con un valor en la escala hedónica de 1 a 9, de 7 es la que mejor sabor (6,7) y textura (6,3) presentó, incluso superando en sabor al producto

obtenido por fermentación tradicional. En cuanto a pH y acidez finales, alcanzó valores de 4,01 y 0,69% de ácido láctico respectivamente. Con respecto al análisis microbiológico, se reporta un bajo contenido de bacterias lácticas, así como de hongos y levaduras, lo que demuestra que el proceso fermentativo está en su culminación debido al consumo de material fermentable por parte de estos microorganismos.

4. La composición proximal del producto obtenido fue: humedad 61,20%, materia grasa 20,97%, proteínas 1,38%, cenizas 9,7%, fibra 2,01%, carbohidratos 4,74%, oleuropeína 0,98%, azúcares reductores 0,38%, pH 4,01, acidez 0,69% de ácido láctico, NaCl 8 °Bé.

5. Durante su almacenamiento el producto continúa fermentando, aunque en menor escala, esto se debe a que todavía existen en el medio carbohidratos o azúcares reductores, los cuales son usados por los microorganismos presentes en el medio.

RECOMENDACIONES

1. Para llevar a cabo el método que se plantea en el presente trabajo se recomienda la utilización de fermentadores de capacidad de 500 a 1000 kg. La utilización de fermentadores de mayor tamaño puede ocasionar daños físicos en el producto.
2. Evaluar comparativamente la textura de la aceituna procesada bajo diversas condiciones de fermentación.
3. Realizar un estudio del tipo de bacterias lácticas que se desarrollan durante una fermentación acelerada.
4. Realizar un estudio de la fermentación acelerada de aceitunas utilizando cultivos lácticos especiales.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (A.O.A.C.).
"Official Methods of Analysis". 13th edition.. Washington, D.C. 1981.
- 2 BARRANCO, Diego. "El olivo variedades y patrones". Ediciones
Mundi-prensa. Junta de Andalucía. 1997.
- 3 BELITZ Grosch "Química de los alimentos". 2da Edición. Editorial
Acribia. Zaragoza, España. 1992
- 4 BUESCHER R, HUDSON J. "Utilization of calcium to reduce
pectinolytic softening of cucumber pickles in low salt conditions". Food
Technology 9/9. 1981
- 5 BURGEONIS C.M. y Colbs "Microbiología Alimentaria". Editorial Acribia.
Zaragoza, España. 1994
- 6 CASTILLO, Marcial. "Influencia de la acidificación por ácido acético en
la fermentación de aceitunas de mesa". Tesis FAIA. UNJBG. Tacna
Perú. 1992.
- 7 CHEFTEL, J y CHEFTEL, H. "Introducción a la Bioquímica y
Tecnología de los Alimentos". Editorial Acribia. Zaragoza, España.
1982.
- 8 DURAN QUINTANA M. Carmen. "Microorganismos responsables del

- proceso de fermentación de aceitunas negras al natural en salmuera”
Instituto de la grasa y sus derivados. Sevilla. 1976.
- 9 GASCÓN A, CONTRADÍ C. Y ANTONIOLLI A. “Conservación de frutas y hortalizas”. Facultad de Ciencias Agrarias.U.N.C. – INTA. Lujan de Cuyo, Mendoza, Argentina. 2000.
 - 10 FERNANDEZ DIEZ Y COLBS. “Biotecnología de la aceituna de mesa”. Instituto de la grasa y sus derivados. Sevilla, España. 1985.
 - 11 FRAIZER, W. “Microbiología de los Alimentos” 2da edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 1981.
 - 12 GALLEGOS, M. “Técnicas en el Procesamiento de Aceituna de Mesa”. Tesis, FAIA – UNJBG. Tacna Perú. 1999
 - 13 HERMOSO M., UCEDA M., FRIAS L. y BELTRÁN G. “El cultivo del olivo”. Ediciones Mundi-Prensa. Junta de Andalucía. 1997.
 - 14 HOLDSWORTH S. “Conservación de frutas y hortalizas”. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 1988.
 - 15 HURTADO, MANUEL.” Caracterización de las variedades de olivo en el departamento de Moquegua y Tacna”. Trabajo informe FCAG – UNJBG. Tacna, Perú. 2004
 - 16 MARZANO D. “Determinación de los parámetros en el procesamiento de aceitunas de mesa”. Tesis FAIA – UNJBG. Tacna, Perú. 1988.
 - 17 NORMA CODEX STAN 66 – 1981 – COI – Aceituna de Mesa
 - 18 NTP N 209.098. Aceituna de mesa. INDECOPI. Lima, Perú. 1976.

