



**UNIVERSIDAD DE CHILE.
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS.
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y
TECNOLOGÍA QUÍMICA.**

**OPTIMIZACIÓN DEL TIEMPO Y LA TEMPERATURA DE
AMASADO DE PASTA DE ACEITUNAS (*Olea europea
sativa*) VARIEDAD FRANTOIO. CARACTERIZACIÓN
FISICO-QUÍMICA DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA
OBTENIDO.**

Memoria para optar al Título Profesional de Ingeniero en Alimentos

CLAUDIA LORENA VERGARA PÉREZ.

Profesor Patrocinante: QF. Sra. Lilia Masson S.

Profesora Directora: QF. Sra. Nalda Romero Palacios.

Director: T.Ag. Sr. Marco Munizaga Araya.

**SANTIAGO, CHILE
2005**

EMPRESA AGRÍCOLA VALLE GRANDE LTDA.

MEMORIA DE CIRCULACIÓN RESTRINGIDA DESDE ENERO 2005 HASTA ENERO 2007.



**UNIVERSIDAD DE CHILE.
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS.
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y
TECNOLOGÍA QUÍMICA.**

**OPTIMIZACIÓN DEL TIEMPO Y LA TEMPERATURA DE
AMASADO DE PASTA DE ACEITUNAS (*Olea europea
sativa*) VARIEDAD FRANTOIO. CARACTERIZACIÓN
FISICO-QUÍMICA DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA
OBTENIDO.**

Memoria para optar al Título Profesional de Ingeniero en Alimentos

CLAUDIA LORENA VERGARA PÉREZ.

CALIFICACIONES:

NOTA:

FIRMA:

Prof. Patrocinante: QF. Sra. Lilia Masson Salaue

.....

Prof. Director: QF. Sra. Nalda Romero Palacios

.....

Director: T.Ag. Sr. Marco Munizaga Araya

.....

**SANTIAGO - CHILE
2005**

EMPRESA AGRÍCOLA VALLE GRANDE LTDA.

MEMORIA DE CIRCULACIÓN RESTRINGIDA DESDE ENERO 2005 HASTA ENERO 2007.

A mis papas, sin ellos nada de esto existiría. A Enrico y a Josefina, que iluminan mi vida cada día. A mis hermanas, a toda mi familia y a la abuelita Ana, que desde el cielo nos protege y nos mantiene unidos...

AGRADECIMIENTOS

Al Sr. Elvio Olave, que financió esta tesis y me entregó sus conocimientos y experiencia en el tema.

A la Sra. Lilia Masson, que guió esta memoria, entregando sus conocimientos y su cordialidad en todo momento.

A la Sra. Nalda Romero, que guió y corrigió la memoria y el trabajo práctico.

Al profesor Reinaldo López, que en forma anónima contribuyó al desarrollo de la memoria.

Al tío Osvaldo y Felipe, al momento de imprimir, corregir y escanear.

A Enrico, por su apoyo incondicional y su paciencia durante la carrera y la realización de la memoria.

A mi mamá, por ser la segunda mamá de Josefina y por su apoyo incondicional.

A mi papá y mis hermanas, por su alegría y comprensión.

A la tía Anye, tía Marta, Tamara, Bianca y todas las tías del colegio, que cuidaron a Josefina mientras realicé la memoria.

A toda mi familia por el apoyo en momentos difíciles.

A Chelita, don Javier y Juan Carlos por hacer del laboratorio un lugar más acogedor.

A Alvaro, por su apoyo en el trabajo de laboratorio.

Al profesor Eduardo Castro, por su permanente preocupación por la superación de todos quienes hemos sido sus alumnos.

A todos los profesores que comprendieron mi situación a fines del embarazo.

A todos los excelentes profesores, que hacen que la Universidad de Chile mantenga su excelencia académica.

A mi hermosa hija Josefina, por portarse tan bien dentro de mi vientre, por toda la alegría que provoca a su alrededor y simplemente, por existir...

ABREVIATURAS

AgnesiP/ef : Aceite de oliva virgen extra comercial prensado en frío (italiano).

AraucoP : Aceite de oliva virgen extraído en frío de la variedad Arauco (argentino).

Basso : Aceite de oliva virgen extra comercial (italiano).

Bianco80cc : Aceite de oliva virgen extra obtenido de aceitunas de la variedad Biancolilla con 80% de cambio de color (italiano).

Borges : Aceite de oliva virgen extra comercial (español).

CAA : Código Alimentario Argentino.

Canepa : Aceite de oliva virgen extra puro comercial (chileno).

Carbonell : Aceite de oliva virgen extra comercial (español).

Ceras70cc : Aceite de oliva virgen extra obtenido de aceitunas de la variedad Cerasuola con 70% de cambio de color (italiano).

COI : Consejo Oleícola Internacional.

CorniC2 : Aceite de oliva virgen de aceitunas variedad Cornicabra extraído con decanter en dos fases (español).

CorniC3 : Aceite de oliva virgen de aceitunas variedad Cornicabra extraído con decanter en tres fases (español).

CorniP : Aceite de oliva virgen de aceitunas variedad Cornicabra extraído por prensado (español).

E : Ácido esteárico.

Frant20 : Aceite de oliva virgen de la variedad Frantoio amasado 20 minutos a 21°C (italiano).

Frant40 : Aceite de oliva virgen de Frantoio amasado 40 minutos a 21°C (italiano).

Frant70 : Aceite de oliva virgen de Frantoio amasado 70 minutos a 21°C (italiano).

FrantT : Aceite de oliva virgen obtenido de olivo toscano de la variedad Frantoio (italiano).

Frant/U/ef : Aceite de oliva virgen de la variedad Frantoio, extraído en frío en la unidad experimental de la Universidad Nacional de Catamarca (argentino).

Frant/I/ef : Aceite de oliva virgen extraído en frío de aceitunas de la variedad Frantoio, en la unidad experimental del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (argentino).

GC : Cromatografía gaseosa.

Ghiacch1 : Aceite de oliva virgen extra obtenido al principio de la cosecha de aceitunas de la variedad Ghiacchiolo (italiano).

Ghiacch2 : Aceite de oliva virgen extra obtenido de aceitunas variedad Ghiacchiolo del final de cosecha (italiano).

Hellenic : Aceite de oliva virgen extra comercial (griego).

Hijos de Ibarra : Aceite de oliva virgen extra comercial (español).

HPLC : Cromatografía líquida de alta resolución.

Huasco : Aceite de oliva virgen extra puro comercial (chileno).

JAFc: Journal of Agricultural and Food Chemistry.

JAOCs: Journal of the American Oil Chemist Society.

EJLST: European Journal of Lipid Science and Technology.

L : Ácido linoleico.

Ln : Ácido linolénico.

Mores100yg : Aceite de oliva virgen extra obtenido de aceitunas de la variedad Moresca con 100% de color amarillo-verde (italiano).

Mores80cc : Aceite de oliva virgen extra obtenido de aceitunas de la variedad Moresca con 80% de cambio del color (italiano).

MUFA : Ácidos grasos monoinsaturados totales.

n.a : No se autoriza como aditivo.

n.c. : Pic no cuantificable.

nm : Nanómetros.

NocellB40cc : Aceite de oliva virgen extra obtenido de aceitunas de la variedad Nocellara del Belice con 40% de cambio del color (italiano).

NocellB100yg : Aceite de oliva virgen extra obtenido de aceitunas de la variedad Nocellara del Belice color amarillo-verde 100% (italiano).

NocellE100yg : Aceite de oliva virgen extra obtenido de aceitunas de la variedad Nocellara Etna color amarillo-verde 100% (italiano).

Nost/p : Aceite de oliva virgen extra obtenido de aceitunas de la variedad Nostrana de principio de cosecha (italiano).

Nost/f : Aceite de oliva virgen extra obtenido de aceitunas de la variedad Nostrana de fin de cosecha (italiano).

O : Ácido oleico.

Olave : Aceite de oliva virgen extra obtenido de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio, amasada 20 minutos a 28°C.

P : Ácido palmítico.

p.a. : Grado para análisis de los reactivos químicos.

PUFA: Ácidos grasos poliinsaturados totales.

P-Value : Valor que indica la existencia de diferencias significativas con un límite de confianza del 95%.

S : Ácido esteárico.

s.a : Bibliografía publicada sin año.

SAT: Ácidos grasos saturados totales.

Superior : Aceite de oliva virgen extra comercial (español).

Suri : Aceite de oliva virgen de la variedad Suri (israelí).

Suri/eps : Aceite de oliva extraído por solventes a partir de aceitunas variedad Suri (israelí).

Talliani : Aceite de oliva virgen extra comercial (italiano).

Titarelli : Aceite de oliva virgen extra comercial (argentino).

tr : Trazas < 10 mg / kg.

INDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA.....	iii
Agradecimientos.....	iv
ABREVIATURAS.....	v
INDICE GENERAL	ix
INDICE DE TABLAS	xii
INDICE DE FIGURAS	xiv
INDICE DE ANEXOS.....	xvii
RESUMEN.....	xviii
SUMMARY.....	xix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II.- DESARROLLO.....	5
2.1.- MARCO TEÓRICO.....	5
2.1.1.- La aceituna (<i>Olea europea sativa</i>).....	5
2.1.1.1.- Características botánicas.....	5
2.1.1.2.- Composición.....	5
2.1.1.3.- Variedades.....	7
2.1.2.- El aceite de oliva.....	7
2.1.2.1.- Composición química.....	7
2.1.2.2.- Reglamentación.....	8
2.1.2.3.- El aceite de oliva virgen.....	9
2.1.2.3.1.- Compuestos fenólicos.....	9
2.1.2.3.2.- Proceso de obtención del aceite de oliva virgen.....	11
2.1.2.4.- Situación actual en Chile.....	17
2.2.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
2.2.1.-Materiales y equipos.....	20
2.2.2.- Métodos.....	21
2.2.2.1- Toma de muestras y preparación de las mismas.....	21
2.2.2.2.- Diseño experimental.....	23
2.2.2.2.1.- Variables independientes.....	23

2.2.2.2.2.- Variables dependientes.....	24
2.2.2.2.3.- Diseño estadístico experimental.....	24
2.2.2.2.4.- Elección de las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de la pasta de aceitunas de la variedad Frantoio.....	25
2.2.2.3.- Evaluación de las características organolépticas.....	26
2.2.2.4.- Métodos analíticos.....	26
2.2.2.4.1.- Análisis físico y químicos realizados a los aceites obtenidos en las condiciones dadas por el diseño experimental.....	26
2.2.2.4.1.1.- Físico.....	26
2.2.2.4.1.1.1.- Rendimientos del proceso.....	26
2.2.2.4.1.2.- Químicos.....	27
2.2.2.4.1.2.1.- Índice de peróxidos.....	27
2.2.2.4.1.2.2.- Acidez libre.....	27
2.2.2.4.1.2.3.- Cuantificación de polifenoles.....	27
2.2.2.4.2.- Análisis físicos y químicos realizados a los aceites obtenidos en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas.....	29
2.2.2.4.2.1.- Físicos.....	29
2.2.2.4.2.1.1.- Determinación del índice y grado de refracción.....	29
2.2.2.4.2.1.2.- Humedad y materias volátiles.....	29
2.2.2.4.2.2.- Químicos.....	29
2.2.2.4.2.2.1.- Determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa (porcentaje de ésteres metílicos).....	29
2.2.2.4.2.2.2.- Determinación de los fitoesteroles por cromatografía gaseosa.....	30
2.2.2.4.2.2.3.- Medición de la extinción específica por absorción en el ultravioleta (K_{270} y ΔK).....	31
2.2.2.4.2.2.4.- Determinación de triglicéridos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	32
2.2.2.4.2.2.5.- Determinación de tocoferoles y tocotrienoles por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	33
2.2.2.4.2.2.6.- Materia insaponificable.....	33
2.2.2.4.2.2.7.- Medición del índice de estabilidad mediante el equipo Rancimat.....	34
2.2.2.4.2.2.8.- Medición del índice de p-anisidina.....	34

2.3.- RESULTADOS.....	35
2.3.1.- Obtención de las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas variedad Frantoio.....	36
2.3.1.1.- Contenido de polifenoles totales en el aceite de oliva virgen extra.....	36
2.3.1.2.- Rendimiento en la extracción del aceite de oliva virgen extra.....	38
2.3.1.3.- Acidez del aceite de oliva virgen extra.....	38
2.3.1.4.- Índice de peróxidos del aceite de oliva virgen extra.....	40
2.3.2.- Evaluación de las características organolépticas de los aceites de oliva virgen extra.....	40
2.3.3.- Elección de las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio.....	41
2.3.4.- Caracterización físico-química del aceite de oliva obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado.....	41
2.4.- DISCUSIÓN.....	48
2.4.1.- Análisis físico-químicos realizados a los aceites obtenidos de pasta amasada en las condiciones especificadas en el diseño estadístico experimental.....	48
2.4.1.1.- Contenido de polifenoles totales en el aceite de oliva virgen extra.....	48
2.4.1.2.- Rendimiento en la extracción del aceite de oliva virgen extra.....	49
2.4.1.3.- Acidez del aceite de oliva virgen extra.....	49
2.4.1.4.- Índice de peróxidos del aceite de oliva virgen extra.....	50
2.4.2.- Características organolépticas de los aceites de oliva virgen extra.....	50
2.4.3.- Caracterización físico-química del aceite de oliva obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura.....	52
III.- CONCLUSIONES.....	58
IV.- REFERENCIAS.....	59

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1.- Composición química de las diferentes partes de la aceituna (% del peso total).....	6
Tabla 2.- Normas y reglamentaciones para aceite de oliva.....	8
Tabla 3.- Principales empresas productoras de aceite de oliva en Chile.....	19
Tabla 4.- Diseño experimental.....	25
Tabla 5.- Resultados de los análisis realizados a las muestras planteadas por el diseño experimental.....	35
Tabla 6.- Resultados de la caracterización físico-química de las muestras de aceite de oliva virgen A1 y A2.....	44
Tabla 7.- Composición en ácidos grasos de las muestras A1 y A2 de aceite de oliva virgen.....	46
Tabla 8.- Composición en triglicéridos de las muestras A1 y A2 de aceite de oliva virgen.....	47
Tabla 9.- Hoja de perfil para la evaluación de las notas gustativas-táctiles del aceite de oliva.....	67
Tabla 10.- Puntuación para el aroma de aceites de oliva.....	68
Tabla 11.- Absorbancia promedio correspondiente a las soluciones de distintas concentraciones de ácido cafeico.....	69
Tabla 12.- Residuos inusuales de absorvancia con respecto a los valores predichos para la construcción de la curva de calibración de absorvancia v/s concentración de polifenoles.....	70
Tabla 13.- Análisis de la regresión según el modelo lineal: $Y = a + b \cdot X$	70

Tabla 14.- Análisis de la varianza para el modelo lineal.....	70
Tabla 15.- Análisis de varianza para el contenido de polifenoles en el aceite de oliva virgen - Tipo III Suma de cuadrados.....	72
Tabla 16.- Test de rango múltiple para la variación en el contenido de polifenoles en el aceite con el tiempo de amasado de pasta de aceitunas.....	72
Tabla 17.- Análisis de varianza para el rendimiento en la extracción del aceite de oliva virgen- Tipo III Suma de cuadrados.....	72
Tabla 18.- Análisis de varianza para la acidez del aceite de oliva virgen - Tipo III Suma de cuadrados.....	73
Tabla 19.- Análisis de varianza para el índice de peróxidos del aceite de oliva virgen - Tipo III Suma de cuadrados.....	73

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 : Estructura química de los polifenoles derivados de Tirosina.....	10
Figura 2 : Estructura química de los ácidos cinámicos.....	10
Figura 3 : Diagrama de bloques del proceso de extracción del aceite de oliva virgen.....	22
Figura 4 : Gráfico de la superficie de respuesta estimada para el contenido de polifenoles en función del tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas.....	37
Figura 5 : Gráfico de contornos de la superficie de respuesta estimada para los polifenoles en función del tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas.....	37
Figura 6 : Superficie de respuesta estimada para el rendimiento en función del tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas.....	39
Figura 7 : Gráfico de contornos de la superficie de respuesta estimada para el rendimiento en función del tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas.....	39
Figura 8 : Diagrama del modelo de ajuste para la absorvancia v/s la concentración de polifenoles.....	71
Figura 9 : Comparación de la acidez libre de aceites de oliva vírgenes extra comerciales y de aceites de oliva vírgenes extra monovarietales con el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).....	74

Figura 10 : Comparación del índice de peróxidos de aceites de oliva vírgenes monovarietales con el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado (Olave).....	74
Figura 11 : Comparación del contenido de polifenoles en aceites de oliva con los aceites de oliva vírgenes extra obtenidos en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).....	75
Figura 12 : Comparación del índice de estabilidad OSI de aceites de oliva vírgenes con el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).....	75
Figura 13 : Comparación del contenido de ácidos grasos oleico, linoleico y linolénico entre aceites de oliva vírgenes extra comerciales y el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).....	76
Figura 14 : Comparación de la relación SAT : MUFA : PUFA entre aceites de oliva vírgenes extra comerciales y el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).....	76
Figura 15 : Comparación del contenido de alfa-tocoferol en aceites de oliva vírgenes extra y el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).....	77
Figura 16 : Comparación del porcentaje de campesterol y beta-sitosterol entre aceites de oliva vírgenes extra y el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).....	77
Figura 17 : Vía propuesta para la formación de compuestos volátiles C6 en aceites de oliva vírgenes.....	78
Figura 18 : Cromatograma de la mezcla de estándares de α -, β -, γ - y ρ -tocoferoles.....	79

Figura 19 : Cromatograma de tocoferoles y tocotrienoles para la muestra A2.....	80
Figura 20 : Cromatograma de la mezcla de estándares de fitosteroles.....	81
Figura 21 : Cromatograma de fitosteroles para la muestra A2.....	81
Figura 22 : Cromatograma de estándares de ácidos grasos.....	82
Figura 23 : Cromatograma de ácidos grasos para la muestra A2.....	82
Figura 24 : Cromatograma de estándares de triglicéridos.....	83
Figura 25 : Cromatograma de triglicéridos para la muestra A2.....	83
Figura 26 : Vía propuesta por Olías et al. (1993) para la formación de compuestos volátiles C ₆ en aceites de oliva vírgenes.....	84

INDICE DE ANEXOS

	Página
ANEXO 1 : Diseño estadístico experimental.....	66
ANEXO 2 : Evaluación sensorial del aceite de oliva.....	67
ANEXO 3 : Curva de calibración: Absorvancia v/s Polifenoles totales.....	69
ANEXO 4 : Análisis experimental de los resultados obtenidos mediante el análisis físico y químico de los aceites tratados según las condiciones establecidas por el diseño estadístico experimental.....	72
ANEXO 5 : Comparación de la caracterización físico-química del aceite amasado durante 20 minutos a 26°C con datos bibliográficos.....	74
ANEXO 6 : Gráfico del tiempo de inducción.....	78
ANEXO 7 : Cromatogramas de la determinación de tocoferoles, ácidos grasos, fitosteroles y triglicéridos.....	79
ANEXO 8: Vía de formación de compuestos volátiles C ₆ en aceites de oliva vírgenes.....	84

RESUMEN.

El objetivo principal del presente estudio fue determinar el tiempo y la temperatura óptimos de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio cultivadas, cosechadas y procesadas por la empresa Agrícola Valle Grande Ltda., para obtener las mejores características organolépticas y la mejor calidad del aceite de oliva, es decir, la mayor cantidad de polifenoles totales, bajo índice de peróxidos y bajo porcentaje de acidez libre de los aceites de oliva.

Como objetivo secundario se caracterizó fisicoquímicamente el aceite de oliva virgen extra, obtenido a partir de la pasta tratada en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado. Para encontrar las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas, se aplicó un diseño estadístico experimental de tipo factorial, considerando como variables independientes el tiempo y la temperatura de amasado, y como variables dependientes el porcentaje de acidez libre, el índice de peróxidos, el contenido de polifenoles totales y el rendimiento en la extracción. Además, se realizó una evaluación de las características sensoriales de los aceites, para orientar los resultados. Una vez determinado el punto óptimo, se realizaron en el aceite obtenido en tales condiciones, análisis físicos y químicos indicadores de la calidad y la genuinidad de los aceites. Las condiciones óptimas de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio son 20 minutos de duración a 26°C de temperatura.

Además, se confirmó la pureza y calidad del aceite de oliva virgen extra, obtenido de la variedad Frantoio y elaborado por la empresa Agrícola Valle Grande Ltda., referidas al alto contenido de ácido oleico, bajo contenido de ácidos grasos saturados, alto contenido de antioxidantes y considerable contenido de vitamina E, sustancias reconocidas como beneficiosas para la salud.

SUMMARY.

The main objective of the present study was to determine the optimal kneading time and temperature of olive-paste from Frantoio variety harvested and processed in Agrícola Valle Grande Ltda. Company, to obtain the best sensory characteristics and the best quality of the olive oil, that is, the greater polyphenols total content, minimal peroxide value and free acidity percentage of olive oil.

As second objective was to characterize the extra virgin olive oil, obtained from the paste treated in the optimal conditions of time and kneading temperature by chemical and physical analysis. In order to find the optimal conditions of time and malaxation temperature of paste of olives, an experimental statistical design of factorial type was applied, considering as independent variables the time and the kneaded temperature, and as dependent variables: free fatty acids, peroxide value, polyphenols content and the extraction yield. In addition, an evaluation of the sensory characteristics of the extra virgin olive oil was made, to orient the results. Once determined the optimal point, the oil obtained in such conditions was characterized by physical and chemical analysis indicators of quality and purity of oils. The optimal conditions of olive-paste kneading from Frantoio variety were 20 minutes and 26°C.