- 19 RALLO, M. P. "El papel de los procesos celulares y de la diferenciación en el crecimiento del fruto en cinco cultivares de olivo (*Olea europaea sativa* L.)" E.T.S.I.A.M., Universidad de Córdoba. 1994.
- 20 RODRIGUEZ DE LA BORBOLLA Y ALCALA." Elaboración de aceitunas negras". Instituto de la grasa y sus derivados. Sevilla, España. 1972.
- 21 RODRIGO M. y ALVARUIZ A. "Fermentación láctica dirigida de productos vegetales", Revista Agroquim Nº 18. Tecnología Alimentaria. México. 1985.
- 22 STRASBURGUES E. "Tratado de Botánica". 7ma edición. Editorial Omega. Barcelona, España. 1990.
- 23 TOUS MARTI Joan y ROMERO AROCA Agusti. "Variedades del olivo". Fundación La Caixa. 1ra edición. Barcelona, España. 1993.
- 24 www.infoagro.com
- 25 www.agroinformación.com

ANEXOS

ANEXO 1: ANÁLISIS DE COVARIANZA Y PRUEBA DE SIGNIFICANCIA PARA LA EVALUACIÓN DEL pH

Análisis de la Varianza para pH - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
COVARIANTES					
DIA	1.37888	1	1.37888	19.95	0.0001
EFECTOS PRINCIPALES					
A:TECNICA	0.456622	5	0.0913244	1.32	0.2716
RESIDUOS	3.24929	47	0.0691339		
TOTAL (CORREGIDO)	5.0848	53			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

ANEXO 2: ANÁLISIS DE COVARIANZA Y PRUEBA DE SIGNIFICANCIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACIDEZ

Análisis de la Varianza para Acidez - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
COVARIANTES					
DIA	3.35453	1	3.35453	347.96	0.0000
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:TECNICA	0.223588	5	0.0447176	4.64	0.0016
RESIDUOS	0.45311	47	0.00964064		
TOTAL (CORREGIDO)	4.03123	53			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Contraste Múltiple de Rangos para Acidez según TECNICA

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

TECNICA	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
A1	9	0.335667	0.0327289	X
C1	9	0.439556	0.0327289	XX
B1	9	0.455667	0.0327289	XXX
B2	9	0.473556	0.0327289	XXX
C2	9	0.503667	0.0327289	XX
A2	9	0.542889	0.0327289	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A1 - A2	*-0.207222	0.112434
A1 - B1	-0.12	0.163683
A1 - B2	-0.137889	0.163683
A1 - C1	-0.103889	0.163683
A1 - C2	*-0.168	0.163683
A2 - B1	0.0872222	0.088807
A2 - B2	0.0693333	0.088807
A2 - C1	*0.103333	0.088807
A2 - C2	0.0392222	0.088807
B1 - B2	-0.0178889	0.137497
B1 - C1	0.0161111	0.137497
B1 - C2	-0.048	0.137497
B2 - C1	0.034	0.137497
B2 - C2	-0.0301111	0.137497
C1 - C2	-0.0641111	0.137497

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 3: ANÁLISIS DE COVARIANZA Y PRUEBA DE SIGNIFICANCIA PARA LA EVALUACIÓN DEL COLOR

Análisis de la Varianza para COLOR - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:MUESTRAS	95.9121	6	15.9853	5.62	0.0001
B:JUECES	41.1868	12	3.43223	1.21	0.2950
RESIDUOS	204.659	72	2.84249		
TOTAL (CORREGIDO)	341.758	90			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.
Contraste Múltiple de Rangos para COLOR según MUESTRAS

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

MUESTRAS	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
A1	13	3.92308	0.467604	X
B2	13	4.38462	0.467604	XX
A2	13	5.38462	0.467604	XXX
B1	13	5.92308	0.467604	XXX
C1	13	6.15385	0.467604	XX
C2	13	6.53846	0.467604	X
X	13	6.92308	0.467604	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A1 - A2	-1.46154	2.00582
A1 - B1	-2.0	2.00582
A1 - B2	-0.461538	2.00582
A1 - C1	*-2.23077	2.00582
A1 - C2	*-2.61538	2.00582
A1 - X	*-3.0	2.00582
A2 - B1	-0.538462	2.00582
A2 - B2	1.0	2.00582
A2 - C1	-0.769231	2.00582
A2 - C2	-1.15385	2.00582
A2 - X	-1.53846	2.00582
B1 - B2	1.53846	2.00582
B1 - C1	-0.230769	2.00582
B1 - C2	-0.615385	2.00582
B1 - X	-1.0	2.00582
B2 - C1	-1.76923	2.00582
B2 - C2	*-2.15385	2.00582
B2 - X	*-2.53846	2.00582
C1 - C2	-0.384615	2.00582
C1 - X	-0.769231	2.00582
C2 - X	-0.384615	2.00582

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 4: ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE SIGNIFICANCIA PARA LA EVALUACIÓN DEL SABOR

Análisis de la Varianza para SABOR - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:MUESTRAS	98.9231	6	16.4872	4.41	0.0007
B:JUECES	39.8462	12	3.32051	0.89	0.5622
RESIDUOS	269.077	72	3.73718		
TOTAL (CORREGIDO)	407.846	90			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Contraste Múltiple de Rangos para SABOR según MUESTRAS

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

MUESTRAS	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
A2	13	3.46154	0.536167	X
A1	13	4.0	0.536167	XX
B1	13	4.84615	0.536167	XXX
B2	13	5.53846	0.536167	XXX
C2	13	5.61538	0.536167	XXX
X	13	5.92308	0.536167	XX
C1	13	6.69231	0.536167	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A1 - A2	0.538462	2.29993
A1 - B1	-0.846154	2.29993
A1 - B2	-1.53846	2.29993
A1 - C1	*-2.69231	2.29993
A1 - C2	-1.61538	2.29993
A1 - X	-1.92308	2.29993
A2 - B1	-1.38462	2.29993
A2 - B2	-2.07692	2.29993
A2 - C1	*-3.23077	2.29993
A2 - C2	-2.15385	2.29993
A2 - X	*-2.46154	2.29993
B1 - B2	-0.692308	2.29993
B1 - C1	-1.84615	2.29993
B1 - C2	-0.769231	2.29993
B1 - X	-1.07692	2.29993
B2 - C1	-1.15385	2.29993
B2 - C2	-0.0769231	2.29993
B2 - X	-0.384615	2.29993
C1 - C2	1.07692	2.29993
C1 - X	0.769231	2.29993
C2 - X	-0.307692	2.29993

* indica una diferencia significativa.