In this work it was possible to confirm the purity and quality of the extra virgin olive oil, obtained from Frantoio variety and elaborated for Agrícola Valle Grande Ltda. Company, had a high oleic acid, low saturated fatty acid, high antioxidant and considerable E vitamin contents, components recognized with beneficial effects for the health.

I.- INTRODUCCIÓN.

El aceite de oliva tiene una posición privilegiada entre los aceites comestibles debido a su delicado sabor, aroma, estabilidad y beneficios para la salud. Los aceites comestibles de primera calidad, en general, tienen un alto valor en el mercado, por esto, puede existir el riesgo de que los aceites de elevado costo sean adulterados con material menos costoso o de vender aceites de calidad inferior como si fueran de mejor calidad (Boskou, 1998; Bell y Gillat¹, (s.a)).

La infracción de las normas y etiquetas de los alimentos constituye un engaño a los consumidores y puede crear enormes trastornos en el mercado. Por lo tanto, con el fin de proteger a los consumidores y al comercio, se han estipulado leyes y normas para definir la autenticidad de los aceites. Actualmente, existe una descripción de los criterios de pureza para el aceite de oliva por parte de diversos reglamentos y normativas (RSA, CODEX Alimentarius, COI, CAA). Además, dado los avances realizados hoy en día en los métodos de análisis de alimentos, resultan muy improbables las adulteraciones evidentes. De esta forma, a medida que se desarrolla la tecnología y como consecuencia del intercambio comercial entre países, las normas de calidad evolucionan y adquieren cada vez mayor importancia (Bell y Gillat, (s.a)).

Por otra parte, la pequeñez del mercado interno, el bajo consumo per cápita nacional, que es suplido fundamentalmente por aceite de oliva importado y el incremento anual en la producción nacional de aceite de oliva, generará la obligación de exportar, tarea no fácil de abordar, dada la fuerte competencia

⁽¹⁾ reproducido de *Alimentación, Nutrición y Agricultura*, la revista mundial de la FAO de política alimentaria y nutrición.

internacional de proveedores italianos, españoles, griegos, turcos y argentinos, entre otros. Chile tiene fortalezas del tipo operativo y edafoclimáticas para enfrentar las condiciones del mercado, sin embargo, para aprovechar estas fortalezas, la industria nacional chilena debe apuntar a producir un aceite de oliva virgen extra de la más alta calidad (Boletín trimestral ISSN 0718-0330, 2003).

La calidad del aceite de oliva virgen deriva de ser un zumo de fruto que puede consumirse directamente, y que, por ser un producto natural, se deben tener en cuenta en su elaboración una serie de condicionantes para conseguir y mantener la calidad, tales factores, están presentes desde la recolección del fruto del olivo hasta el consumo del aceite. Además, existen factores de carácter agronómico y varietal que influyen sobre la composición acídica, materia insaponificable, características organolépticas, contenido en polifenoles, contenido en tocoferoles, pigmentos, etc., del aceite de oliva virgen obtenido (Criado et al., 2004; De Panfilis, 1999).

Dado estos antecedentes, es necesario que los productores de aceites de oliva optimicen las condiciones de obtención de sus productos para obtener la consiguiente mejora en la calidad de estos.

La hipótesis del presente trabajo es:

“A mayor temperatura y tiempo de amasado se obtendrán mayores rendimientos en la extracción del aceite, variación en el contenido de polifenoles totales, mayor índice de peróxidos y disminución de aromas y sabores típicos del aceite de oliva virgen”.

Objetivos generales :

- a) Obtener la mejor calidad del aceite, es decir, la mayor cantidad de polifenoles totales, bajo índice de peróxidos, bajo porcentaje de acidez y las mejores características organolépticas.
- b) Aportar antecedentes no existentes del aceite de oliva virgen extra de la variedad Frantoio, producido por la empresa Agrícola Valle Grande Ltda., mediante su caracterización físico-química.

Objetivos específicos :

- a) Determinar el tiempo y la temperatura óptimos de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio.
- b) Caracterizar fisicoquímicamente el aceite de oliva virgen extra obtenido a partir de la pasta tratada en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado.

Para alcanzar el logro de los objetivos, se tomaron muestras de aceite de oliva virgen obtenido a partir de pastas de aceitunas tratadas en distintas condiciones de tiempo y temperatura, de acuerdo a un diseño estadístico experimental del tipo factorial.

Las aceitunas procesadas fueron de la variedad Frantoio, ya que se cosecha en más de un 50% con respecto a las demás variedades de olivos cultivados en el fundo "El Oliveto" perteneciente a la empresa Agrícola Valle Grande Ltda.

Para crear el diseño estadístico experimental de tipo factorial, se consideraron como variables independientes el tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas, en tanto, las demás variables independientes se mantuvieron constantes. Las variables dependientes

medidas fueron la acidez, el índice de peróxidos, el contenido de polifenoles totales y el rendimiento en la extracción, además, se realizó una evaluación sensorial de los aceites, lo que sirvió como orientación en la búsqueda de los resultados. Una vez determinado el punto óptimo de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas, se realizaron, en el aceite obtenido en tales condiciones, análisis físicos (índice y grado de refracción, K_{270} y ΔK) y análisis químicos (índice de anisidina, humedad y materias volátiles, determinación de ácidos grasos y de fitoesteroles por cromatografía gaseosa (GC), contenido de triglicéridos y tocoferoles por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), índice de estabilidad por equipo Rancimat y contenido de materia insaponificable). De esta forma, se caracterizó el aceite de oliva virgen, obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio, cultivadas orgánicamente en el fundo perteneciente a la empresa Agrícola Valle Grande Ltda.

II.- DESARROLLO.

2.1.- MARCO TEÓRICO.

2.1.1.- La aceituna (*Olea europea sativa*).

2.1.1.1.- Características botánicas.

El olivo (*Olea europea L.*) es un árbol imperecedero, que crece entre las latitudes 30° y 45° en ambos hemisferios, en regiones que poseen clima mediterráneo. El fruto es una drupa elíptica con un exocarpio sin pelo, un mesocarpio carnudo que contiene células parenquimales isodiamétricas capaces de biosintetizar lípidos y de realizar fotosíntesis, y un endocarpio leñoso que contiene la semilla. La forma y el tamaño de los frutos varía ampliamente entre los cultivares. En general, los frutos pesan entre 1,5 y 2 g hasta 10 a 12 g; excepcionalmente, el fruto puede alcanzar pesos extremos entre 0,5 y 20 g (Olías y García, 1997).

2.1.1.2.- Composición.

El fruto del olivo (*Olea europea sativa*) es una drupa carnuda que contiene un 70-90% de pulpa, 9-27% de hueso y 2-3% de semilla, en relación al peso total del fruto, dependiendo del cultivar, madurez del fruto, condiciones del cultivo, carga de los árboles, etc. (Barranco et al., 1998).

En la pulpa de la aceituna están presentes los siguientes compuestos :

- a) Azúcares, principalmente glucosa, fructosa y sacarosa.
- b) Ácidos orgánicos (cítrico, málico, oxálico y tricarbóxico) en una pequeña cantidad.
- c) Una gran variedad de compuestos polifenólicos, siendo el principal compuesto la oleuropeína, glucósido responsable del sabor amargo

en las aceitunas inmaduras. Otros compuestos presentes son el 1-cafeoilglucosa, y el ácido *p*-cumárico, ambos glucósidos del 3,4-dihidroxifeniletanol, y las flavonas luteolina-5-glucósido, luteolina-7-glucósido y apigenina-7-glucósido. En total los polifenoles en los frutos verdes alcanzan alrededor del 5% del peso seco. Las principales antocianinas presentes son la cianidina-3-glucósido y la cianidina-3-rutina, responsables del color púrpura-negro en aceitunas maduras.

- d) Ácidos grasos, formando parte de los triglicéridos.
- e) Hidrocarburos, esteroides, alcoholes triterpénicos, tocoferoles y fosfolípidos (Olías y García, 2003).

La composición química de las diferentes partes de la aceituna se presenta en la tabla 1.

Tabla 1.- Composición química de las diferentes partes de la aceituna (% del peso total).

Compuestos	Pulpa	Hueso	Semilla
Agua	50-60	9,3	30,0
Aceite	15-30	0,7	27,3
Proteínas	2-5	3,4	10,2
Carbohidratos	3-7,5	41,0	26,6
Celulosa	3-6	38,0	1,9
Cenizas	1-2	4,1	1,5
Polifenoles	2-2,5	0,1	0,8
Indeterminado	-	3,4	2,4

Fuente: Olías y García, 1997.

2.1.1.3.- Variedades.

Entre la gran cantidad de variedades de aceitunas utilizadas para la extracción del aceite existen las que se nombran a continuación :

- a) Picual, Hojiblanca, Cornicabra, Lechín, Arbequina, Arbusana, Blanqueta, Changlot real, Empeltre y Manzanilla española, todas de origen español.
- b) Frantoio, Coratina y Carolea, de origen italiano.
- c) Koroneiki y Mastoidis, de origen griego.
- d) Chemlaly y Chetoui, originarias de Túnez.
- e) Memecik, Ayvalik y Gemlic, originarias de Turquía (Bañados, 2004; Boletín trimestral ISSN 0718-0330, 2004).

2.1.2.- El aceite de oliva.

2.1.2.1.- Composición química.

El aceite de oliva está compuesto principalmente por triglicéridos, en menor proporción por ácidos grasos libres y un 0,5-1% de constituyentes no glicéricos importantes para la estabilidad, sabor y aroma del aceite de oliva. Los principales triglicéridos presentes son: OOO (40-59%), POO (12-20%), OOL (12,5-20%), POL (5,5-7%) y EOO (3-7%). En cuanto a los principales ácidos grasos, el ácido oleico (C 18:1 ω 9) representa alrededor de un 69%, el ácido palmítico (C16:0) alrededor de un 13% y el ácido linoleico (C18:2) aproximadamente un 14%, en relación a la cantidad total de ésteres metílicos (Belitz y Grosch, 1990; Masson y Mella, 1985)

2.1.2.2.- Reglamentación.

El Reglamento Sanitario de los Alimentos chileno publicado el año 2003 especifica parámetros para el aceite de oliva que se encuentran en la tabla 2, junto a la reglamentación del Código Alimentario Argentino y las normas del COI y del CODEX Alimentarius.

Tabla 2.- Normas y reglamentaciones para aceite de oliva.

PARÁMETROS	REGLAMENTOS Y NORMAS			
	RSA	CODEX	CAA	COI
Acidez libre (% ac. oleico)	*Max. 2,0	**Max. 3,3	***Max. 1,0	***Max. 1,0
Índice de peróxidos (m eq O ₂ / kg aceite)	*Max. 20	***Max. 20	***Max. 30	***Max. 20
Humedad y materias volátiles (%)	^ Máx. 0,2	---	---	---
Índice de refracción	*1,463 – 1,471 (40°C)	**1,4677 – 1,4705 (20°C)	*1,4665 – 1,4683 (25°C)	---
K 270	---	**Max. 0,3	**Max. 0,3	***Max. 0,25
ΔK	---	---	*Max. 0,15	***Max. 0,01
C 14:0 ac. mirístico (%)	*< 0,1	*< 0,1	*< 0,1	*Max. 0,05
C 16:0 ac. palmítico (%)	*7-17	*7,5-20	*7,5-20	*7,5-20
C 16:1 ac. palmitoleico (%)	*0,3-4	*0,3-3,5	*0,3-3,5	*0,3-3,5
C 17:0 ac. decaheptanoico (%)	---	*<0,5	*<0,5	*Max. 0,3
C17:1 ac. heptadecaenoico (%)	---	*<0,6	*<0,6	*Max. 0,3
C18:0 ac. esteárico (%)	*1-3	*0,5-5	*0,5-5	*0,5-5
C18:1 ac. oleico (%)	*65-85	*55-83	*53-83	*55-83
C18:2 ac. linoleico (%)	*4-14	*3,5-21	*3,5-21	*3,5-21
C18:3 ac. linolénico (%)	*0,5-1,5	*< 1,5	*< 1,5	*Max. 1,0
C 20:0 ac. eicosanoico (%)	*< 0,5	*< 0,8	*< 0,8	*Max. 0,6
C 20:1ac. eicosaenoico (%)	*< 0,2	---	---	*Max. 0,4
C 22:0 ac. docosanoico (%)	*< 0,2	*< 0,3	*< 0,2	*Max. 0,2
C 24:0 ac. tetracosanoico (%)	*< 0,1	*< 1,0	*< 0,1	*Max. 0,2
Alfa-tocoferol (mg / kg de producto final)	---	***n.a	***n.a	***n.a
Materia insaponificable (g / kg)	---	Max. 15	*Max. 13	* Max. 15
Esteroles totales (mg / kg)	---	---	---	**Min. 1000
Campesterol (%)	---	Max. 4 ⁽¹⁾	*Max. 4	*Max. 4
Beta-sitosterol (%)	---	Min. 93 ⁽¹⁾	*Min. 93 ⁽²⁾	*Min. 93 ⁽²⁾

*aceite de oliva; **aceite de oliva virgen; ***aceite de oliva virgen extra; ^aceites comestibles.

⁽¹⁾respecto a la suma de beta-sitosterol, campesterol y estigmasterol.

⁽²⁾Con respecto a la suma de β-sitosterol + Δ-5-avenasterol + Δ-5-23-estigmastadienol + clerosterol + sitostanol + Δ-5-24-estigmastadienol.

Fuentes: Decreto Supremo N°977/96, 2003; Norma CODEX STAN 33-1981, 2001 ; Ley N° 18.284 Artículo 535 (Res. Conj. 71 y 390/03), 2003; Resolución RIS-3/79-IV/98, 1998.

2.1.2.3.- El aceite de oliva virgen.

El aceite de oliva virgen es aquel obtenido del fruto del olivo por medios mecánicos o físicos en condiciones, especialmente térmicas, que no alteren el aceite. Dicho producto alimenticio trae grandes beneficios para la salud de quienes lo consumen debido a su alto contenido en ácido oleico, el cual reduce el colesterol total y el LDL (“colesterol malo”), y aumenta el HDL (“colesterol bueno”); y a su elevado contenido en sustancias fenólicas, antioxidantes que protegen contra las enfermedades mediadas por radicales libres. Además, es significativa la presencia de vitaminas A, E y K. Otros componentes minoritarios son pigmentos, hidrocarburos, esteroides, alcoholes di- y triterpénicos y compuestos responsables del aroma y sabor (Conferencia “Abraham Shekel”, 1998; Norma CODEX STAN 33-1981; Fogliano et al., 1999; Olías y García, 1997).

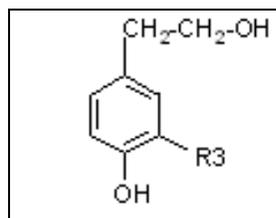
2.1.2.3.1.- Compuestos fenólicos

Las sustancias fenólicas o “polifenoles” influyen en la estabilidad, sabor y aroma del aceite de oliva virgen. Por ser agentes antioxidantes naturales, las proporciones existentes de tales compuestos en el aceite, son favorables para prevenir el envejecimiento y las enfermedades cardiovasculares (Jacotot, 1995).

Los polifenoles son compuestos minoritarios y forman parte de la fracción polar del aceite, la cual es una mezcla compleja, cuya naturaleza química no ha sido completamente determinada. La capacidad antioxidante de tales compuestos polares en sistemas lipídicos, se debe a que se localizan en la interfase lípido-aire, permitiendo una mejor protección contra el oxígeno molecular del aire que los antioxidantes lipofílicos, que permanecen en solución en fases oleosas y que, por lo tanto, actúan mejor en sistemas aceite en agua (O/W) (Boskou, 1998; Fogliano et al., 1999).

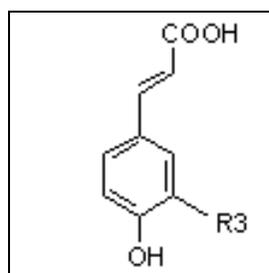
En cuanto a los constituyentes, se consideran como mayoritarios el tirosol e hidroxitirosol, aunque también están presentes la oleoeuropeína, ácido cafeico, ácido vainílico, ácido siríngico, ácido *p*-cumárico, ácido *o*-cumárico, ácido protocatéptico, ácido sinápico, ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido *p*-hidroxifenilacético y ácido homovainílico. Con respecto a los polifenoles totales de la aceituna, estos varían de acuerdo a la variedad del olivo, el período de cosecha y sector del cultivo, mientras que en el aceite, los polifenoles totales dependen en gran parte del proceso realizado y varían entre 50 y 200 mg / kg, aunque se pueden encontrar aceites con contenidos de hasta 1.000 mg / kg (Barranco et al., 1998; Boskou, 1998; Esti et al., 1998; Gutiérrez et al., 2001).

Las estructuras químicas de algunos compuestos polifenólicos son las siguientes :



Radical 3	Compuesto
H	Tirosol
OH	Hidroxitirosol

Figura 1.- Estructura química de los polifenoles derivados de Tirosina.



Radical 3	Compuesto
OH	Ácido cafeico
H	Ácido <i>p</i> -cumárico

Figura 2.- Estructura química de los ácidos cinámicos.

Fuente: Leighton y Urquiaga, 1999.

Entre los factores de tipo tecnológico que inciden sobre el contenido de polifenoles en los aceites de oliva vírgenes, están el tiempo de almacenamiento que antecede a la molienda de los frutos, el tipo de molino utilizado, el tiempo y la temperatura de batido y el empleo de agua durante la centrifugación, entre otros (De Panfilis, 1999; Di Giovacchino et al., 2002; Olave, 2004⁽²⁾; Pérez et al., 2003 ; Vekiari y Kotsaftakis, 2002).

2.1.2.3.2.- Proceso de obtención del aceite de oliva virgen.

Para obtener el aceite de oliva virgen se realizan las etapas que se detallan a continuación :

- Etapa 1 : Recepción y selección de la aceituna.

La recepción se debe realizar con precaución para evitar dañar el fruto durante la descarga. La selección se realiza en función de la variedad, del estado sanitario del fruto (sano, picado por mosca, atacado por *Gloesporium*, etc.) y de la procedencia de éste (de vuelo o de suelo) (Pardo et al, 2002).

El almacenamiento de la materia prima se debe realizar en un lugar fresco y sombrío, como máximo durante 24 h., en cajas individuales o bins, provistos de perforaciones y de capacidad entre 20 a 200 kg. (Marginet y Mabel, 2000).

En cuanto al análisis de calidad del fruto que llega a la almazara, se debe controlar el tipo de aceituna, en función de la humedad del fruto, contenido en aceite y acidez (De Panfilis, 1999).

- Etapa 2 : Limpieza y lavado de las aceitunas.

El objetivo principal de esta operación, es eliminar las impurezas que lleva el fruto desde el campo. En la limpieza, las aceitunas se pasan por una

⁽²⁾ Comunicación personal del Sr. Elvio Olave

venteadora que retira el polvo, las hojas y pequeñas ramas a través de una corriente de aire. Luego, para eliminar tierra, arena, piedras y hojas, se realiza un lavado por inmersión en agua. Las impurezas deben eliminarse porque comunican sabores anómalos a los aceites (amargor, astringencia, verde, a tierra, a moho, etc.), desgastan la maquinaria y producen roturas (Pardo et al, 2002).

- Etapa 3 : Molienda de las aceitunas.

El aceite se encuentra en la aceituna en forma de pequeñas gotitas, ubicadas fundamentalmente en las vacuolas del mesocarpio. Mediante la molienda de la aceituna, es posible triturar y romper el fruto por completo, por lo que se rompen los tejidos vegetales liberando el aceite junto con las lipasas, enzimas implicadas en la biogénesis de los constituyentes volátiles del aceite de oliva virgen y en la formación de los productos primarios de la oxidación. Durante esta operación, no todas las células del mesocarpio pueden ser destruidas y, por consiguiente, no todo el aceite puede ser extraído; de igual forma, la membrana que rodea a las células tiende a mantener el aceite en estado de emulsión (De Panfilis, 1999; Lercker et al., 1999).

Los aspectos importantes a considerar, en cuanto a calidad durante la molienda son los siguientes :

- a) Tiempo y superficie de contacto de la masa con el oxígeno, ya que ocurren reacciones de oxidación en la masa y se pierden aromas.
- b) Catálisis de procesos oxidativos provocada por trazas de metales provenientes del desgaste de la maquinaria.
- c) Formación de emulsiones que dificultan la extracción del aceite y que conllevan a aumentar los tiempos de amasado de la pasta.
- d) Calentamiento de la pasta (De Panfilis, 1999).

- Etapa 4 : Amasado o batido de la pasta de aceitunas.

Durante esta etapa, la pasta de aceitunas se somete a un movimiento lento y constante a temperatura mayor que la ambiental, con el objetivo de facilitar la salida de las pequeñas gotas de aceite del interior de las células, así como también para homogeneizar la pasta de aceituna. De este modo, las pequeñas gotas de aceite se unen formando gotas de diámetro superior a 30 micras (tamaño mínimo para separarse de la fase sólida), originando una fase continua que sobrenada sobre el resto de la masa y facilitando así, la separación del aceite en operaciones posteriores (De Panfilis, 1999; Marginet y Mabel, 2000).

La operación se realiza en batidoras, de capacidad variable en cuyo interior circulan unas paletas que voltean la masa y provocan un efecto de cizallamiento o rotura (De Panfilis, 1999).

El amasado de la pasta de aceitunas es un importante paso en el proceso de obtención del aceite de oliva, debido a que influencia la calidad del producto y los rendimientos en la extracción. Los principales factores que influyen en la calidad del producto durante esta operación, son los que se nombran a continuación :

- a) El material del interior de la batidora, el cual debe ser inerte y perfectamente liso, como por ejemplo el acero inoxidable (De Panfilis, 1999).
- b) La acción prolongada de enzimas adicionadas que degradan, en particular, componentes menores (De Panfilis, 1999).
- c) La velocidad del batido, la cual no debe ser excesiva ya que favorece la formación de emulsiones que perjudican la posterior extracción del aceite (De Panfilis, 1999).

- d) La adición de agua a la pasta para separar más fácilmente la fase acuosa de la oleosa, ya que altera el equilibrio de partición de los fenoles entre las fases líquidas, causando una reducción en el contenido de fenoles de la pasta y, posteriormente, en el aceite (Di Giovacchino et al., 1994).
- e) La temperatura, ya que mayores temperaturas aceleran interacciones químicas, bioquímicas y físico-químicas, comprometiendo la peroxidación lipídica, el contenido de polifenoles totales, la generación de aromas y la vida útil del producto final (Lercker et al., 1999).
- f) El tiempo, que es responsable de las características físico-químicas y organolépticas del aceite de oliva virgen, específicamente del contenido de compuestos volátiles presentes en el espacio de cabeza de los aceites, del contenido de polifenoles y orto-difenoles y del rendimiento obtenido en la extracción del aceite (Angerosa et al., 1998; Di Giovacchino et al., 2002; Servili et al., 2003).

- Etapa 5 : Extracción del aceite de oliva virgen.

Se puede realizar por percolación, presión o centrifugación. Actualmente, el método más utilizado es la centrifugación horizontal ya que requiere de menor tiempo y mano de obra para su realización. El equipo utilizado es un decanter de dos o tres fases, en el cual es necesario controlar los siguientes factores :

- a) La capacidad de trabajo, ya que influye directamente en el período de centrifugación de la pasta.
- b) La cantidad de agua agregada a la pasta (máximo 30%), en el caso del decanter de tres fases, para lograr la separación de las fases, ya que contribuye a la pérdida de sustancias aromáticas y antioxidantes hidrosolubles y aumenta los residuos líquidos (Marginet y Mabel, 2000).

- Etapa 6 : Limpieza del aceite.

Esta operación , se puede realizar por decantación o centrifugación vertical. Actualmente, la centrifugación vertical es más utilizada ya que requiere de menor tiempo y mano de obra. El objetivo de la limpieza es separar el agua y los residuos del aceite. También en esta etapa, se le puede agregar agua al aceite para mejorar la separación, pero se corre el riesgo señalado anteriormente (Marginet y Mabel, 2000).

- Etapa 7 : Almacenamiento y decantación.

El aceite que se produce durante 3 ó 4 meses se consume a lo largo del año, es por tanto, necesario su almacenamiento a una temperatura que oscile alrededor de 15°C, sin luz ni aire, con el fin de conservar las características favorables del aceite (evitar oxidaciones, fermentaciones y pérdidas de aromas) y permitir la maduración (suavizar las características de amargor, astringencia, etc.) (Cabellos et al., 2001; Marginet y Mabel, 2000; Pardo et al., 2002).

El almacenamiento del aceite se puede realizar en depósitos aéreos o subterráneos. Independientemente del sistema utilizado, los depósitos deben ser aislados y no transmitir sabores u olores al aceite. Actualmente, los depósitos aéreos de acero inoxidable son los más utilizados, éstos, cuentan con una estructura troncocónica de la parte inferior en la cual se deposita la fase acuosa (agua de vegetación) con sustancias en suspensión (sólidos y enzimas) que transfieren defectos al aceite. Consecuentemente, el agua de vegetación se elimina fácilmente a través de una válvula; otra operación importante, que se realiza después de 30 días de almacenamiento, es el trasvasijo del aceite el cual busca impedir el contacto prolongado del aceite con las borras, evitando la formación de características organolépticas desagradables (Marginet y Mabel, 2000).

Un aspecto importante en las fábricas de aceites de oliva virgen, es la clasificación de los aceites de acuerdo a la variedad de aceituna de la cual provienen, de esta forma, es posible elaborar las mezclas de aceites varietales (Marginet y Mabel, 2000).

- Etapa 8 : Mezcla de los aceite varietales.

El aceite que se consume es la mezcla de un conjunto de aceites diferentes que dan como resultado un producto con características particulares o “coupajes”. Para obtener estas mezclas, se debe contar con una serie de aceites perfectamente diferenciados y clasificados, que serán mezclados en distintas proporciones de acuerdo a lo estipulado previamente por un grupo de catadores (Marginet y Mabel, 2000).

- Etapa 9 : Filtración.

Los aceites se filtran sólo cuando se embotellan. El objetivo de la filtración es eliminar los pequeños residuos sólidos que se encuentran suspendidos en el aceite, dejando un producto perfectamente límpido y traslúcido. Para realizar esta operación se utilizan filtros prensa con láminas de celulosa al interior.

Durante los últimos años, ha existido una tendencia a consumir aceites de oliva vírgenes “turbios”. Según Lercker et al. (1994), las partículas suspendidas juegan un rol estabilizante en la vida útil de los aceites, actuando como antioxidantes y como “buffer” contra el aumento de la acidez.

- Etapa 10 : Envasado y etiquetado.

La zona de envasado debe estar separada de cualquier otra zona de la industria, además, se cuidarán en extremo las condiciones higiénicas del local y de los manipuladores, ya que en esta operación el aceite se envasa en botellas de vidrio de color ámbar, en envases metálicos o de diversos

polímeros, para ser tapadas inmediatamente. Es importante mantener un control visual durante esta etapa (Cabellos et al., 2001).

Al etiquetar los envases es importante cumplir con las regulaciones legales de rotulación del país de destino del producto.

- Etapa 11 : Embalado y almacenamiento de aceite embalado.

El aceite envasado, se debe almacenar en lugar fresco, aislado de la luz y en palets. La conservación del aceite envasado es fundamental para garantizar la mantención de las características de calidad hasta su consumo. Los puntos de ventas, deben asumir su responsabilidad en el mantenimiento de la calidad del aceite que expenden, no sometiendo el producto a temperaturas elevadas ni iluminación directa (Cabellos et al., 2001).

2.1.2.4.- Situación actual en Chile

A mediados de la década de 1990 comenzó a tomar fuerza la industria olivícola nacional, impulso que ha ido de la mano de familias o empresarios que con esfuerzo e innovación producen aceite de oliva de excelente calidad, reconocida a nivel internacional (Bañados, 2004).

Chile tiene condiciones naturales que favorecen la producción de aceite de oliva, como el suelo y el clima mediterráneo, especialmente en el borde costero entre la I y III regiones. A ello se suman el mayor consumo interno, la capacidad empresarial, la mano de obra especializada y la experiencia en la producción de frutos y vinos (Bañados, 2004).

En cuanto, a la superficie plantada de olivos, actualmente existen aproximadamente 7.000 hectáreas, de las cuales 4.000 están destinadas para fines aceiteros; esto da como resultado una producción de 1.200 toneladas de

aceite de oliva anuales, que podrían alcanzar las 1.500 toneladas el año 2005. En contraparte, el consumo anual interno corresponde a 2.000 toneladas, que son suplidas fundamentalmente por aceites importados, por lo que la producción se debe enfocar a los mercados externos, de donde nace la necesidad de producir aceites de oliva de excelente calidad (Bañados, 2004).

En nuestro país existe la Asociación Nacional de Productores de Aceitunas y Aceite de Oliva (ANPAO), integrada por 15 empresas, a las que se les suman otras más pequeñas. La tabla 3 informa acerca de las principales empresas productoras de aceite de oliva en Chile.

Tabla 3.- Principales empresas productoras de aceite de oliva en Chile.

Nombre de la empresa	Producción anual (litros)	Tipos de aceite de oliva	Variedades	Mercados de exportación
Terramater	300.000	extra virgen y extra virgen orgánico	Frantoio, Racimo, Empeltre, Leccino, Liguria, Biancolilla y Coratina	Bélgica, Alemania, Reino Unido, Francia, Puerto Rico y Estados Unidos
Agrícola Valle Grande Ltda.	200.000	extra virgen y extra virgen orgánico	Frantoio, Leccino, Coratina y Arbequina, principalmente.	Estados Unidos, Canadá, Japón, Brasil y Francia, principalmente.
Agroindustrial y Comercial Valle Arriba	330.000	extra virgen	Arbequina, Picual, Frantoio, Leccino, Nocellara del Belice y Biancolilla	Colombia, Alemania y costa rica. En negociaciones con Estados Unidos, Israel, Corea y Venezuela.
Agroindustrial Razeto	Proyectan 100.000 litros en 5 años	extra virgen	Frantoio, Leccino, Racimo, Barnea y Picual	Centroamérica y Alemania
Olivares de Quepu	110.000	extra virgen monovarietal	Frantoio, Leccino, Arbequina, Picual, Manzanilla y Barnea	Sudáfrica. En proyectos de exportación con países europeos
Sociedad Agroindustrial Valle del Huasco	50.000	extra virgen	Picual, Frantoio, Arbequina, Empeltre, Sevillana, Barnea y Manzanilla*.	Pequeños embarques a Ecuador, Brasil, Costa Rica, Bélgica y Noruega. Envíos en compromisos con Puerto Rico y Estados Unidos
Agroindustrias Fray Jorge	30.000	extra virgen	Frantoio, Leccino, Arbequina, Grappolo, Liguria, Korineiki y otras.	
Agrícola Valle Quilimarí	6.000	extra virgen	Frantoio, Leccino, Coratina, Arbequina, Nocellara del Belice	En búsqueda de mercados en Europa y Norteamérica

Fuente: Bañados, 2004.

*Comunicación personal con ejecutivo de ventas.

2.2.- MATERIALES Y MÉTODOS.

2.2.1.-Materiales y equipos.

- Materia prima : Aceitunas de la variedad Frantoio, cosechadas durante la época de mayo-Junio de 2004, cultivadas orgánicamente en el fundo “El Oliveto”, perteneciente a la empresa Agrícola Valle Grande Ltda., ubicado en la región Metropolitana, específicamente en la localidad de Cholqui, Melipilla.

- Muestras : Aceite de oliva virgen extra obtenido industrialmente en la planta de la empresa Agrícola Valle Grande Ltda., a partir de las aceitunas mencionadas anteriormente, ya que abarcan más del 50% del total de las variedades plantadas en el fundo “El Oliveto”.

- Equipos a nivel industrial : romana por pesada de materia prima, venteadora, batea de lavado por inmersión, molino de discos, batidora horizontal con manto calefactor provisto de un eje con paletas giratorias, decanter, centrífuga vertical y sistema de registro del volumen de aceite producido.

- Equipos, materiales y reactivos de laboratorio.

- Vasos azules diseñados para cata de aceite de oliva.

2.2.2.- Métodos.

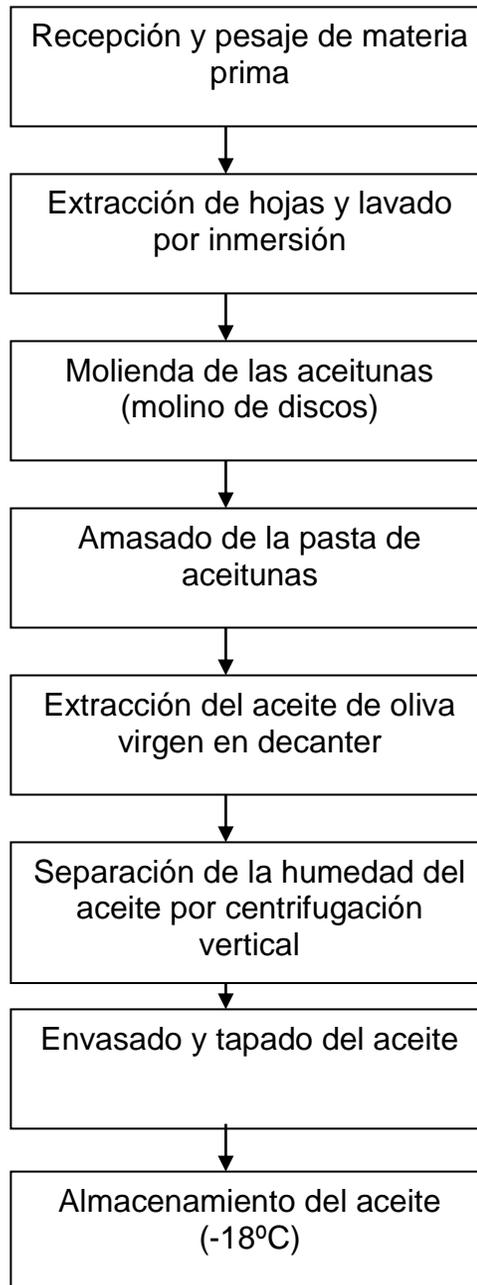
2.2.2.1- Toma de muestras y preparación de las mismas.

- Las muestras se obtuvieron de materia prima procesada a nivel industrial, que ha sido recepcionada, pesada, venteada (para extraer hojas, polvo y pequeñas ramas), lavada en batea por inmersión y molturada por completo en molino de discos. De esta forma, se obtuvo una pasta homogénea que fue amasada en una batidora horizontal, para luego extraer el aceite por medio de un decanter. El aceite obtenido se limpia de los restos de humedad en una centrífuga vertical y sale hacia el sistema de registro del volumen. A la salida de la centrífuga se toman las muestras y se envasan para taparlas. La figura 3, esquematiza la obtención de las muestras de aceite de oliva virgen proveniente de la variedad Frantoio.

- La toma de muestras se realizó a la salida de la centrífuga, a mitad de proceso de cada batch, luego, se envasaron en botellas de vidrio verde oscuro, se taparon, almacenándose a -18°C , con el fin de conservar lo mejor posible las características físicas, químicas y sensoriales de las muestras.

- Antes de analizar el aceite, se filtró con papel filtro Wathman N^o1 con la adición de sulfato de sodio anhidro, con el objetivo de eliminar trazas de humedad excepto para las muestras a las que se les midió la humedad y a las que se les realizó la evaluación sensorial.

Figura 3.- Diagrama de bloques del proceso de extracción del aceite de oliva virgen.



2.2.2.2.- Diseño experimental.

Para la optimización de la temperatura y el tiempo de amasado de pasta de aceitunas, se realizó un diseño estadístico experimental, para esto se consideraron las variables dependientes e independientes del proceso.

2.2.2.2.1.- Variables independientes.

Las variables independientes en el proceso de obtención del aceite de oliva se nombran a continuación:

- a) Variedad del olivo: Frantoio.
- b) Sector de cultivo: Los Brujos, Fundo “El Oliveto”, Cholqui, Melipilla.
- c) Método de cultivo: orgánico.
- d) Procedencia del fruto: árbol.
- e) Tipo de cosecha: manual.
- f) Época de cosecha: Mayo-Junio de 2004.
- g) Cantidad de aceituna a procesar: 1.000 kg.
- h) Tipo de molino: martillos.
- i) Agua durante el amasado: ausente.
- j) Enzima durante el amasado: ausente.
- k) Temperatura de amasado: 26 – 34°C.
- l) Tiempo de amasado: 20 – 40 minutos.
- m) Velocidad de amasado: 8 rpm.
- n) Sistema de extracción: centrifugación por decanter.
- o) Velocidad del decanter: 3700 rpm.
- p) Caudal de agua en el decanter: 300 l/h.
- q) Temperatura del agua en el decanter: 30°C.
- r) Fases de separación en el decanter: 3
- s) Velocidad de la centrifuga vertical: 6321 rpm.

En el proceso de obtención del aceite de oliva virgen se fijaron las variables independientes de acuerdo a las preferencias de la empresa. Sólo el tiempo y la temperatura de amasado se variaron dentro de los rangos especificados, para estudiar el efecto sobre las variables dependientes.

2.2.2.2.2.- Variables dependientes.

El tiempo y la temperatura de amasado afectan la calidad, el rendimiento y las características organolépticas del aceite de oliva virgen (Vekiari y Koutsaftakis, 2002; Di Giovacchino et al., 2002; Lercker et al., 1999). Por lo tanto, las variables dependientes a considerar en el proceso de obtención del aceite de oliva son las siguientes:

- a) Características de calidad : polifenoles totales, índice de peróxidos y acidez libre.
- b) Rendimientos en la extracción del aceite.
- c) Características sensoriales.

2.2.2.2.3.- Diseño estadístico experimental.

Para obtener el tiempo y la temperatura óptimos de amasado de pasta de aceitunas, se diseñaron los experimentos de acuerdo al diseño estadístico experimental del tipo factorial (3^2), en el programa Statgraphic Plus (Anexo 1). Los experimentos realizados se señalan en la tabla 4.

2.2.2.2.4.- Elección de las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de la pasta de aceitunas de la variedad Frantoio.

Los resultados del análisis físico y los análisis químicos realizados a las muestras de aceite de oliva, obtenidas de pasta tratada en las condiciones especificadas en la tabla 4, se ingresaron al programa Statgraphic y se procesaron estadísticamente. A continuación, se evaluó la influencia de las

variables independientes (tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas) sobre las variables dependientes (rendimiento en la extracción, acidez libre, índice de peróxidos y características organolépticas) de acuerdo al análisis de varianza (ANOVA) y el test de rango múltiple (TRM).

Tabla 4.- Diseño experimental.

Código de muestra	Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)
A	20	26
B	20	34
C	30	30
D	40	26
E	40	34
F	30	34
G	40	30
H	30	26
K	20	30

Además, en la empresa Agrícola Valle Grande Ltda., fue realizada la evaluación de las características sensoriales de las muestras de acuerdo al procedimiento detallado en el ítem 2.2.2.3.

Con los resultados obtenidos el Sr. Elvio Olave realizó la elección de las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio, priorizando la calidad del aceite (química y sensorial) frente al rendimiento en la extracción. Es importante destacar que para la elección del óptimo se consideraron las características organolépticas y las variables dependientes con variaciones estadísticamente significativas.

2.2.2.3.- Evaluación de las características sensoriales.

En la empresa Agrícola Valle Grande Ltda., fue realizada la evaluación de las características sensoriales de las muestras de aceites de oliva vírgenes.

Debido a que la evaluación sensorial de más de 4 a 5 muestras, puede provocar la fatiga sensorial, se evaluó solamente las muestras obtenidas de la pasta amasada en las condiciones superiores e inferiores de tiempo y temperatura, codificadas como A, B, D y E, más la muestra K, que presentó la misma cantidad de polifenoles que la muestra A, pero mayor rendimiento en la extracción del aceite.

Las hojas de respuestas para evaluar las características olfato-gustativas-táctiles se basaron en el Reglamento (CEE) N°1.683/92 de la Comisión de la Comunidad Económica Europea, éstas se presentan en las tablas 9 y 10 (anexo 2).

2.2.2.4.- Métodos analíticos.

2.2.2.4.1.- Análisis físico y químicos realizados a los aceites obtenidos en las condiciones dadas por el diseño experimental

2.2.2.4.1.1.- Físico.

2.2.2.4.1.1.1.- Rendimientos del proceso.

Se calculó el rendimiento para cada una de las experiencias en base a los litros producidos de aceite (registrados mediante un sistema volumétrico) sobre los kilos procesados de materia prima (registrados mediante la romana por pesada de materia).

2.2.2.4.1.2.- Químicos.

2.2.2.4.1.2.1.- Índice de peróxidos.

Se realizó de acuerdo al método oficial AOCS, 1993 Cd 8-53.

2.2.2.4.1.2.2.- Acidez libre.

Se realizó el método oficial AOCS, 1993 Ca 5a-40.

2.2.2.4.1.2.3.- Cuantificación de polifenoles.

El equipo utilizado fue un espectrofotómetro UNICAM UV / VISIBLE, conectado a un computador con el software Vision 2.11. En la cuantificación, se efectuaron los procedimientos que se detallan a continuación.

a) Preparación de las muestras.

Se disolvió 10 g de aceite en 50 ml de hexano realizándose una extracción líquido-líquido con 3 porciones de metanol acuoso al 60%, cada una de 20 ml. La mezcla fue agitada cada vez durante 5 minutos, cuidando de que no se formaran emulsiones. El extracto metanólico obtenido se llevó a rotavapor con vacío a 40°C. El extracto se disolvió en metanol p.a. (2 a 3 ml) y se almacenó en frascos viales de color ámbar a -18°C, para la posterior cuantificación (Gutfinger, 1981).

Para la cuantificación de los polifenoles se realizó el método de Folin-Ciocalteu, descrito a continuación :

- se tomó una alícuota de 100 µl de extracto fenólico disuelto y se colocó en un matraz aforado de color ámbar de capacidad 10 ml;
- se agregó 4,9 ml de agua destilada;

- a la misma solución se agregó 500 μl de reactivo de Folin-Ciocalteu, se mezcló, se tapó el matraz y se dejó reposar durante 3 minutos (a temperatura ambiente);
- se agregó 1,4 ml de solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20%;
- se aforó con agua destilada, se tapó y se mezcló;
- se dejó reposar durante 30 minutos (a temperatura ambiente); y,
- se leyó la absorbancia a 725 nm contra un blanco preparado de la misma manera, pero a cambio del extracto metanólico, se colocó agua.

El valor de absorbancia, que fue entre 0,2 y 0,8 para que se cumpliera la “Ley de Beer”, se interpoló en la curva de calibración preparada con un patrón, como se indica a continuación.

b) Preparación de la curva de calibración.

Utilizando como estándar el ácido cafeico, se preparó una solución madre de concentración 5 mg / ml, a partir de la cual se obtuvieron diluciones cuya concentración varió entre 0 y 700 mg / L de ácido cafeico.

Se realizó la cuantificación de los polifenoles según el método de Folin-Ciocalteu, descrito anteriormente.

Se realizó la regresión lineal en el programa Statgraphic Plus 4.0, teniendo en consideración los valores obtenidos para el coeficiente de correlación (cercano a 1). De esta forma se obtuvo la curva de calibración (Anexo 3).

2.2.2.4.2.- Análisis físicos y químicos realizados a los aceites obtenidos en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas

Para determinar la calidad del aceite obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas, se realizaron los siguientes análisis físicos y químicos :

2.2.2.4.2.1.- Físicos.