ANEXO 5: ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE SIGNIFICANCIA PARA LA EVALUACIÓN DE LA TEXTURA

Contraste Múltiple de Rangos para TEXTURA según MUESTRAS

Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey

MUESTRAS	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
B2	13	3.76923	0.471853	X
A1	13	3.76923	0.471853	X
B1	13	4.53846	0.471853	XX
A2	13	4.69231	0.471853	XX
C2	13	5.0	0.471853	XX
C1	13	6.0	0.471853	X
X	13	6.30769	0.471853	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
A1 - A2	-0.923077	2.02405
A1 - B1	-0.769231	2.02405
A1 - B2	0.0	2.02405
A1 - C1	*-2.23077	2.02405
A1 - C2	-1.23077	2.02405
A1 - X	*-2.53846	2.02405
A2 - B1	0.153846	2.02405
A2 - B2	0.923077	2.02405
A2 - C1	-1.30769	2.02405
A2 - C2	-0.307692	2.02405
A2 - X	-1.61538	2.02405
B1 - B2	0.769231	2.02405
B1 - C1	-1.46154	2.02405
B1 - C2	-0.461538	2.02405
B1 - X	-1.76923	2.02405
B2 - C1	*-2.23077	2.02405
B2 - C2	-1.23077	2.02405
B2 - X	*-2.53846	2.02405
C1 - C2	1.0	2.02405
C1 - X	-0.307692	2.02405
C2 - X	-1.30769	2.02405

* indica una diferencia significativa.

Análisis de la Varianza para TEXTURA - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:MUESTRAS	77.033	6	12.8388	4.44	0.0007
B:JUECES	22.989	12	1.91575	0.66	0.7816
RESIDUOS	208.396	72	2.89438		
TOTAL (CORREGIDO)	308.418	90			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

ANEXO 6:

**FORMATO DEL TEST HEDONICO PARA EL COLOR DE LAS
ACEITUNAS**

NOMBRE:

FECHA:.....

PRODUCTO:

INSTRUCCIONES: Por favor compare el color de las muestras y sirvase calificar de acuerdo a la siguiente escala:

- Me gusta muchísimo..... 9
- Me gusta mucho 8
- Me gusta moderadamente 7
- Me gusta ligeramente 6
- Indiferente 5
- Me disgusta ligeramente 4
- Me disgusta regularmente 3
- Me disgusta mucho 2
- Me disgusta muchísimo 1

ANEXO 7:

**FORMATO DEL TEST HEDONICO PARA EL SABOR DE LAS
ACEITUNAS**

NOMBRE:

FECHA:.....

PRODUCTO:

INSTRUCCIONES: Por favor compare el sabor de las muestras y sirvase calificar de acuerdo a la siguiente escala:

- Me gusta muchísimo..... 9
- Me gusta mucho 8
- Me gusta moderadamente..... 7
- Me gusta ligeramente 6
- Indiferente 5
- Me disgusta ligeramente 4
- Me disgusta regularmente 3
- Me disgusta mucho 2
- Me disgusta muchísimo 1

ANEXO 8:

**FORMATO DEL TEST HEDONICO PARA LA TEXTURA DE LAS
ACEITUNAS**

NOMBRE:
FECHA:.....
PRODUCTO:
INSTRUCCIONES: Por favor compare la textura de las muestras y sírvase calificar de acuerdo a la siguiente escala:
➤ Me gusta muchísimo..... 9
➤ Me gusta mucho 8
➤ Me gusta moderadamente 7
➤ Me gusta ligeramente 6
➤ Indiferente 5
➤ Me disgusta ligeramente 4
➤ Me disgusta regularmente 3
➤ Me disgusta mucho 2
➤ Me disgusta muchísimo 1
Gracias

ANEXO 9:**EQUIVALENTE DE SAL PARA SOLUCIONES PURAS**

°BÉ	% W/V (NACL)
0,8	100
1,8	2,02
3,8	4,11
4,3	4,64
4,8	5,18
5,3	5,71
5,8	6,25
6,2	6,79
6,5	7,04
6,8	7,59
7,0	7,95
7,3	8,16
7,7	8,45
8,0	8,80
8,2	9,04
8,5	9,34
9,0	9,99
9,3	10,35

Fuente: A. Garrido Fernández, M. J. Fernández, k Diez y M.R. Adams (1997).