2.2.2.4.2.1.1- Determinación del índice y grado de refracción.

Según método AOCS, 1993 Cc 7-25. Se utilizó un refractómetro Abbé y se midió el índice y grado de refracción del aceite de oliva virgen extra a 20°C, 25°C y 40°C.

2.2.2.4.2.1.2.- Humedad y materias volátiles.

Se realizó según el método oficial AOCS, 1993 Ca 2c-25.

2.2.2.4.2.2.- Químicos.

2.2.2.4.2.2.1.- Determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa (porcentaje de ésteres metílicos).

Se realizó según la Norma Española UNE, 55-037-73.

Las condiciones de la cromatografía gaseosa fueron:

- Cromatógrafo de gases: Hewlet Packard 5890 serie II, unido a integrador electrónico Hewlet Packard 3395.
- Inyector: Temperatura de 240°C.
- Gas portador: Hidrógeno.
- Detector: FID, a una temperatura de 240°C.

- Programa de temperatura en el horno: Temperatura inicial 160°C, tiempo inicial 3 minutos, velocidad de calentamiento 2°C / minuto, temperatura final 240°C.
- Columna utilizada: Capilar, BPX 70, de 50 metros de largo, 0,2 µm de film, 0,25 mm de diámetro interno.
- Volumen inyectado: 0,5 µl.

Para la identificación de los ácidos grasos se compararon los tiempos de retención de los ácidos grasos de la muestra con los tiempos de retención de los patrones (PUFAs) (figura 22, anexo 7).

2.2.2.4.2.2.2.- Determinación de los fitoesteroles por cromatografía gaseosa.

Los fitoesteroles, separados por el método oficial AOCS, 1993 Ca 6a-40, fueron identificados y determinados cuantitativamente basándose en el método de la norma española UNE 55-019-84.

Las condiciones de la cromatografía gaseosa fueron:

- Cromatógrafo de gases: Hewlet Packard 5890 serie II, unido a integrador electrónico Hewlet Packard 3395.
- Inyector: Temperatura de 300°C.
- Gas portador: Hidrógeno.
- Detector: FID, a una temperatura de 300°C
- Temperatura en el horno: 270°C (isoterma).
- Columna utilizada: Capilar, HP 5 Crosslinked 5% PH ME Silicona, de 30 metros de largo, 0,25 µm de film, 0,32 mm de diámetro interno.
- Volumen inyectado: 1 µl

Los fitoesteroles se identificaron y cuantificaron con una solución mezcla de los patrones respectivos (figura 20, anexo 7). Además, se utilizó como estándar interno el 5- α -colestano, a una concentración aproximada de 2 (mg / ml) en hexano.

2.2.2.4.2.2.3.- Medición de la extinción específica por absorción en el ultravioleta (K_{270} y ΔK).

El equipo utilizado fue un espectrofotómetro UNICAM UV / VISIBLE, conectado a un computador con el software Vision 2.11. Se realizó el método oficial AOCS, 1993 Ch 5-91.

Se preparó soluciones de aceite en isooctano HPLC al 1% (p/v) y se midió la absorbancia a 270 nm, 266 nm y 274 nm.

Para el cálculo del coeficiente de extinción específica a cualquier longitud de onda se utilizó la siguiente fórmula:

$$K_{\lambda}: A_{\lambda} / c \times l$$

En donde:

K_{λ} : extinción específica a la longitud de onda λ .

A_{λ} : absorbancia medida a la longitud de onda λ .

c: concentración de la solución (g / 100 ml).

l: luz de paso de la cubeta (cm).

En tanto, para calcular el ΔK se utilizó la siguiente fórmula.

$$\Delta K: K_{270} - ((K_{266} + K_{274})/2)$$

En donde:

ΔK : variación de la extinción específica.

K_{270} , K_{266} y K_{274} : extinción específica a 270, 266 y 274 nm. de longitud de onda, respectivamente (Norma CODEX STAN 33-1981, 2001).

2.2.2.4.2.2.4.- Determinación de triglicéridos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Se realizó según el método oficial AOCS, 1993 Ce 5b-89. Se preparó las muestras a una concentración de 1,25% en acetona y se inyectó 20 μ l al HPLC. El cromatograma se registró en papel mediante el integrador.

Las condiciones utilizadas fueron :

- Cromatógrafo HPLC: Merck Hitachi L-6200
- Detector HPLC: De índice de refracción. Merck RI – 71.
- Integrador: Merck Hitachi D-2500.
- Columna: Symmetry C 18 4,6 x 250 mm.
- Fase móvil: Acetona : Acetonitrilo (1:1, v/v), Flujo 1,1 ml/min.

Todo el equipo se operó a temperatura ambiente y todos los solventes utilizados fueron grado HPLC. Para la identificación y el reconocimiento de los triglicéridos se utilizó un estándar de aceite de oliva conformado por los triglicéridos siguientes: LLL, LLO, OOO, OOP y OOS. El cromatograma respectivo se presenta en la figura 24 (anexo 7). Además, para el reconocimiento de los triglicéridos ausentes en el estándar se utilizó como estándar el aceite de soja.

2.2.2.4.2.2.5.- Determinación de tocoferoles y tocotrienoles por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Se llevó a cabo a través del método oficial AOCS, 1993 Ce 8-89. Se preparó las muestras a una concentración de 1% (p/v) en hexano p.a y se inyectó 100 μ l al HPLC, el cual dejó pasar 20 μ l a su interior. El cromatograma se registró en papel mediante el integrador.

Las condiciones utilizadas fueron:

- Cromatógrafo HPLC: Merck Hitachi L-6200
- Detector HPLC: Fluorescencia
- Integrador: Merck Hitachi D-2500.
- Columna: Lichrocart HPLC Cartridge Si 60 (5 μ m).
- Fase móvil: Hexano- 2-propanol (0,5%), Flujo 1 ml / minuto.

Todo el equipo se operó a temperatura ambiente y todos los solventes utilizados fueron grado HPLC.

Los α , β , γ y δ tocoferoles se identificaron y cuantificaron con una solución mezcla de los patrones respectivos de concentraciones entre 1 a 5 μ g / ml cada uno; en tanto, el α tocotrienol se cuantificó e identificó con respecto al estándar de α tocoferol. El cromatograma de la mezcla de estándares se presenta en la figura 18 (anexo 7).

2.2.2.4.2.2.6.- Materia insaponificable.

Se realizó de acuerdo al método oficial AOCS, 1993 Ca 6a-40.

2.2.2.4.2.2.7.- Medición del índice de estabilidad mediante el equipo Rancimat.

Se realizó de acuerdo al método oficial AOCS, 1993 Cd 12b-92.

- Instrumento: Rancimat Metrohm, con detector 679.
- Flujo de aire: 20 Litros / Hora.
- Temperatura: 110°C.

2.2.2.4.2.2.8.- Medición del índice de p-anisidina.

Se realizó de acuerdo al método oficial AOCS, 1993 Cd 18-90.

2.3.- RESULTADOS.

En la tabla 5 se presentan los resultados promedios, junto con las desviaciones estándar, del análisis físico y los análisis químicos de las muestras de aceite de oliva virgen extra, obtenidas al amasar la pasta de aceitunas de la variedad Frantoio de acuerdo a las condiciones planteadas por el diseño estadístico experimental.

Tabla 5.- Resultados de los análisis realizados a las muestras planteadas por el diseño experimental.

Ensayo	Tiempo de amasado (minutos)	Temperatura de amasado (°C)	Acidez libre (% de ácido oleico)	Índice de peróxidos (meq O ₂ / kg de aceite)	Polifenoles expresado (mg de ácido cafeico / kg de aceite)	Rendimiento (L de aceite / 100 kg de materia prima)
A1	20	26	0,22±0,01	3,6±0,6	495±24	14,1
A2			0,22±0,01	3,2±0,0	363±29	16,5
B1	20	34	0,24±0,02	4,3±0,1	436±16	18,3
B2			0,25±0,00	2,5±0,3	380±32	17,7
C	30	30	0,24±0,00	3,0±0,2	349±26	16,9
D1	40	26	0,23±0,00	3,6±0,2	354±49	16,9
D2			0,22±0,01	4,8±0,1	337±19	17,7
E1	40	34	0,21±0,02	3,9±0,7	315±64	18
E2			0,21±0,02	3,5±0,4	281±30	17,6
F1	30	34	0,23±0,02	4,7±0,4	297±19	16,7
F2			0,23±0,00	4,9±0,9	261±50	16,7
G1	40	30	0,24±0,01	4,3±0,9	282±62	17
G2			0,22±0,01	4,6±0,8	276±29	15,8
H1	30	26	0,20±0,02	3,6±0,6	279±24	16,3
H2			0,22±0,00	4,0±0,5	211±38	17
K1	20	30	0,20±0,01	4,5±0,5	269±33	---
K2			0,22±0,01	5,3±0,9	214±2	---

2.3.1.- Obtención de las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas variedad Frantoio.

Los resultados fueron estadísticamente procesados para detectar diferencias significativas en el comportamiento de las variables dependientes con el tiempo y la temperatura de amasado de pasta de aceitunas variedad Frantoio.

2.3.1.1.- Contenido de polifenoles totales en el aceite de oliva virgen extra.

De acuerdo al análisis de varianza (ANOVA), para el contenido de polifenoles en los aceites de oliva vírgenes, el tiempo de amasado influyó significativamente ($p\text{Value}= 0,0032$). El test de rango múltiple (TRM), para el contenido de polifenoles con el tiempo de amasado de pasta de aceitunas, indicó que existe un contenido estadísticamente mayor de polifenoles en el aceite cuya pasta se amasó durante 20 minutos, con respecto a los aceites cuya pasta se amasó durante 30 y 40 minutos (tablas 15 y 16, anexo 4). En tanto, la temperatura no tuvo una influencia estadísticamente significativa sobre el contenido de polifenoles en los aceites ($p\text{Value}= 0,1039$).

Las figuras 4 y 5 muestran el comportamiento de los polifenoles al variar el tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas. Es posible observar que al amasar la pasta de aceitunas durante 20 minutos entre 26 y 30°C (muestras "A" y "K"), los contenidos de los polifenoles en los aceites de oliva vírgenes extra no variaron.

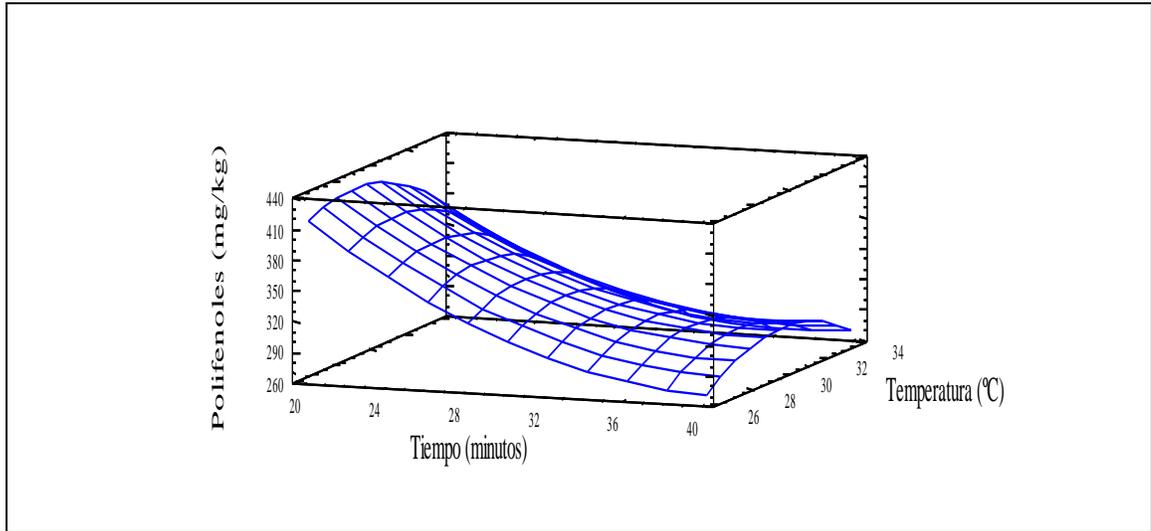


FIGURA 4.- Gráfico de la superficie de respuesta estimada para el contenido de polifenoles en función del tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas.

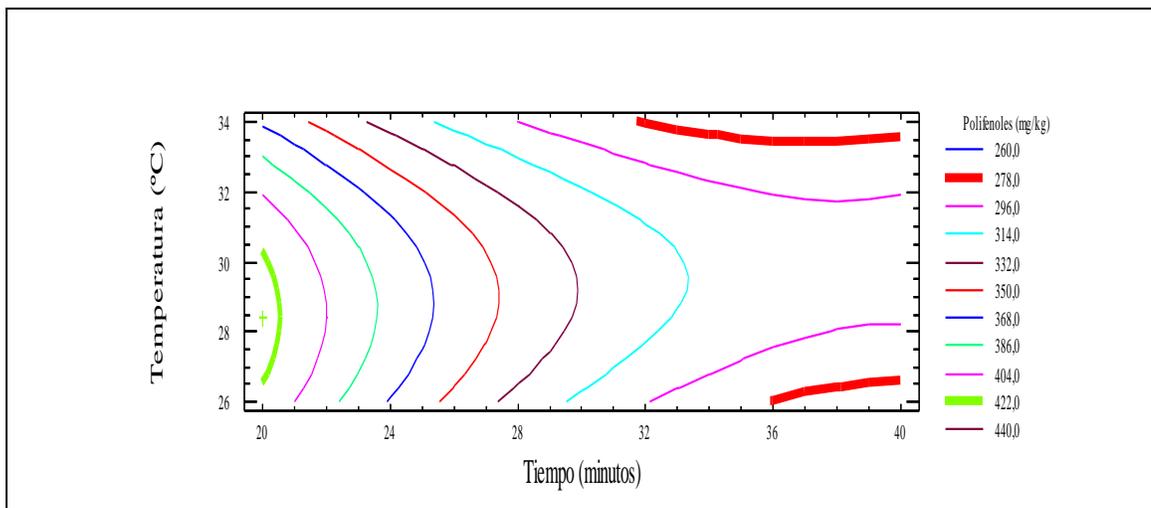


FIGURA 5.- Gráfico de contornos de la superficie de respuesta estimada para los polifenoles en función del tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas.

El análisis de los experimentos realizado en el programa Statgraphic Plus 4.0 entrega un valor teórico máximo de polifenoles correspondiente a 429 mg / kg, para el aceite extraído de pasta amasada durante 20 minutos a una temperatura correspondiente a 28°C (mg ácido cafeico/ kg de aceite).

2.3.1.2.- Rendimiento en la extracción del aceite de oliva virgen extra.

De acuerdo al ANOVA, los tiempos y las temperaturas de amasado de la pasta de aceitunas no influyeron significativamente en el rendimiento obtenido al extraer el aceite de oliva virgen (tabla 17, anexo 4), resultando un rendimiento promedio para los experimentos de $16,9 \pm 1,0$ %. Sin embargo, se observó un leve aumento de la variable al incrementar la temperatura y el tiempo de amasado de la pasta de aceitunas, tal como se muestra en las figuras 6 y 7.

La condición de trabajo que resultó con mayor rendimiento durante el amasado de la pasta de aceitunas fue 20 minutos de duración a una temperatura de 34°C (muestra B). De acuerdo a esta condición de trabajo, el máximo rendimiento corresponde a 17,7% (litros / kg de materia prima).

2.3.1.3.- Acidez del aceite de oliva virgen extra.

De acuerdo al ANOVA, la acidez no fue afectada por las variaciones en las condiciones de trabajo utilizadas durante el amasado (tabla 18, Anexo 4). El promedio total para la acidez de las muestras de aceite de oliva virgen, tratadas en distintas condiciones, es $0,21 \pm 0,01$ expresado como % ácido oleico.

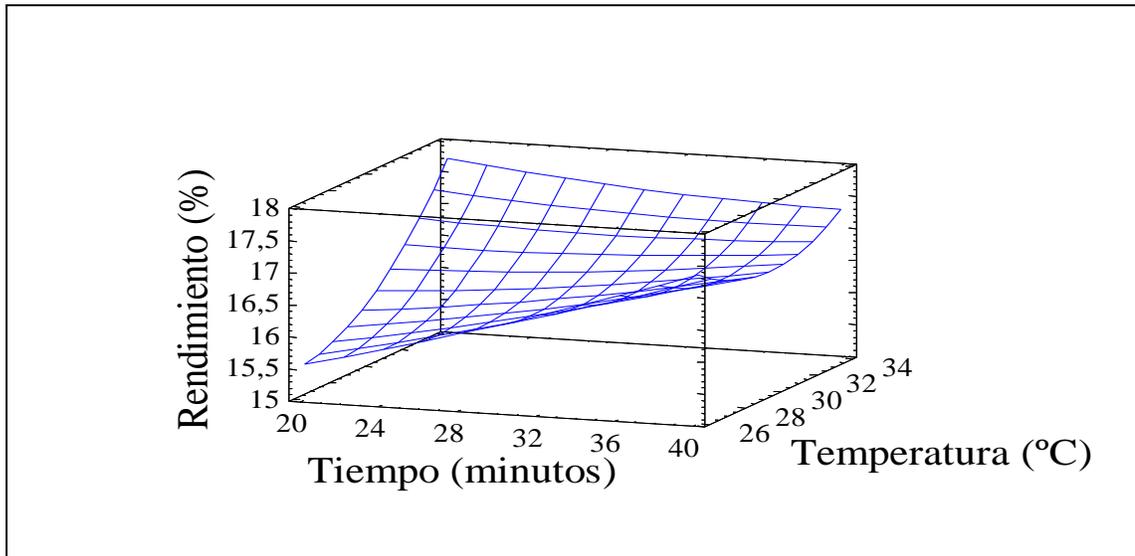


FIGURA 6.- Superficie de respuesta estimada para el rendimiento en función del tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas.

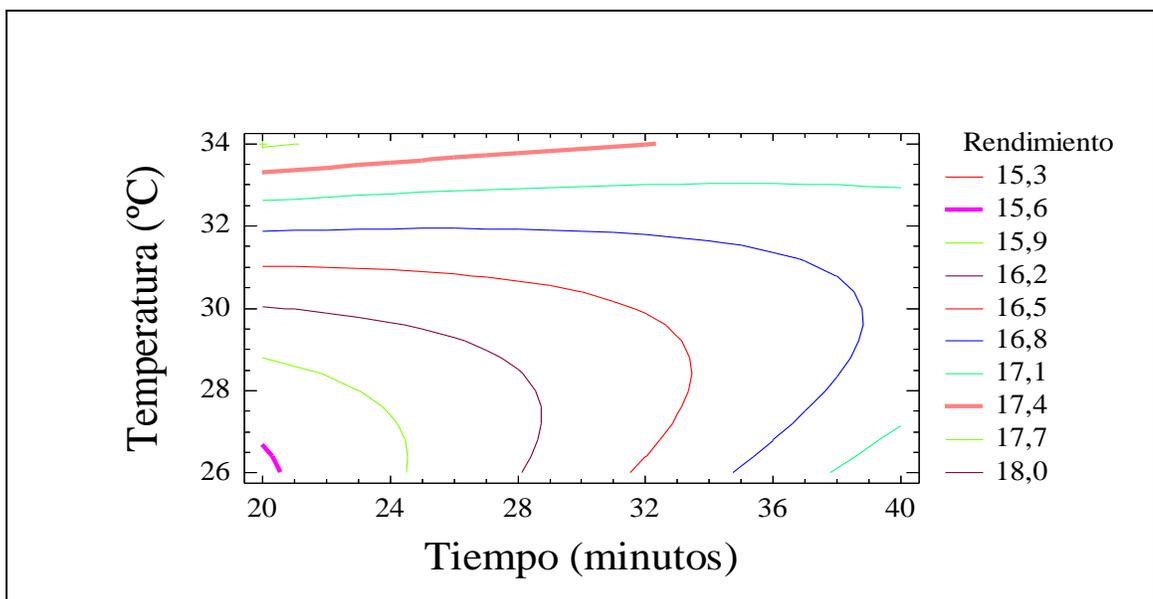


FIGURA 7.- Gráfico de contornos de la superficie de respuesta estimada para el rendimiento en función del tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas.

2.3.1.4.- Índice de peróxidos del aceite de oliva virgen extra.

De acuerdo al ANOVA, el PV no varió significativamente al cambiar las condiciones de trabajo dentro de los rangos especificados anteriormente para el amasado de la pasta de aceitunas (tabla 19, Anexo 4). El promedio total para el PV de las muestras de aceite de oliva virgen, tratadas en distintas condiciones, es $4,0 \pm 0,4$ meq O₂ / kg de aceite.

2.3.2.- Evaluación de las características organolépticas de los aceites de oliva virgen extra.

Los resultados de la evaluación de las características organolépticas de las muestras codificadas como A, B, D, E y K fueron los siguientes.

- Aroma: Ningún aceite presentó defectos perceptibles. El aroma de los aceites se definió como frutado de aceitunas y otros frutos secos. La muestra "A" fue preferida ante las demás con una puntuación global de 8. Las muestras "B" y "D" recibieron una puntuación igual a 7, en tanto, las muestras "K" y "E" obtuvieron una calificación entre 6 y 7.
- Gusto-tacto: La muestra "A" fue preferida ante las demás. Las muestras "B" y "K" siguieron en preferencia a la muestra "A", con un sabor más neutro. La muestra "D" se ubicó en el tercer lugar de las preferencias y fue catalogada con "gusto a almendras verdes y a leñosa". Por último, la muestra "E" fue la menos preferida y fue catalogada con "gusto pungente".

2.3.3.- Elección de las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio.

Las muestras de aceite de oliva virgen extra “A” (obtenida al amasar la pasta de aceitunas durante 20 minutos a 26°C), y “K” (obtenida al amasar la pasta de aceitunas durante 20 minutos a 30°C), presentaron el mayor contenido de polifenoles, por lo tanto, sin considerar la evaluación de las características organolépticas, ambas pueden ser la muestra óptima.

La muestra K, presentó mayor rendimiento que la muestra A, pero organolépticamente la muestra “A” fue la mejor, por lo tanto, las condiciones óptimas de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (tratadas en las condiciones especificadas en los ítems 2.2.2.1 y 2.2.2.2.1) son : 20 minutos a 26°C.

2.3.4.- Caracterización físico-química del aceite de oliva obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado.

Los resultados de los análisis físicos y químicos de las muestras de aceite obtenidas al amasar la pasta de aceitunas durante 20 minutos a 26°C (A1 y A2), se presentan en las tablas 6, 7 y 8.

Las muestras presentaron valores dentro de los límites establecidos por la legislación chilena, argentina, del CODEX Alimentarius y del COI (tabla 2) para la acidez libre, índice de peróxidos, índice de refracción, K_{270} , ΔK , contenido de tocoferoles, contenido de materia insaponificable y para la gran mayoría de los ácidos grasos.

La acidez libre de las muestras A1 y A2 fue $0,22 \pm 0,01$ % ácido oleico para ambas.

El PV de las muestras A1 y A2 fue $3,6\pm 0,6$ y $3,2\pm 0,0$ meq O₂ / kg de aceite, respectivamente.

El índice de p-anisidina de las muestras A1 y A2 fue $11,7\pm 0,1$ y $9,5\pm 0,0$, respectivamente.

El contenido de polifenoles totales varió entre las muestras tratadas en las mismas condiciones, resultando para A1 y A2, 495 ± 24 y 363 ± 29 mg ácido cafeico / kg aceite, respectivamente.

El rendimiento para las muestras de aceite A1 y A2 fue 14,1% y 16,5%, respectivamente, expresado como los litros obtenidos sobre los kilogramos de materia prima procesada.

El porcentaje de humedad y materias volátiles de la muestra A1 superó el límite reglamentado, en tanto, la muestra A2 alcanzó el límite máximo reglamentado (tabla 6), ambos con respecto al RSA. En este caso, el resultado no tiene mayor importancia, situación que se discutirá más adelante.

El índice de estabilidad de las muestras de aceite A1 y A2 fue $12,7\pm 0,2$ y $12,1\pm 0,8$ horas, respectivamente (tabla 6). El gráfico de tiempo de inducción para la muestra A1 se presenta en la figura 17 (anexo 6).

El índice de refracción de las muestras (tabla 6) fue levemente inferior al establecido por el CODEX Alimentarius. En comparación con la legislación establecida por el CAA, solo la muestra A2 se situó por fuera del rango.

Es posible confirmar el predominio de alfa tocoferol por sobre beta, gama y delta tocoferoles, los cuales estuvieron presentes en contenidos menores a 10

mg / kg, por lo que se informaron como trazas (tabla 6). También se encontró un pequeño contenido de alfa-tocotrienol en las muestras, tal como se observa en la figura 19 (anexo 7).

En la figura 21 (anexo 7) se observa el cromatograma de fitosteroles para la muestra A2. La suma de campesterol y β sitosterol fue 1049 ± 37 y 1034 ± 30 (mg / kg), para las muestras de aceite de oliva A1 y A2, respectivamente. Este valor se encuentra sobre el límite mínimo normado por el COI para los esteroides totales, que corresponde a 1000 (mg / kg).

Tabla 6.- Resultados de la caracterización físico-química de las muestras de aceite de oliva virgen A1 y A2.

Parámetros	Resultados	
	A1	A2
Acidez libre (% ácido oleico)	0,22±0,01	0,22±0,01
Índice de peróxidos (meq O ₂ / kg aceite)	3,6±0,6	3,2±0,0
Índice de p-anisidina	11,7±0,3	9,5±0,1
TOTOX	18,9±0,4	15,9±0,3
Polifenoles totales (mg de ácido cafeico / kg)	495±24	363±29
Humedad y materias volátiles (%)	0,28±0,01	0,18±0,01
Índice de estabilidad (h)	12,7±0,2	12,1±0,8
Índice de refracción (20°C)	1,4669	1,4668
Grado de refracción (20°C)	61,7	61,5
Índice de refracción (25°C)	1,4665	1,4658
Índice de refracción (40°C)	1,4666	1,4649
K 270	0,169±0,001	0,142±0,001
ΔK	-0,005±0,000	-0,003±0,000
α-tocoferol (mg / kg)	205±5	219±9
β- tocoferol (mg / kg)	tr	tr
γ-tocoferol (mg / kg)	tr	tr
δ-tocoferol (mg / kg)	tr	tr
α-tocotrienol (mg / kg)	tr	34±1
Materia insaponificable (g / kg)	7,3±0,5	8,4±0,4
Campesterol + Beta-sitosterol (mg / kg)	1049±50	1034±42
Campesterol (mg / kg)	46±4	51±4
Beta-sitosterol (mg / kg)	1003±70	983±55
Escualeno (mg/kg)	1571±73	1721±64

La tabla 7 muestra el contenido en ácidos grasos de las muestras de aceite de oliva virgen, expresado como porcentaje de ésteres metílicos. Es posible observar la variación insignificativa para el perfil ácido entre las muestras. Además, se confirmó el alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados del aceite de oliva virgen, conformados principalmente por ácido oleico (C 18:1 ω 9). La relación SAT : MUFA : PUFA encontrada para A1 y A2 fue 1:5,5:0,6 y 1:5,4:0,6, respectivamente.

El único ácido graso fuera del límite establecido por el RSA fue el ácido eicosaenoico (C 20:1), que superó en solo 0,1 unidad el porcentaje límite fijado; sin embargo, el parámetro está dentro del límite establecido por el COI (tabla 7).

Además, en los cromatogramas se observó un pequeño pic correspondiente a trazas de ácido mirístico (C 14:0), que no se pudo cuantificar debido a su bajo porcentaje con respecto al total de ácidos grasos (figura 23, anexo 7).

Tabla 7.- Composición en ácidos grasos de las muestras A1 y A2 de aceite de oliva virgen.

Ácidos grasos (% de ésteres metílicos)	Resultados	
	A1	A2
C 14:0 ac. mirístico	n.c.	n.c.
C 16:0 ac. palmítico	11,57±0,01	11,75±0,02
C 16:1 isómero	0,11±0,00	0,10±0,00
C 16:1 ac. palmitoleico	0,83±0,00	0,83±0,00
C 16:1 total	0,94±0,00	0,94±0,00
C 17:0 ac. decaheptanoico	0,08±0,01	0,08±0,00
C17:1 ac. heptadecaenoico	0,11±0,00	0,11±0,00
C18:0 ac. esteárico	1,97±0,04	2,06±0,00
C18:1 isómero	0,11±0,02	0,15±0,01
C18:1ω9 cis ac. octadecaenoico	73,11±0,05	72,88±0,02
C18:1ω7 cis ac. octadecaenoico	2,93±0,01	2,96±0,00
C18:1 ac. octadecaenoico	0,10±0,00	0,09±0,00
C 18:1 total	76,25±0,04	76,08±0,04
C18:2 ω6 ac. linoleico	7,63±0,04	7,56±0,05
C18:3 ω3 ac. linolénico	0,53±0,00	0,52±0,00
C 20:0 ac. eicosanoico	0,35±0,01	0,34±0,00
C 20:1 ac. eicosaenoico	0,36±0,01	0,34±0,00
C 22:0 ac. docosanoico	0,14±0,01	0,13±0,00
C 24:0 ac. tetracosanoico	0,08±0,02	0,08±0,01
Ácidos grasos saturados totales	14,19±0,06	14,44±0,01
Ácidos grasos monoinsaturados totales	77,66±0,04	77,48±0,04
Ácidos grasos poliinsaturados totales	8,15±0,04	8,08±0,05
Relación SAT:MUFA:PUFA	1:5,5:0,6	1:5,4:0,6

La tabla 8 muestra el contenido en triglicéridos de las muestras A1 y A2 de aceite de oliva virgen, expresados como porcentaje con respecto a la suma total de los mismos,. Es posible comprobar el predominio de trioleína (OOO) y de 1,2-dioleil-3-palmitoil-glicerol (OOP), que suman alrededor del 70% de los triglicéridos totales. En la figura 25 se presenta el cromatograma de triglicéridos para la muestra A2 (anexo 7).

Tabla 8.- Composición en triglicéridos de las muestras A1 y A2 de aceite de oliva virgen.

Triglicéridos (% de la suma total)	Resultados	
	A1	A2
LLL	tr	tr
No identificado	3,9 \pm 0,1	5,6 \pm 2,2
LOO	13,8 \pm 0,1	13,2 \pm 1,1
PLO	6,9 \pm 0,1	7,6 \pm 0,7
PLP	tr	tr
OOO	44,5 \pm 0,2	43,7 \pm 0,7
POO	24,4 \pm 0,1	24,3 \pm 0,3
POP	3,2 \pm 0,0	2,4 \pm 1,2
SOO	3,3 \pm 0,3	3,2 \pm 0,2

2.4.- DISCUSIÓN.

2.4.1.- Análisis físico-químicos realizados a los aceites obtenidos de pasta amasada en las condiciones especificadas en el diseño estadístico experimental.

2.4.1.1.- Contenido de polifenoles totales en el aceite de oliva virgen extra.

En el presente estudio se encontraron contenidos de polifenoles similares a los encontrados en otros. Los valores fluctuaron entre 211 ± 38 y 495 ± 24 mg / kg de aceite, expresados como ácido cafeico (tabla 5) (Gutfinger, 1981; Gutiérrez et al., 2001; Servili et al., 2003; Ravetti, 1999).

La disminución en el contenido de polifenoles totales en el aceite y en las aguas de vegetación, al aumentar el tiempo de amasado de pasta de aceitunas, ha sido confirmada por diversos estudios realizados en diferentes países. Dicha tendencia puede ser atribuida a la acción del oxígeno atmosférico y de la fenoloxidasas, enzima que cataliza la oxidación de los fenoles a quinonas (Di Giovacchino et al., 2002; Vekiri and Koutsaftakis, 2002).

En el presente trabajo se confirmó la disminución significativa en el contenido de polifenoles totales al aumentar el tiempo de amasado de la pasta de aceitunas, resultando un contenido promedio significativamente mayor para los aceites extraídos de pastas amasadas durante 20 minutos, correspondiente a 360 ± 22 mg / kg de aceite, con respecto a las pastas amasadas durante 30 y 40 minutos, que presentaron contenidos promedios de 291 ± 49 y 308 ± 39 mg / kg de aceite, todos expresados como ácido cafeico.

El contenido de polifenoles totales en los aceites no varió significativamente al aumentar la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas de 26 a 34°C; sin embargo, se observó un leve aumento de los mismos al amasar la pasta a 30°C (figuras 4 y 5). Dicho comportamiento se explica por la liberación de los constituyentes del aceite desde los tejidos vegetales al aumentar la temperatura de la pasta de aceitunas (Ranalli et al., 2001).

2.4.1.2.- Rendimiento en la extracción del aceite de oliva virgen extra.

Si bien el rendimiento en la extracción no varió significativamente, se observó un leve aumento del mismo al incrementar el tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas (figuras 6 y 7).

La cantidad de aceite mecánicamente extraíble mediante centrifugación depende de la cantidad de aceite libre presente en la pasta de aceitunas después de la molienda y el amasado. La molienda mediante molino metálico de martillos, generalmente provoca una emulsión que es posible reducir solo con el amasado. Esto explica que el rendimiento en la extracción aumente al incrementar el tiempo de amasado de la pasta de aceitunas (Di Giovacchino et al., 2002).

La temperatura de amasado influencia el rendimiento en la extracción del aceite ya que al aumentar, disminuye la viscosidad del aceite, adquiriendo una mayor movilidad y facilitando la separación de la fase oleosa (De Panfilis, 1999).

2.4.1.3.- Acidez del aceite de oliva virgen extra.

La acidez de las muestras varió entre $0,20 \pm 0,01$ y $0,25 \pm 0,00$ % de ácido oleico. Esto confirma la clasificación “extra” de acuerdo a la reglamentación argentina y la normativa del COI (tabla 2).

Al igual que en estudios realizados por otros autores (Vekiari and Koutsaftakis, 2002; Di Giovacchino et al., 2002), la variación de la acidez del aceite no fue significativa al variar la temperatura y el tiempo de amasado de la pasta de aceitunas.

2.4.1.4.- Índice de peróxidos del aceite de oliva virgen extra.

El PV de las muestras de aceite de oliva virgen extra “Olave” varió entre $2,5 \pm 0,3$ y $5,3 \pm 0,9$ (meq O₂ / kg de aceite). Esto confirma la clasificación “extra” de acuerdo a la reglamentación argentina y a las normativas del CODEX Alimentarius y del COI (tabla 2).

La variación del PV no fue significativa al variar el tiempo y la temperatura de amasado de la pasta de aceitunas, al igual que en otras investigaciones. En un estudio en el que se varió el tiempo y la temperatura de amasado de pasta de aceitunas de 0 a 30 minutos y de 20 a 30°C, respectivamente, el PV aumentó en ambos casos; sin embargo, los rangos de tiempo y temperatura utilizados fueron mayores a los utilizados en el presente estudio. Tal comportamiento del PV se puede atribuir al contacto prolongado de la pasta con el oxígeno atmosférico y a la aceleración del fenómeno de oxidación provocado por la temperatura (Di Giovacchino et al., 2002; Lercker et al., 1999; Vekiari y Koutsaftakis, 2002).

2.4.2.- Características sensoriales de los aceites de oliva virgen extra.

Las muestras de aceite no presentaron defectos en cuanto al aroma. Las muestras “K” y “E” obtuvieron una calificación entre 6 y 7, ya que fueron levemente menos preferidas que las muestras “B” y “D”, evaluadas con una puntuación global de 7. Por lo tanto, se dedujo que la escala utilizada, basada en el Reglamento de la Comisión de la CEE, fue muy estrecha.

La influencia de las condiciones de amasado de la pasta de aceitunas sobre las características organolépticas de los aceites extraídos, se debe a que durante la molienda de las aceitunas y, consecuentemente de las células intactas, son liberadas enzimas capaces de degradar la membrana o lípidos almacenados, que por medio de la vía propuesta originan compuestos volátiles deseables e indeseables (figura 26, anexo 8) (Olías et al., 1993).

La muestra de aceite preferida en cuanto a la sensación gusto-tacto-olfativa fue la "A", cuya pasta fue amasada en las menores condiciones de tiempo y temperatura. En concordancia con los resultados obtenidos en el presente trabajo, en un estudio similar se encontró que la temperatura fue la variable más influyente en las características sensoriales de los aceites obtenidos, de acuerdo con esto, se concluyó que el amasado a temperaturas mayores a 35°C promovió la formación de compuestos volátiles "verdes" responsables de percepciones sensoriales indeseables, en tanto que temperaturas menores a 25°C, favorecieron la producción de percepciones sensoriales "verdes" deseables.

El hexanal, componente volátil del espacio de cabeza de los aceites es responsable de las percepciones "verde", "manzana" y "dulce", por lo tanto, la cuantificación de este compuesto puede ser usada en la caracterización organoléptica de los aceites de oliva vírgenes. Sin embargo, es importante destacar que la biogénesis de tal compuesto implica la formación de compuestos primarios de la oxidación, como son los hidroperóxidos, que rápidamente se descomponen en compuestos secundarios de carácter carbonílico, responsables de los aromas y sabores de los aceites tanto positivos como negativos, por lo que no es deseable que existan cantidades muy altas de este compuesto, ya que se compromete la vida útil del producto final (Morales y Aparicio, 1999).

2.4.3.- Caracterización físico-química del aceite de oliva obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura.

Entre los criterios considerados en las distintas legislaciones y normas para el reconocimiento de la pureza de los aceites de oliva, bajo condiciones ecológicas normales, están la composición y el contenido total de esteroides, la composición de ácidos grasos, el contenido de materia insaponificable, el contenido de ceras, el contenido de ácidos grasos trans, el contenido de ácidos grasos saturados en posición 2 en los triglicéridos, la densidad relativa, el índice de refracción y el índice de saponificación. En tanto, los criterios de calidad para el aceite de oliva son la acidez libre, el índice de peróxidos y la extinción específica en el ultravioleta (K_{270}) (Norma CODEX STAN 33-1981, 2001; Resolución RIS-3/79-IV/98, 1998).

En comparación con aceites de oliva vírgenes extra comerciales y con aceites de oliva vírgenes extra monovarietales, la acidez promedio de las muestras A1 y A2 está en el límite inferior de los valores encontrados. Este parámetro se relaciona con el correcto estado de los frutos, la idoneidad del proceso de obtención y la correcta conservación (Figura 9, anexo 5) (Bórquez, 1998; Cabellos et al., 2001; Batumi et al., 2003).

En comparación con aceites de oliva vírgenes monovarietales recién elaborados, obtenidos a partir de pasta de aceitunas amasada en condiciones similares (30 minutos, 25°C), el aceite de oliva virgen extra "Olave" presenta un bajo índice de peróxidos. Este parámetro es una medida directa del grado de oxidación inicial del aceite y de la desaparición de ciertos compuestos antioxidantes como polifenoles, tocoferoles y vitaminas (Figura 10, anexo 5) (Batumi, 2003; Cabellos, 2001).

El índice de p-anisidina del aceite indica el contenido de aldehídos en la muestra, es decir, es una medida de la oxidación secundaria. En comparación con los aceites comerciales caracterizados químicamente por Bórquez (1998), los resultados estuvieron dentro del rango encontrado para éstos, que varió entre 4 y 13.

La estabilidad o resistencia al deterioro oxidativo del aceite de oliva virgen se relaciona con la composición triglicéridica, baja en ácidos grasos poliinsaturados y alta en ácidos grasos monoinsaturados, y con la presencia de antioxidantes fenólicos naturales, principalmente polifenoles y tocoferoles. La contribución de los primeros a la estabilidad en aceites de oliva vírgenes es alrededor de 50% (Gutiérrez et al., 2001; Velasco y Dobarganes, 2002).

El índice de estabilidad de las muestras A1 y A2 fue $12,7 \pm 0,2$ y $12,1 \pm 0,8$ h. En comparación con aceites de oliva vírgenes, el valor promedio para las muestras, correspondiente a $12,4 \pm 0,3$ h fue bajo (figura 12, anexo 5). Por el contrario, el contenido de fenoles totales en comparación con aceites de oliva fue alto (figura 11). Para explicar estos resultados se cuantificaron los fenoles totales y se realizó una prueba para medir el OSI a un aceite de oliva virgen obtenido de aceitunas de la variedad Frantoio cosechadas antes de la maduración. El contenido de polifenoles del aceite fue 155 ± 12 mg ácido cafeico /kg, en tanto, el índice de estabilidad fue 28,4 h. En un estudio realizado por Salue et al. (1995), se encontró que un extracto fenólico agregado a un aceite de oliva refinado, blanqueado y desodorizado, tiene la mayor capacidad antioxidante a 50 mg / kg (equivalentes de ácido gálico) en base al índice de peróxidos, mientras que, en base a la formación de hexanal (producto de la oxidación secundaria), la mayor capacidad antioxidante se encontró a 100 y 200 mg / kg (equivalentes de ácido gálico). Esto se explica porque al aumentar la concentración de compuestos fenólicos a más de 100 mg / kg de aceite,

expresado como ácido gálico, aumenta la capacidad inhibidora de la descomposición de hidroperóxidos, pero disminuye la capacidad de inhibición de la formación de hidroperóxidos.

Los tocoferoles son antioxidantes de origen natural conformados por diferentes proporciones de alfa, beta, gama y delta tocoferoles. Su poder antioxidante es inverso al de su función biológica. En términos de actividad antioxidante, el más activo es el delta tocoferol, en tanto que, el alfa tocoferol es el más activo biológicamente, disminuyendo la velocidad de agregación plaquetaria. Las actividades biológicas de los α , β , γ y δ tocoferoles y del α -tocotrienol están en la relación 10:4:1:0,1:3, respectivamente (Badui, 1999; Belitz y Grosch, 1999; Valenzuela y Nieto, 1995).

Las muestras de aceite "A1" y "A2" presentaron trazas de beta, gama y delta tocoferol, en tanto, el contenido de alfa tocoferol fue aproximadamente 200 (mg / kg de aceite). Es sabido que el alfa tocoferol posee actividad antioxidante / prooxidante dependiendo de la concentración y la temperatura. Se ha encontrado que el efecto antioxidante es mejor a 100 (mg / kg) que a mayores concentraciones (500 y 1000 mg / kg). Además, se ha encontrado que el α -tocoferol actúa como prooxidante a concentraciones mayores a 250 mg / kg de aceite, basado en el PV. En la figura 15 (anexo 5), es posible comparar el contenido de alfa-tocoferol entre aceites de oliva vírgenes extra y el aceite de oliva virgen extra "Olave", obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Anexo 5) (Badui, 1999; Belitz y Grosch, 1999; Blekas et al., 1995; Valenzuela y Nieto, 1995).

Además, en la muestra A2 de aceite de oliva virgen extra "Olave", se encontró pequeñas cantidades de alfa tocotrienol, en tanto, en la muestra A1

se encontró solo trazas del compuesto antioxidante. Sin embargo, las cantidades son tan pequeñas en relación al alfa tocoferol y los polifenoles, que el compuesto antioxidante no tiene mayor implicancia en la estabilidad del aceite.

Como se mencionó anteriormente, las muestras A1 y A2 de aceite de oliva virgen extra “Olave”, presentaron un $0,28 \pm 0,01\%$ y $0,18 \pm 0,01\%$ de humedad y materias volátiles, respectivamente. El límite máximo reglamentado por el RSA para aceites comestibles corresponde a un $0,2\%$. Este resultado no tiene una gran importancia ya que, como se mencionó en el ítem 2.2.2.1 de los métodos, las muestras de aceite analizadas se tomaron a la salida de la centrifuga y, por lo tanto, el aceite no ha sido almacenado en estanque para que ocurra la decantación de la humedad (proveniente del agua de vegetación de la aceituna) y para realizar su eliminación.

El K_{270} es una medida espectrofotométrica que indica la calidad, el estado de preservación y los cambios ocurridos durante el proceso de obtención del aceite, ya que se relaciona con el grado de oxidación del aceite. Dicho parámetro no es específicamente una medida de la refinación del aceite. En tanto, el ΔK se calcula para medir la K_{270} sin interferencia de la absorción de fondo. Como era de esperar, el aceite de oliva virgen extra “Olave” presentó valores muy inferiores a los límites reglamentados por el CODEX Alimentarius, el CAA y el COI (AOCS, 1993 Ch 5-91; Cabellos et al., 2001).

Los fitoesteroles, análogos estructurales del colesterol animal, poseen un efecto hipocolesterolémico. Las muestras de aceite de oliva A1 y A2, presentaron un contenido total de campesterol y β sitosterol un poco menor a los valores encontrados en otros estudios, donde los aceites de oliva vírgenes

resultaron con 1400 a 1500 mg/kg de esteroides totales (Pasqualone y catalana, 2000; Salvador et al., 2003).

Al comparar el porcentaje de beta-sitosterol y campesterol de aceites de oliva vírgenes extra con las muestras A1 y A2 de aceite de oliva virgen, se observa que no existe una gran diferencia (figura 16, anexo 5).

La composición en ácidos grasos es un criterio de identidad de los aceites de oliva, pero en algunos casos es necesaria la adición de cantidades significativas, superiores al 20%, de otros aceites para que la modificación sea apreciable. Por ésto, además de considerar el contenido en ácidos grasos en los aceites de oliva, se reglamentan otros parámetros, tales como el contenido de esteroides, el contenido en trilinoleina, el índice de refracción, etc. La muestra solo sobrepasó el límite establecido por el RSA para el contenido de ácido eicosaenoico (C 20:1), pero en cantidades tan bajas (0,1%), que se consideran como despreciables.

Al comparar con aceites de oliva vírgenes extra comerciales, es posible observar que el contenido de ácido oleico del aceite de oliva virgen "Olave" supera el valor medio de las muestras presentadas en otros estudios, que corresponde a 72% (Figura 13, Anexo 5). Dicho resultado tiene importancia dado los beneficios para la salud con que contribuye este ácido graso.

Al comparar la relación SAT:MUFA:PUFA con aceites de oliva vírgenes extra comerciales, es posible observar la similitud de los valores encontrados (Figura 14, Anexo 5).

Por último, es importante destacar que en Chile, para el aceite de oliva, además del RSA existen las normas del INN (NCh 107. Of2001, NCh 112. Of1956 y NCh 2586. Of2001), todas de carácter no obligatorio. Tales normas

tratan sobre la clasificación y los requisitos de calidad del aceite de oliva en sus distintas formas de presentación para consumo humano, el método para comprobar las adulteraciones del aceite de oliva hechas con otros aceites o con colorantes, y la clasificación y los requisitos de calidad del aceite de orujo de oliva en sus distintas formas de presentación para consumo humano.

III.- CONCLUSIONES

Las condiciones óptimas de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio cultivadas orgánicamente y tratadas en las condiciones especificadas en la metodología del presente trabajo, considerando las características organolépticas y el contenido de polifenoles totales de los aceites, son 20 minutos de duración a 26°C de temperatura.

Al comparar los parámetros que indican la calidad de las muestras A1 y A2 de aceite de oliva extra virgen elaborado por la empresa Valle Grande Ltda., con los límites establecidos por las normas (COI y CODEX Alimentarius) y reglamentos (RSA y CAA), se encontró que los valores de los parámetros se situaron dentro de los límites. Además, al comparar con aceites de oliva, las muestras de aceites A1 y A2 estuvieron dentro de los rangos encontrados para los aceites de oliva.

Al comparar los parámetros de genuinidad con los normados (COI y CODEX Alimentarius) y reglamentos (RSA y CAA), se confirmó la pureza de las muestras A1 y A2, de aceite de oliva virgen extra de la variedad Frantoio.

En el presente trabajo fue posible confirmar la calidad del aceite de oliva virgen extra, obtenido de la variedad Frantoio y elaborado por la empresa Valle Grande Ltda., referida al alto contenido de ácido oleico, bajo contenido de ácidos grasos saturados, alto contenido de antioxidantes y considerable contenido de vitamina E, sustancias reconocidas como beneficiosas para la salud.

IV.- REFERENCIAS

- 1.- ANGEROSA, F. "et al". Biogeneration of Volatile Compounds in Virgin Olive Oil: Their Evolution in Relation to Malaxation Time. JAFIC. (46) : 2940-2944. 1998.
- 2.- BADUI, SALVADOR. Química de los Alimentos. Edición nº4. Addison Wesley Longman de México Editores, 1999. p. 259 y 342.
- 3.- BAÑADOS N., Angélica. Industria de Aceite de Oliva. Los empresarios que apostaron por el "oro líquido". Revista Vitivinicultura. (20) : 82-89, oct. 2004.
- 4.- BARRANCO, D., FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R. y RALLO, L. El cultivo del olivo. 3ª ed. Madrid, Ediciones Mundi Prensa Coedición Junta de Andalucía, 1998.
- 5.- BELITZ, Hans-Dieter y GROSCH, Werner. Química de los Alimentos. 2ª ed. Zaragoza, Editorial Acribia, 1990. 696-697, 879 p.
- 6.- BELL, J. y GILLAT, P. Normas para garantizar la autenticidad de los aceites y grasas comestibles. Food, Nutrition and Agriculture. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (s.a) (en línea). (<http://www.fao.org/docrep/T4660T/t4660t0g.htm>) (consulta: 20-11-2004).
- 7.- BLEKAS, G., TSIMIDOU, M. y BOSKOU, D. Contribution of α -tocopherol to olive oil stability. JAFIC. (52) : 289-294. 1995.
- 8.- Boletín trimestral ISSN 0718-0330. Estrategia comercial para el aceite de oliva. Boletín Olivícola nº 14. Ministerio de Agricultura, Santiago, Chile, nov, 2003.
- 9.- Boletín trimestral ISSN 0718-0330. Variedades aceiteras españolas. Boletín Olivícola nº 15. Ministerio de Agricultura, Santiago, Chile, feb., 2004.

- 10.- BÓRQUEZ Macherone, Ricardo Antonio. Características químicas y físicas de aceite de oliva comercializado en Argentina y Chile. Tesis (Químico Farmacéutico). Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, 1998. 21-22-25-26-27-34
- 11.- BOSKOU, DIMITRIUS. Química y tecnología del aceite de oliva. Madrid, AMV Ediciones & Mundi-Prensa, 1998.
- 12.- CABELLOS, P. et al. (2001). Manual de aplicación del sistema APPCC en industrias de aceites vegetales comestibles de Castilla - La Mancha. Departamento de Calidad de CECAM. España.
- 13.- Cerretani, L. et al. Evaluation of the oxidative stability and organoleptic properties of extra virgin olive-oils in relation to olive ripening degree. Progress in Nutrition. 6(1):50-56. 2004.
- 14.- CIMATO "et al." (1996). Observaciones sobre el germoplasma de olivo toscano 3: Características analíticas y sensoriales de aceites monovarietales. OLIVAE (62) : 46-51, jun. 1996.
- 15.- CONFERENCIA "Abraham Stekel". (1996, Pucón, Chile). ARTEAGA Llona, Antonio. Nutrición y Cardiopatía. Mitos y Realidades. Santiago, Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile, 1998. 9-19p.
- 16.- CRIADO, M. "et al". Effect og Growing Area on pigment and Phenolic Fractions of Virgin Olive Oils of the Arbequina Variety in Spain. JAOCS. 81(7) : 633-640. 2004.
- 17.- Decreto Supremo N°977/96. Título X : De las Grasas y Aceites Comestibles. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Ministerio de Salud, Santiago, Chile, actualizado a diciembre de 2003.
- 18- DE PANFILIS, Franco. Significado actual del concepto de calidad referido al aceite de oliva: la olivicultura argentina en el contexto internacional. Revista Aceites y Grasas. (36) : 373-389. sept. 1999.

- 19.- DI GIOVACCHINO, L., SOLINAS, M. y MICCOLI, M. Effect of Extraction System on the Quality of Virgin olive oil. JAOCS. 71 (1): 1189-1193, 1994.
- 20.- DI GIOVACCHINO, L. «et al» . Influence of Malaxation time of olive paste on oil extraction yields and chemical and organoleptic characteristics of virgin olive oil obtained by a centrifugal decanter at watter saving. Revista Grasas y Aceites. 53 (2): 179-186, 2002.
- 21.- ESTI, M., CINQUATA, L. y LA NOTTE, E. Phenolic Compounds in Different Olive Varieties. JAFc. 46:32-35. 1998.
- 22.- FOGLIANO, V. et al. Antioxidant activity of virgin olive oil phenolic compounds in a micellar system. JSFA, 79: 1803-1808. 1999.
- 23.- GUTFINGER, T. Polyphenols in Olive Oils. JAOCS. 58: 966-968, 1981.
- 24.- GUTIÉRREZ, F., ARNAUD, T. y GARRIDO, A. Contribution of polyphenols to the oxidative stability of virgin olive oil. JSFA. 81: 1463-1470. 2001.
- 25.- INSTITUTO NACIONAL de Normalización. Normas Chilenas NCh 107.Of 2001, NCh 112.Of1956 y NCh 2586.Of 2001 (en línea) <http://www.inn.cl/busquedas/busqueda/resultado_de_busqueda.asp> (consulta : 19-11-04).
- 26.- JACOTOT, Bernard. El aceite de oliva : Alimento medicinal. Revista Aceites y Grasas. 149-153, jun. 1995.
- 27.- LEIGHTON, F. y URQUIAGA, I. Los componentes del vino y sus efectos beneficiosos para la salud humana. En: CONGRESO LATINOAMERICANO de viticultura y neología (VII, 1999, Mendoza, Argentina). Santiago, Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias Biológicas. pp. 28.
- 28.- LERCKER, G. « et al ». “Veiled” Extra-Virgin Olive Oils: Dispersion Response Related to Oil Quality. JAOCS. 71(6) : 657-658. 1994.

29.- LERCKER, G. «et al ». Volatile constituents and oxidative stability of virgin olive oils: influence of the kneading of olive-paste. Revista Grasas y Aceites. 50(1):26-29, 1999.

30.- Ley Nº 18.284. Artículo 535 (Res. Conj. 71 y 390/03). Capítulo VII. Código Alimentario Argentino. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, Argentina. Actualizado a mayo de 2003.

31.- MASSON, LILIA y Mella, M^a Angélica. Materias Grasas de Consumo Habitual y Potencial en Chile. Composición en ácidos grasos. Santiago, Chile. Edición Digital reproducida con autorización de los autores, 1985. (en línea) <http://mazzinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/massonl01/4anexo1.html>.

32.- MARGINET, J. y MABEL, F. Guía de Aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura. Extracción de Aceite Oliva. (en línea) <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/03/olivo/guias/Guia_BPM_Aceite_de_Oli va_pdf>. (consulta: 03-05-2004).

33.- MORALES, M. y APARICIO, R. Effect of extraction conditions on sensory quality of virgen olive oil. JAOCS. 76(3) : 295-300. 1999.

34.- Norma CODEX STAN 33-1981 (Rev. 1-1989). CODEX standard for olive oil, virgin and refined, and for refined olive-pomace oil. Codex Alimentarius. Volumen 8. Programa Conjunto FAO/OMS de Normas Alimentarias. 2001.

35.- Norma Española UNE 55-037-73. Materias grasas. Determinación de ácidos grasos por cromatografía gaseosa. España. Octubre, 1973.

36.- Norma Española. UNE 55-019-84.. Análisis de la fracción de esteroides por cromatografía gaseosa. España. Octubre, 1984.

37.- AOCS Official Methods, (1993).

A.- Peroxide Value. Acetic Acid-Chloroform Method, Cd 8-53.

B.- Free Fatty Acids, Ca 5a-40.

C.- Índice y grado de refracción, Cc 7-25 (15 a).

D.- Moisture and Volatile Matter. Air Oven Method, AOCS Ca 2c-25.

E.- Determination of Specific Extinction of Oil and Fats, Ultra-Violet Absorption, AOCS Ch 5-91.

F.- Triglycerides in Vegetable Oils by HPLC, Ce 5b-89.

G.- Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Vegetable Oils and Fats by HPLC, Ce 8-89.

H.- Oil Stability Index, AOCS Cd 12b-92.

I.- Unsaponifiable Matter, AOCS Ca 6a-40.

38.- OLÍAS, J. "et al.". Aroma of virgin olive oil: biogenesis of the "green" odor notes. *JAFCS*. 41:2368-2373. 1993.

39.- Olías, J. y García, J. (1997). *Postharvest Physiology and storage of Tropical and Subtropical Fruits*. Editorial CAB INTERNATIONAL. España.

40.- OLAVE, E. (2004). Empresa Agrícola Valle Grande Ltda. Comunicación personal.

41.- PARDO, J. "et al". Aplicación del sistema de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) en la línea de elaboración de aceite oliva virgen. *Revista Grasas y Aceites*. 53(3) : 309-318, 2002.

42.- PASQUALONE, A. y CATALANO, M. Free and total sterols in olive oils. Effect of neutralization. *Revista Grasas y Aceites*. 51(3) : 177-182, 2000.

43.- PATUMI, M. "et al". Effect of Frutti Stoning on Olive Oil Quality. *JAOC*, 80(3): 249- 255. 2003.

- 44.- PÉREZ-ARQUILLUÉ, C. "et al". Estudio de la calidad del aceite de oliva virgen de Aragón. Revista Grasas y Aceites. 54(2): 151-160, 2003.
- 45.- RANALLI, "et al". Malaxing temperature affects volatile and phenol composition as well as other analytical features of virgin olive oil. EJLST. 103(4) : 228-238. 2001.
- 46.- RAVETTI, Leandro. Caracterización preliminar de variedades y aceites de oliva vírgenes de la provincia de Catamarca. Fisiología de la acumulación de aceite y parámetros de rendimiento, calidad y conservación. Revista Aceites y Grasas. (36) : 361-369, sept. 1999.
- 47.- Reglamento (CEE) N°1.683/92 de la Comisión de la Comunidad Económica Europea. Análisis sensorial del aceite de oliva virgen. 1992.
- 48.- Resolución RIS-3/79-IV/98. Norma comercial aplicable al aceite de oliva y al aceite de orujo de oliva. Norma Comerciale COI., Madrid, España, ed. Noviembre de 1998.
- 49.- SALUE, M. Teresa, SHU-WENG, Huang y FRANKEL, Edwin. Effect of natural Antioxidants in Virgen Olive Oil on Oxidative Stability of Refined, Bleached, and Deodorized Olive Oil. JAOCS. 72(10) : 1131-1137. 1995.
- 50.- SALVADOR, M. "et al". Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. JAFCS, 80 : 359-366. 2003.
- 51.- SERVILI, M. "et al.". Air Exposure Time of Olive Pastes During the Extraction Process and Phenolic and Volatile Composition of Virgin Olive Oil. JAOCS. 80(7) : 685-694. 2003.
- 52.- VALENZUELA, A. y NIETO, S. Los antioxidantes : protectores de la calidad en la industria alimentaria. Revista Aceites y Grasas. (36) : 310-321. sept., 1995.

53.- VEKIARI, S. y KOUTSAFTAKIS, A. The effect of diferent procesing stages of olive fruit on the extracted olive oil polyphenol content. Revista Grasas y Aceites. 53(3):304-308, 2002.

54.- VELASCO, J. y DOBARGANES, C. Oxidative stability of virgin olive oil. EJLST. 104(9-10) : 661-676, 2002.

ANEXO 1

Diseño estadístico experimental

Tipo de diseño: superficie de respuesta

Nombre del diseño: factorial 3^2

Base del diseño

Número de factores experimentales: 2

Número de respuestas: 4

Número de repeticiones: 2

<u>- Factores</u>	<u>Menor</u>	<u>Mayor</u>	<u>Unidades</u>
Tiempo	20,0	40,0	minutos
Temperatura	26,0	34,0	°C

<u>- Respuestas</u>	<u>Unidades</u>
Polifenoles totales	expresado como mg ácido cafeico / kg de aceite
Acidez	% ácido oleico
Índice de Peróxidos	meq O ₂ / kg de aceite
Rendimiento	litros de aceite / kg de materia prima

ANEXO 2

Evaluación sensorial del aceite de oliva

Tabla 9.- Hoja de perfil para la evaluación de las notas gustativas-táctiles del aceite de oliva.

Atributos	Intensidad de percepción (1)					
Frutado de aceituna (madura (o) verde (2))	0	1	2	3	4	5
Manzana.....						
Otra(s) fruta(s) madura(s).....						
Verde (hoja, hierba).....						
Amargo.....						
Picante.....						
Dulce.....						
Otro(s) atributo(s) tolerable(s).....						
¿Cuál(es)?.....						
.....						
Agrio/ Avinado/ Avinagrado/ Ácido (2)						
Basto.....						
Metálico.....						
Moho/ Humedad.....						
Borras/ Turbios.....						
Atrojado.....						
Rancio.....						
Otro(s) atributo(s) intolerable(s).....						
¿Cuál(es)?.....						
.....						

(1) Intensidad de la percepción.

0 = Ausencia total (3).

1 = Casi imperceptible.

2 = Ligera.

3 = Media.

4 = Grande.

5 = Extrema.

(2) Táchese lo que no proceda.

(3) Es obligatorio indicar la ausencia de la nota sensorial marcando una cruz en la casilla correspondiente.

Fuente: Reglamento (CEE) Nº1.683/92 de la Comisión de la CEE.

Tabla 10.- Escala de puntuación para el aroma de aceites de oliva.

Defectos	Características	Evaluación Global Puntos
Ninguno	Frutado de aceitunas	9
	Frutado de aceitunas y otros frutos secos	8
		7
Casi imperceptibles	Fruto apagado de cualquier tipo	6
Levemente perceptibles	Frutado algo defectuoso, olores anómalos	5
Percepción con Intensidad media	Claramente defectuoso, olores desagradables	4
Claramente Perceptibles, con gran intensidad	Olores totalmente inadmisibles para el consumo	3
		2
		1

Observaciones.....

 Nombre del catador.....

 Clave de la muestra.....

 Fecha.....

Fuente: Reglamento (CEE) N°1.683/92 de la Comisión de la CEE.

ANEXO 3

Curva de calibración: Absorbancia v/s Polifenoles totales

De acuerdo a la “Ley de Beer”, existe una relación lineal entre la concentración del compuesto y la absorbancia leída a cierta longitud de onda en un espectrofotómetro, por lo que se prepararon las soluciones detalladas a continuación, para las que se tuvo las lecturas respectivas.

Tabla 11.- Absorbancia promedio correspondiente a las soluciones de distintas concentraciones de ácido cafeico.

Concentración (mg / litro)	Absorbancia (725 nm; 30 min.)
0	0
50	113
100	151
150	180
250	357
300	334
400	415
500	544
668	718

Las absorbancias correspondientes a las concentraciones 50 y 100 son notablemente menores que 200, por lo tanto, no se consideraron para la construcción de la curva de calibración, ya que no cumplen la “Ley de Beer”.

Al realizar el análisis de la regresión, se encontró que el residuo n° 5, correspondiente a la concentración 250 (mg / litro), es inusual, es decir se aleja estadísticamente de la tendencia lineal. Esto se comprueba por el valor del residuo estudentizado, que supera el límite máximo, correspondiente a 3,0 (en valor absoluto).

Lo dicho anteriormente se resume en la tabla siguiente.

Tabla 12.- Residuos inusuales de absorbancia con respecto a los valores predichos para la construcción de la curva de calibración de absorbancia v/s concentración de polifenoles.

Dato	X	Y	Predicho Y	Residual	Residuo estudentizado
5	250,0	357,0	286,972	70,0285	6,13

Se realizó nuevamente la regresión para los datos, excluyendo el residuo n°5, y se obtuvo lo siguiente:

Tabla 13.- Análisis de la regresión según el modelo lineal: $Y = a + b \cdot X$.

Variable dependiente: Absorbancia
Variable independiente: Concentración

Parámetro	Estimado	Error Estándar	T Estadístico	P-Value
Intercepto	8,05706	9,30599	0,865793	0,4354
Pendiente	1,06177	0,02316	45,8451	0,0000

Debido a que el pValue del intercepto es mayor que 0,05, el valor estimado para el intercepto de la curva no es significativo. En tanto, la pendiente de la curva de regresión sí es significativo, basándose en el mismo criterio (López, 2004).

Tabla 14.- Análisis de la varianza para el modelo lineal.

Fuente	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Modelo	326939,0	1	326939,0	2101,78	0,0000
Residuo	622,214	4	155,553		
Total (Corregido)	327561,0	5			

Coefficiente de Correlación = 0,99905
R-cuadrado = 99,81 %
Error Estándar del Estimado = 12,4721
Cantidad de datos excluidos: 3

La ecuación del modelo de ajuste que describe la relación lineal entre la absorbancia y la concentración de polifenoles de una solución, y que considera los errores estimados para cada uno de los coeficientes es la siguiente:

$$A = 10 + 1,06 * C$$

A: Absorbancia medida a 725 nm.

C: Concentración de polifenoles en el extracto metanólico (mg / litro).

Debido a que el p-Value presentado en la tabla 20 es menor que 0.01, hay una relación estadísticamente significativa para el modelo construido con la absorbancia v/s la concentración de los fenoles totales con un nivel de confianza del 99%.

El R-cuadrado indica que el modelo de ajuste explica el 99,81 % de la variabilidad de la Absorbancia. El coeficiente de correlación (0,99905), indica que existe una relación relativamente fuerte entre las variables en estudio. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos corresponde a 12,4721.

Al analizar nuevamente los residuos inusuales, se encontró que no existen más datos que se alejen estadísticamente de la tendencia lineal, por lo tanto, el modelo lineal se ajusta definitivamente a los datos, y se representa en el siguiente diagrama:

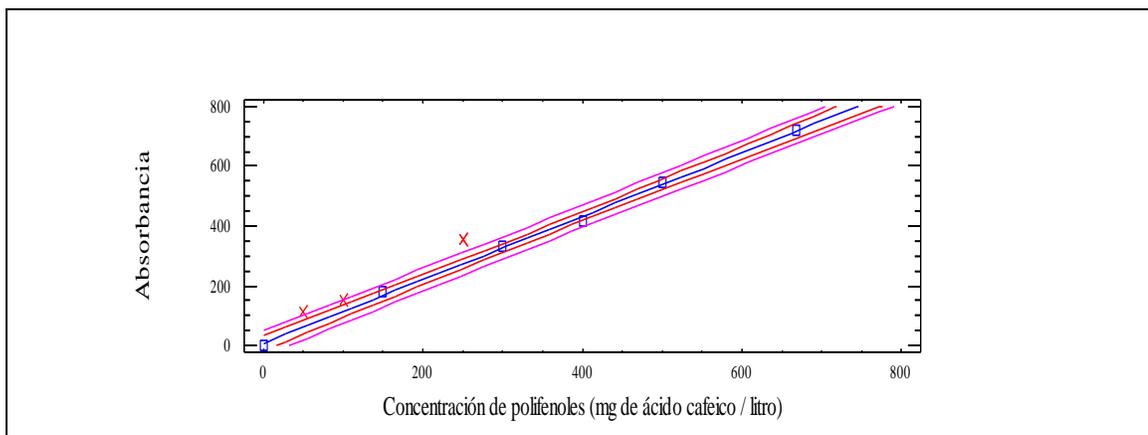


Figura 8.- Diagrama del modelo de ajuste para la absorbancia v/s la concentración de polifenoles expresados como ácido cafeico.

ANEXO 4

Análisis experimental de los resultados obtenidos mediante el análisis físico y químico de los aceites tratados según las condiciones establecidas por el diseño estadístico experimental

Tabla 15.- Análisis de varianza para el contenido de polifenoles en el aceite de oliva virgen - Tipo III Suma de cuadrados.

Fuente	Suma de Cuadrados	Df	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Value
PRINCIPALES EFECTOS					
A:Temperatura	3040,68	2	1520,34	4,20	0,1039
B:Tiempo	24222,7	2	12111,4	33,49	0,0032
RESIDUAL	1446,67	4	361,668		
TOTAL (CORREGIDO)	28710,1	8			

Todos los "F-ratios" están basados en el error cuadrático medio residual.

Tabla 16.- Test de rango múltiple para la variación en el contenido de polifenoles en el aceite con el tiempo de amasado de pasta de aceitunas.

Método: 95,0 % Tukey HSD

Tiempo	Cuenta	LS Media	Homogeneidad del Grupo
40	3	281,293	X
30	3	308,393	X
20	3	402,363	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
20 - 30	*93,97	55,3312
20 - 40	*121,07	55,3312
30 - 40	27,1	55,3312

* muestra una diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 17.- Análisis de varianza para el rendimiento en la extracción del aceite de oliva virgen- Tipo III Suma de cuadrados.

Fuente	Suma de Cuadrados	Df	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Value
PRINCIPALES EFECTOS					
A:Tiempo	1,09125	2	0,545625	0,62	0,5566
B:Temperatura	4,09125	2	2,04563	2,32	0,1445
RESIDUAL	9,70708	11	0,882462		
TOTAL (CORREGIDO)	14,6044	15			

Todos los "F-ratios" están basados en el error cuadrático medio residual.

Tabla 18.- Análisis de varianza para la acidez del aceite de oliva virgen - Tipo III Suma de cuadrados.

Fuente	Suma de Cuadrados	Df	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Value
PRINCIPALES EFECTOS					
A:Tiempo	0,0000777778	2	0,0000388889	0,17	0,8478
B:Temperatura	0,000344444	2	0,000172222	0,74	0,4958
RESIDUAL	0,00302222	13	0,000232479		
TOTAL (CORREGIDO)	0,00344444	17			

Todos los "F-ratios" están basados en el error cuadrático medio residual.

Tabla 19.- Análisis de varianza para el índice de peróxidos del aceite de oliva virgen - Tipo III Suma de cuadrados.

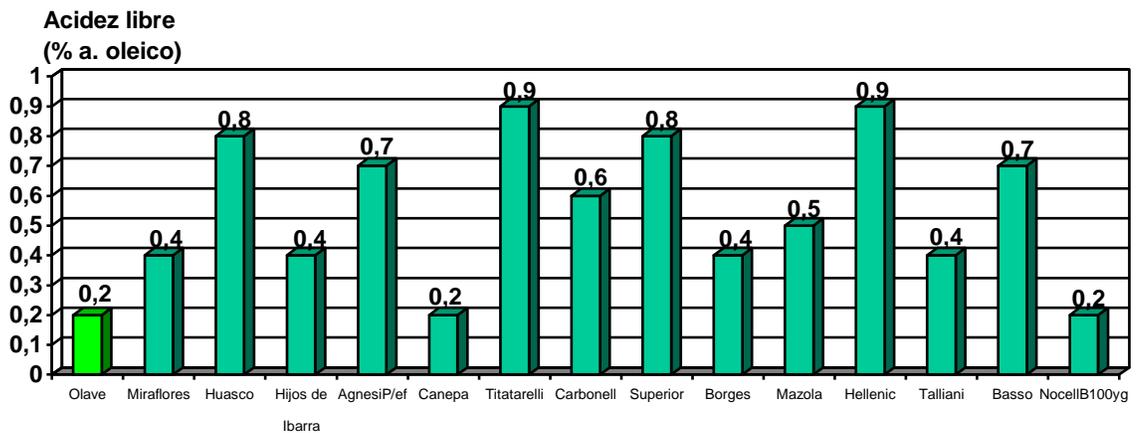
Fuente	Suma de Cuadrados	Df	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Value
PRINCIPALES EFECTOS					
A:Temperatura	0,279544	2	0,139772	0,19	0,8289
B:Tiempo	0,237378	2	0,118689	0,16	0,8524
RESIDUAL	9,54397	13	0,734152		
TOTAL (CORREGIDO)	10,0609	17			

Todos los "F-ratios" están basados en el error cuadrático medio residual.

ANEXO 5

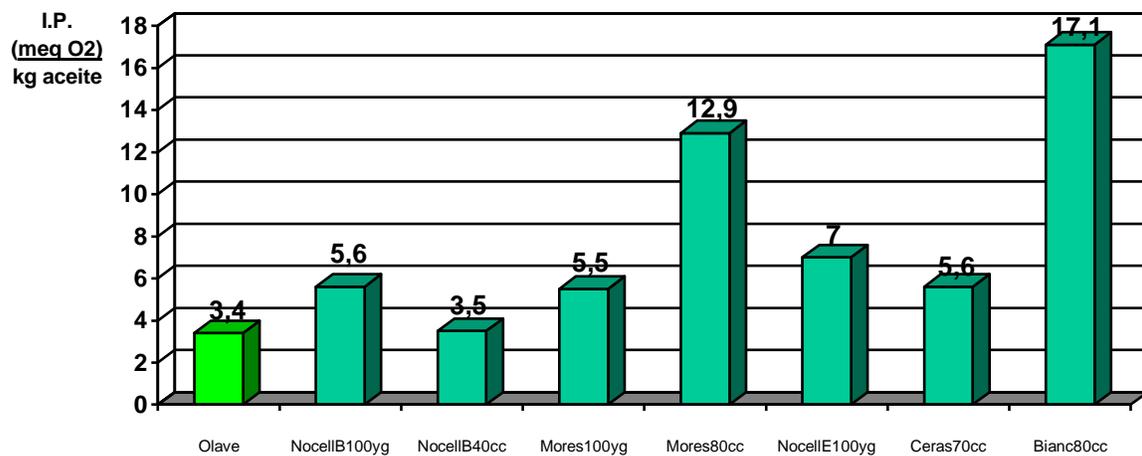
Comparación de la caracterización físico-química del aceite amasado durante 20 minutos a 26°C con datos bibliográficos

Figura 9.- Comparación de la acidez libre de aceites de oliva vírgenes extra comerciales y de aceites de oliva vírgenes extra monovarietales con el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).



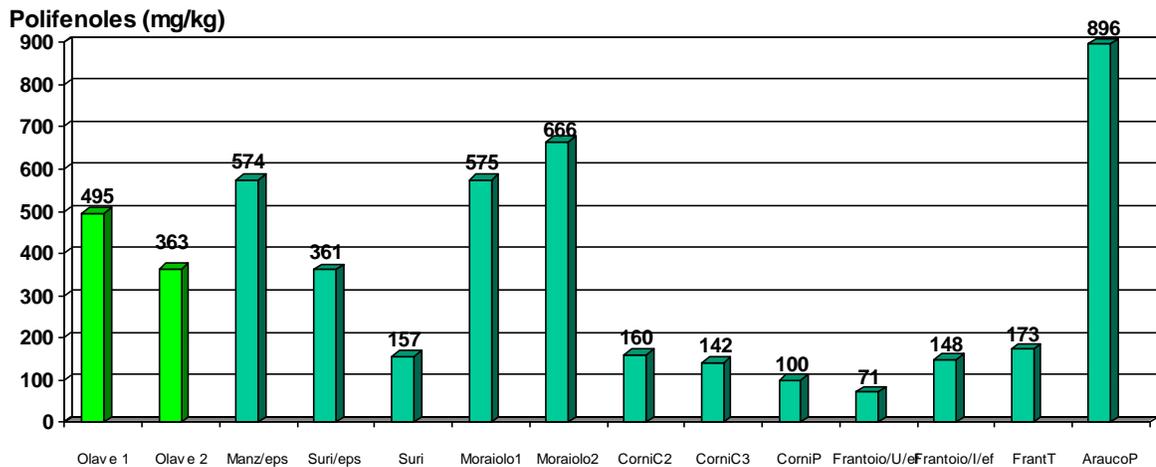
Fuente: Bórquez, 1998; Patumi et al., 2003.

Figura 10.- Comparación del índice de peróxidos de aceites de oliva vírgenes monovarietales con el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado (Olave).



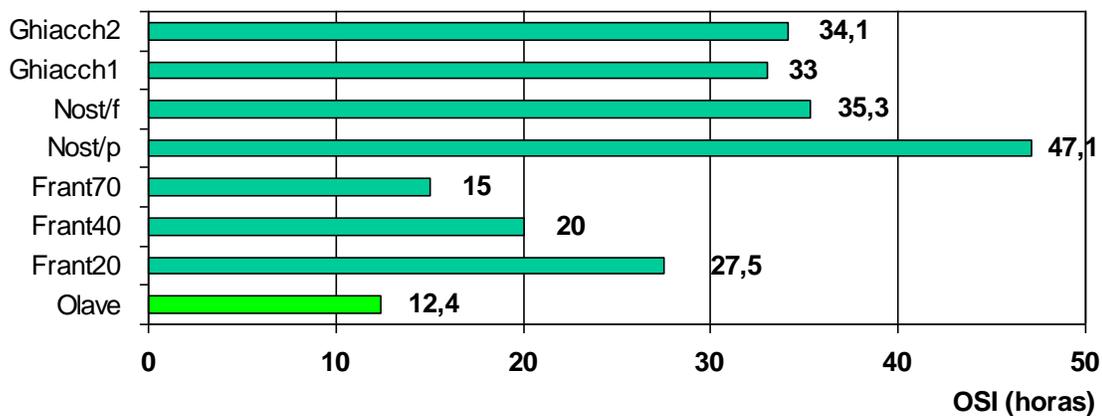
Fuente: Patumi et al., 2003.

Figura 11.- Comparación del contenido de polifenoles en aceites de oliva con los aceites de oliva vírgenes extra obtenidos en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).



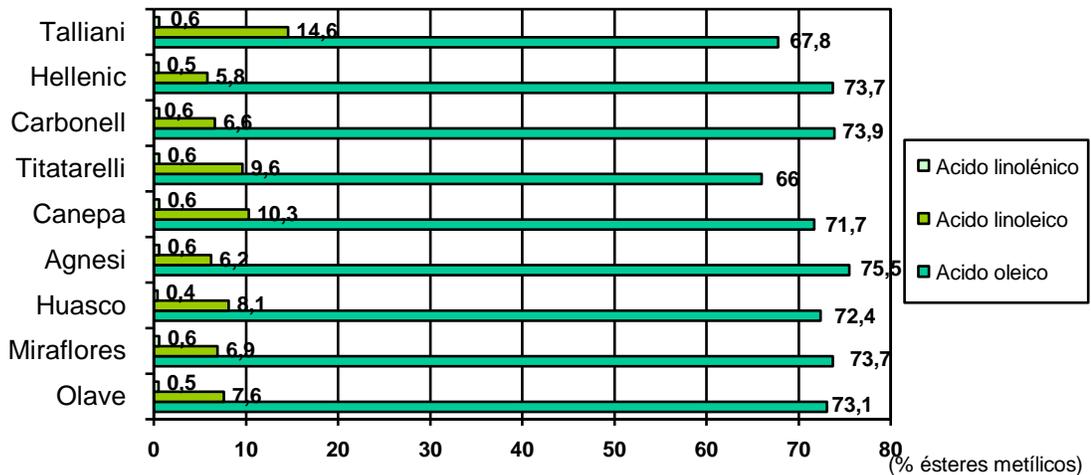
Fuentes: Gutfinger, 1981; Servili et al., 2003; Salvador et al., 2003; Ravetti, 1999; Cimato et al., 1996.

Figura 12.- Comparación del índice de estabilidad OSI de aceites de oliva vírgenes con el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).



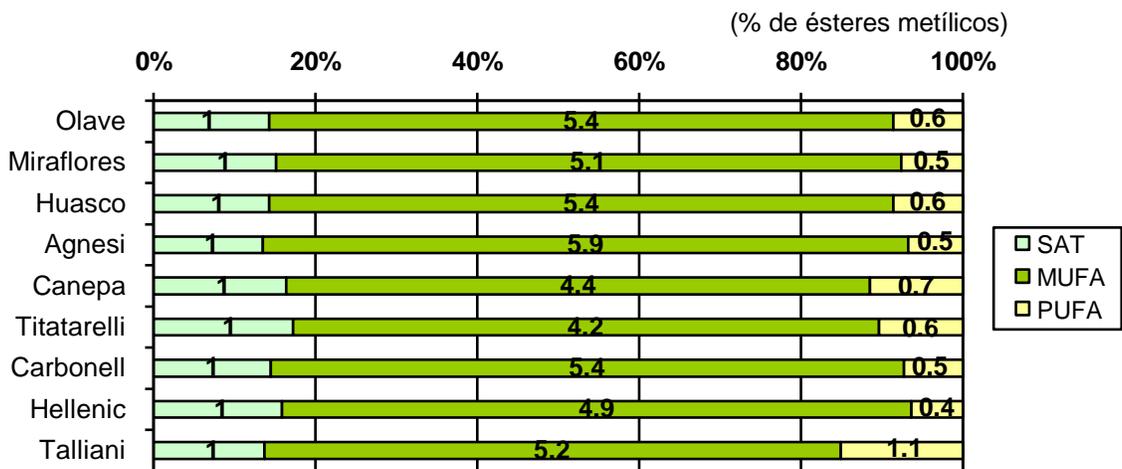
Fuentes: Lercker et al., 1999; Cerretani et al., 2004.

Figura 13.- Comparación del contenido de ácidos grasos oleico, linoleico y linolénico entre aceites de oliva vírgenes extra comerciales y el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).



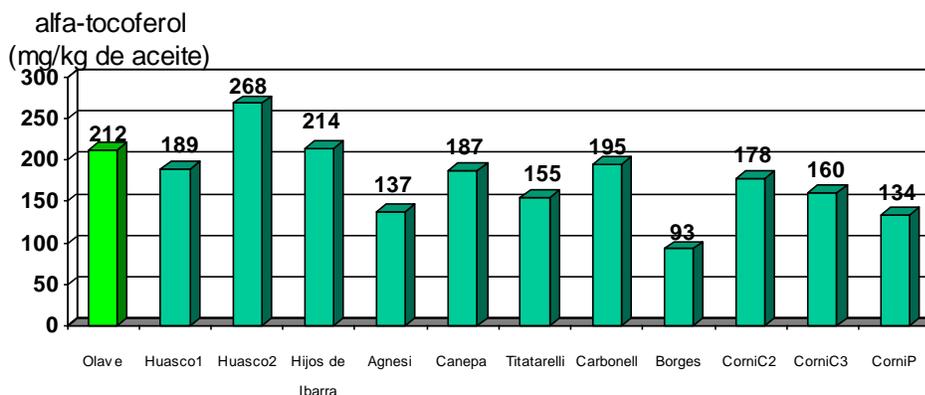
Fuente: Bórquez, 1998.

Figura 14.- Comparación de la relación SAT : MUFA : PUFA entre aceites de oliva vírgenes extra comerciales y el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).



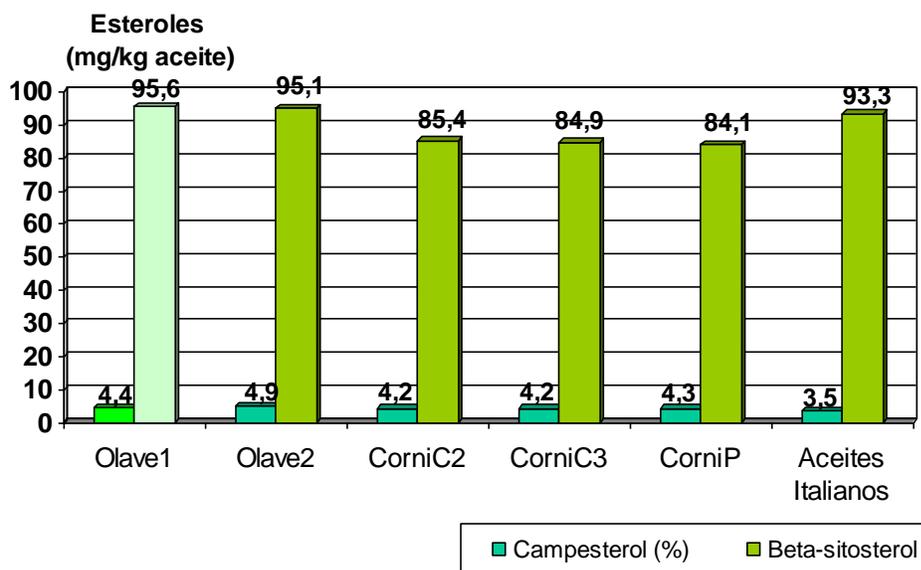
Fuente: Bórquez, 1998.

Figura 15.- Comparación del contenido de alfa-tocoferol en aceites de oliva vírgenes extra y el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).



Fuentes: Bórquez, 1998; Salvador et al., 2003.

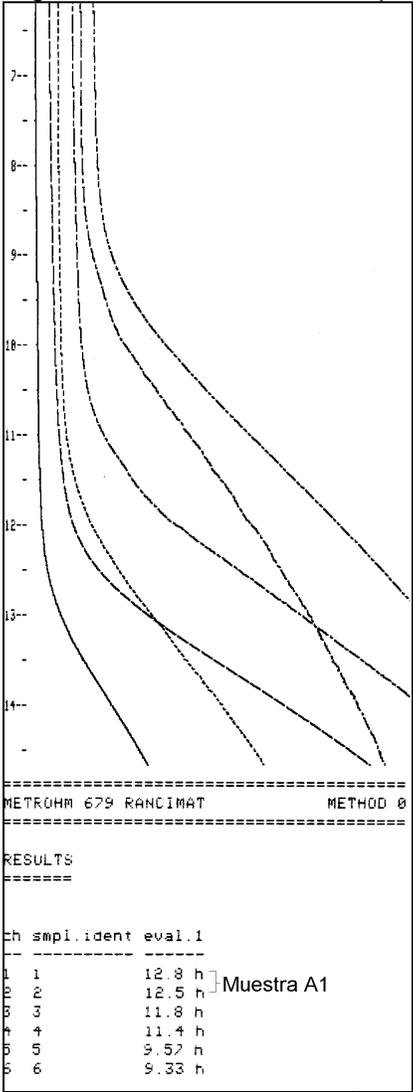
Figura 16.- Comparación del porcentaje de campesterol y beta-sitosterol entre aceites de oliva vírgenes extra y el aceite de oliva virgen extra obtenido en las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de amasado de pasta de aceitunas de la variedad Frantoio (Olave).



Fuentes: Pasqualone y Catalano, 2000; Salvador et al., 2003.

ANEXO 6
Gráfico del tiempo de inducción

Figura 17: Gráfico del tiempo de inducción para la muestra A1.



ANEXO 7

Cromatogramas de la determinación de tocoferoles, ácidos grasos, fitoesteros y triglicéridos.

Figura 18.- Cromatograma de la mezcla de estándares de α -, β -, γ - y ρ - tocoferoles.

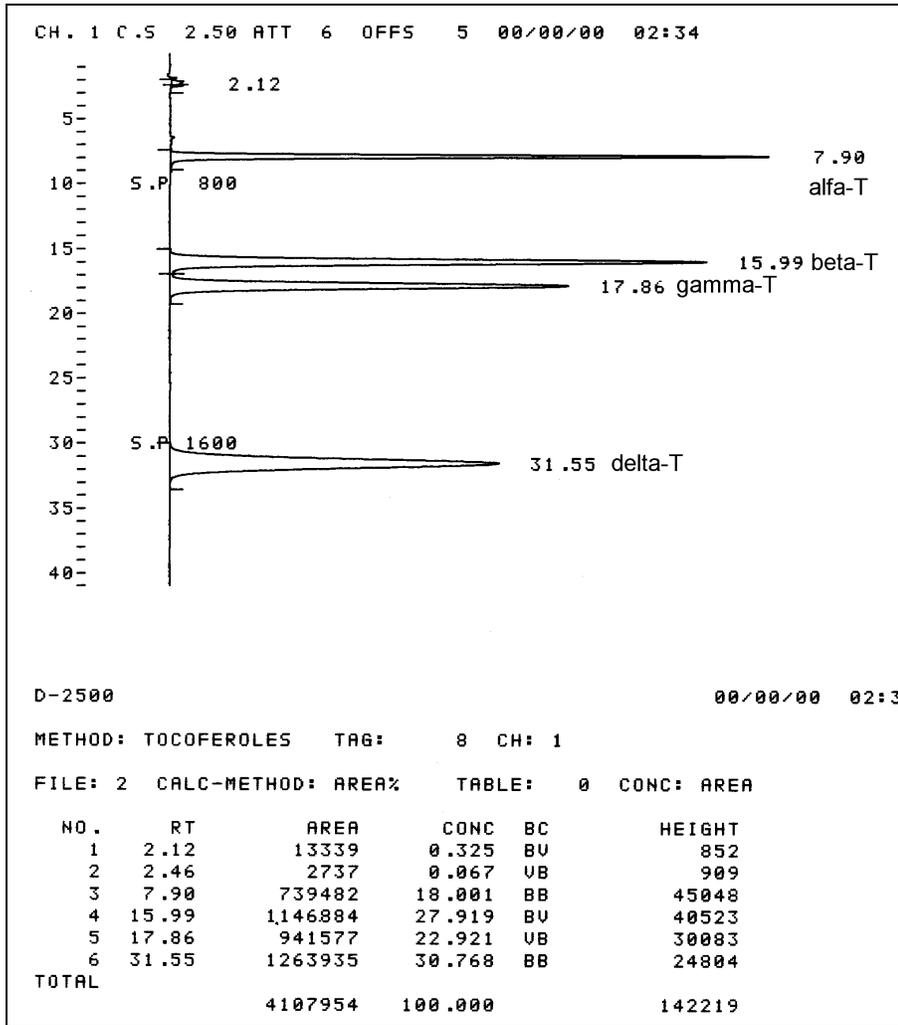


Figura 19.- Cromatograma de tocoferoles y tocotrienoles para la muestra A2.

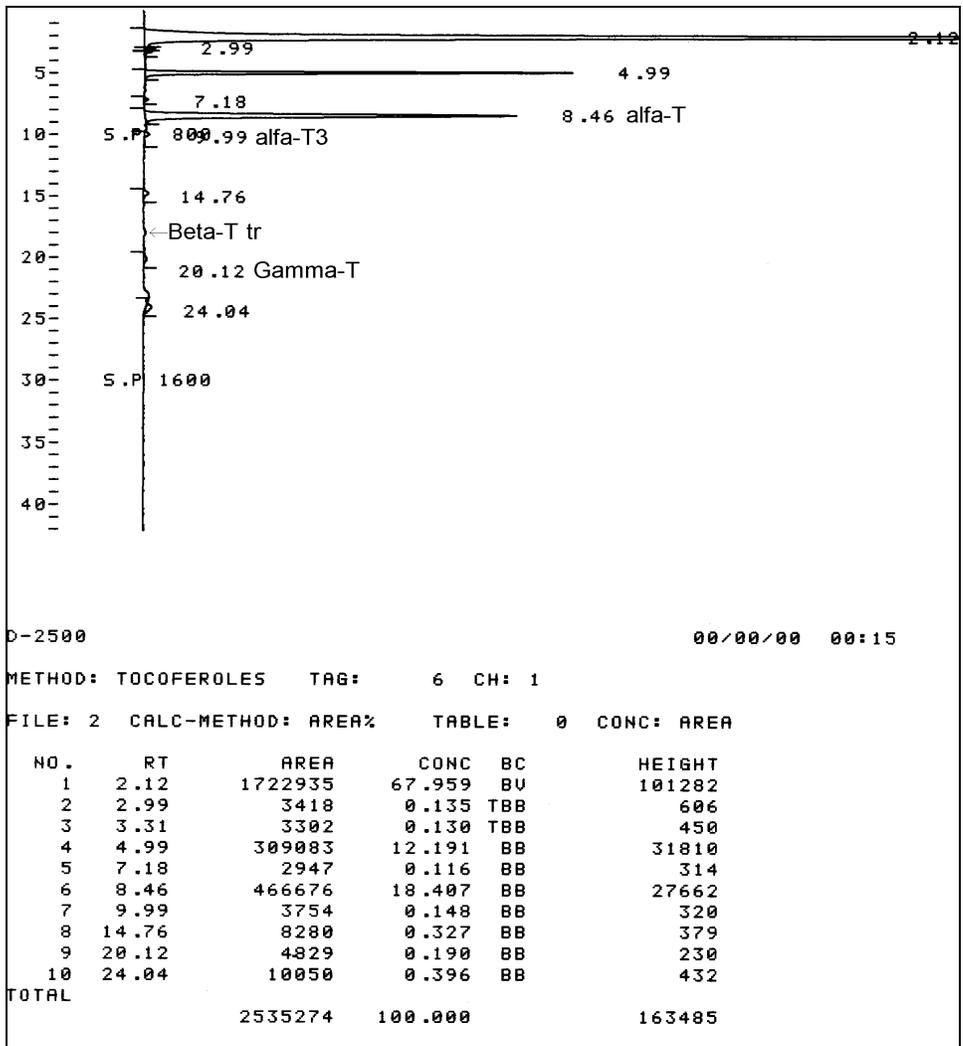


Figura 20.- Cromatograma de la mezcla de estándares de fitosteroles.

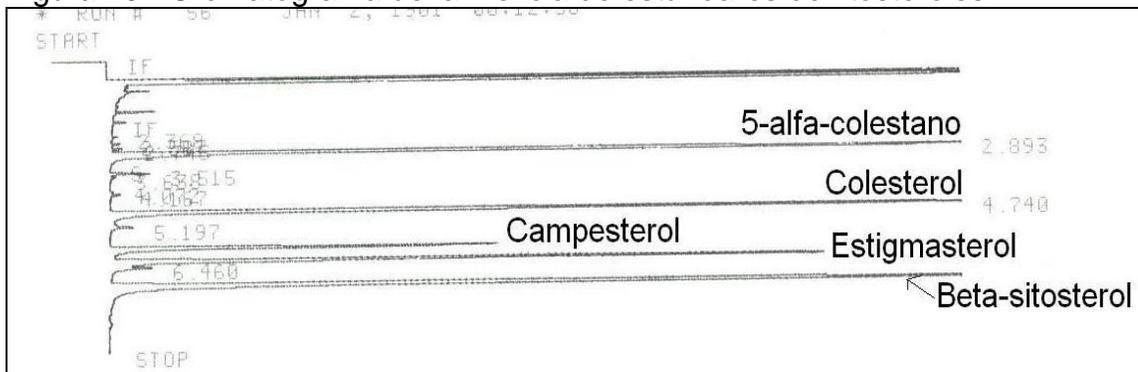


Figura 21.- Cromatograma de fitosteroles para la muestra A2.

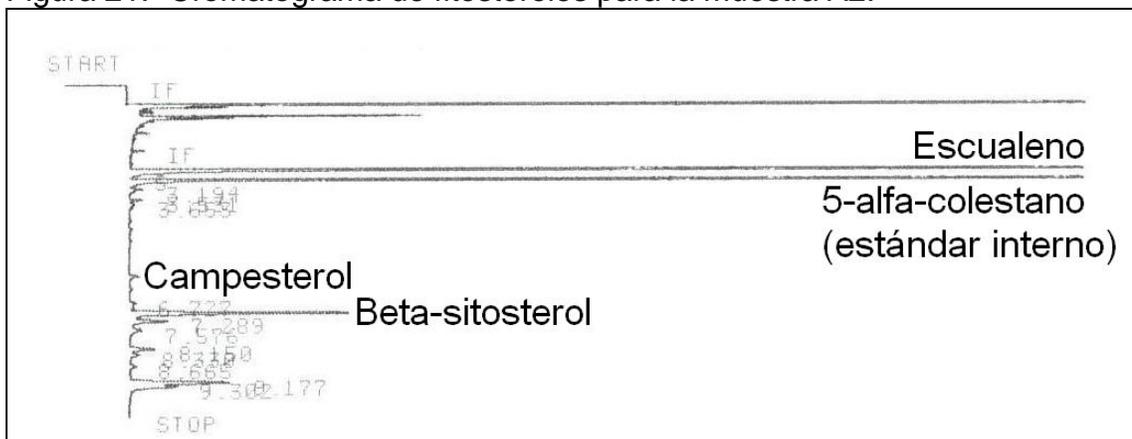


Figura 22.- Cromatograma de estándar de ácidos grasos.

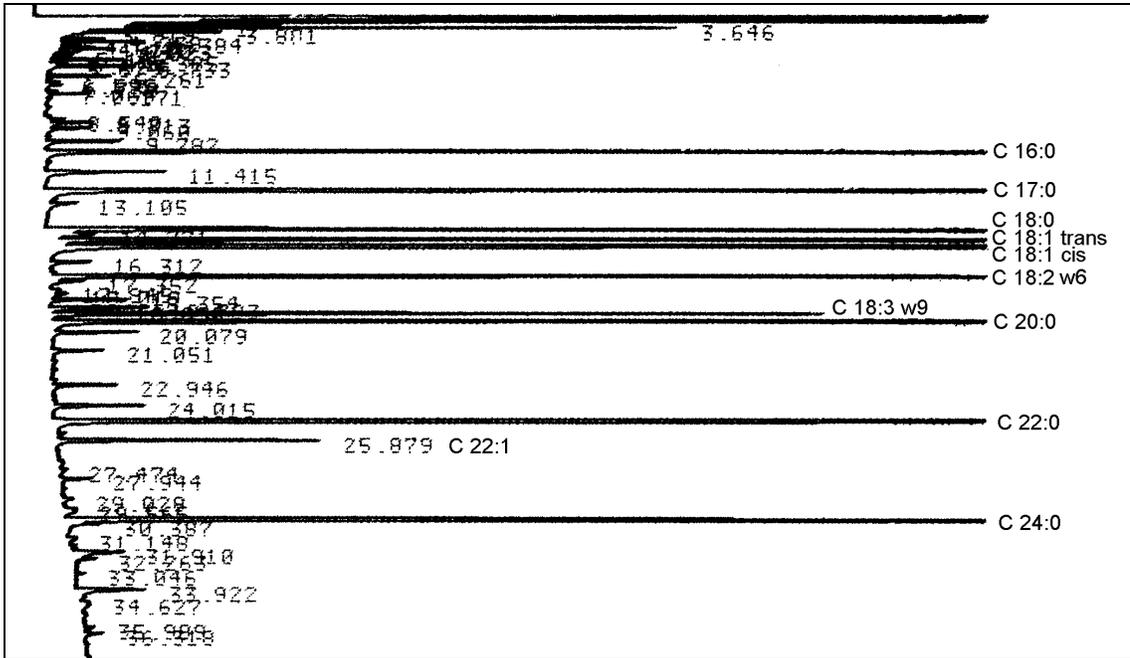


Figura 23.- Cromatograma de ácidos grasos para la muestra A2.

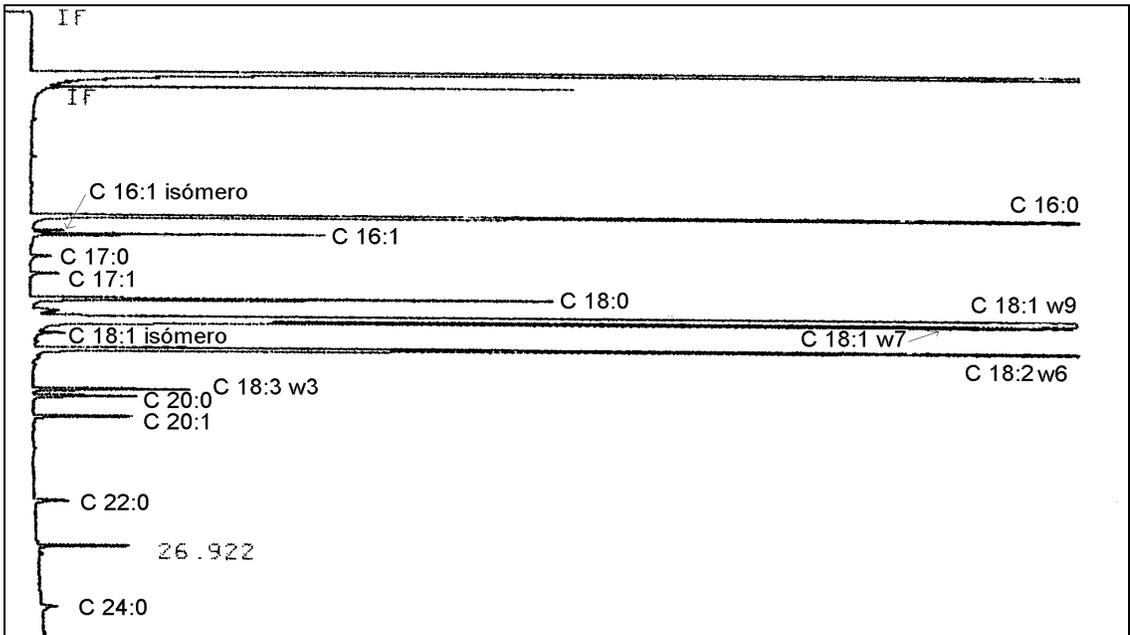


Figura 24.- Cromatograma de estándar de triglicéridos.

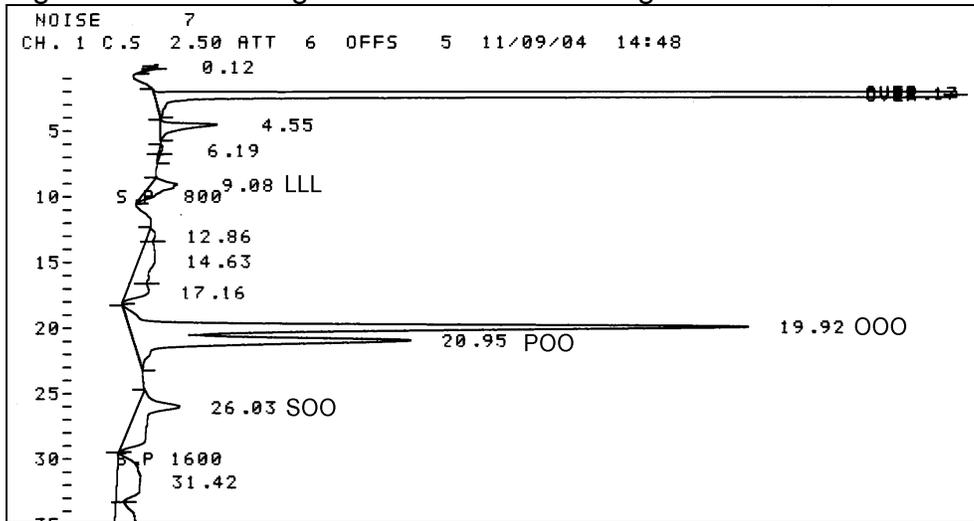
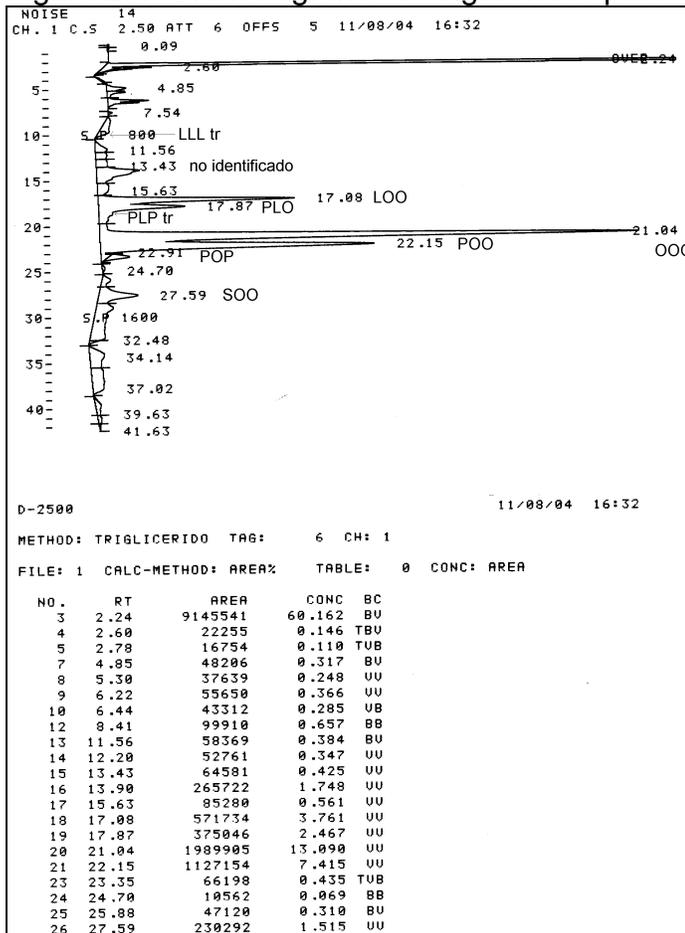


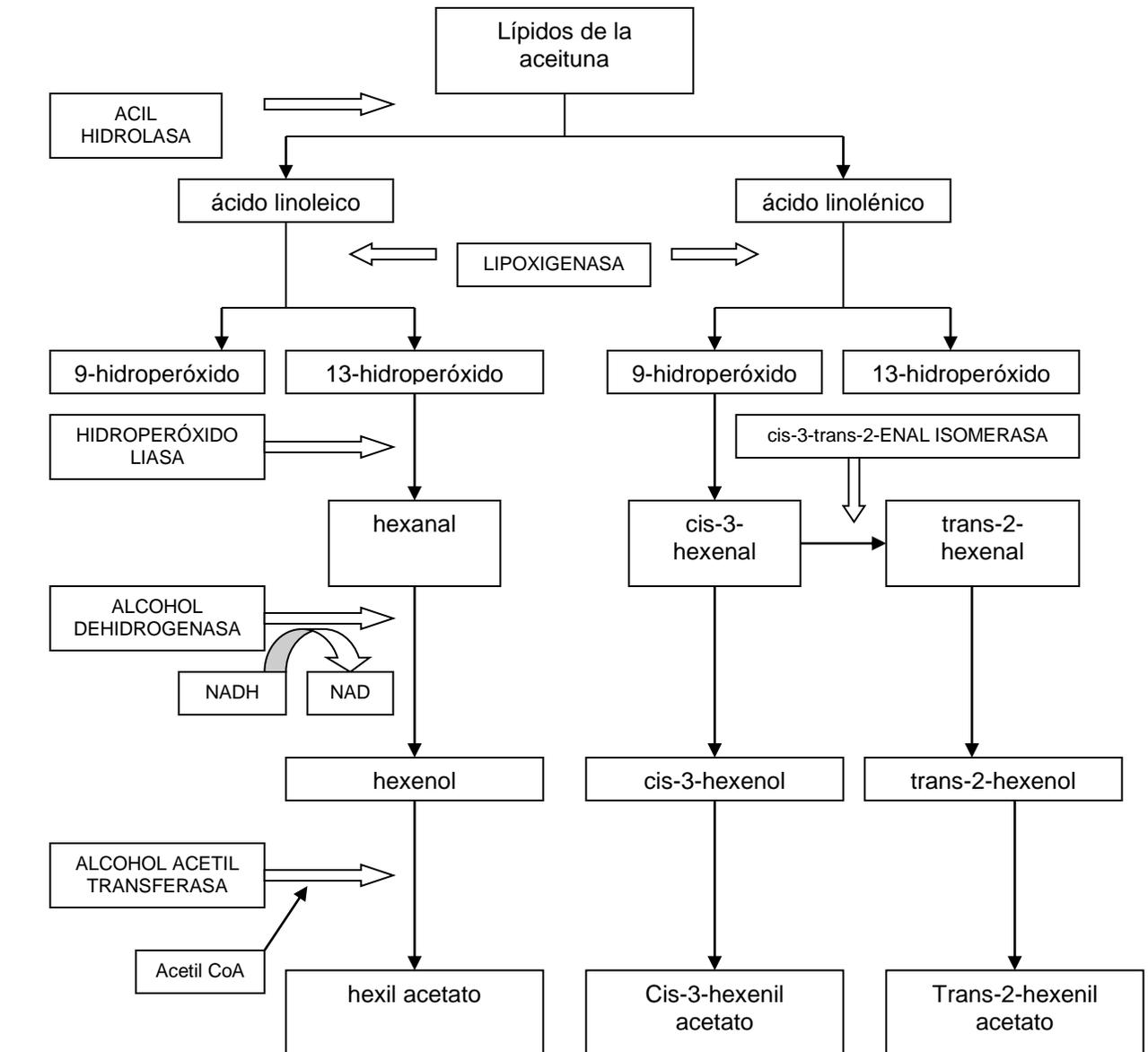
Figura 25.- Cromatograma de triglicéridos para la muestra A2.



ANEXO 8

Vía de formación de compuestos volátiles C₆ en aceites de oliva vírgenes.

Figura 26.- Vía propuesta por Olías et al. (1993) para la formación de compuestos volátiles C₆ en aceites de oliva vírgenes.



Fuente: Lercker et al., 1999. Olías et al., 1993