



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**INFLUENCIA DEL TIPO DE MOLINO Y ESTADO FENOLÓGICO DE
LAS ACEITUNAS EN LA CALIDAD DEL ACEITE DE OLIVA
VARIEDAD ARBOSANA**

MABEL ALEJANDRA ARTEAGA NÚÑEZ

**Santiago, Chile
2010**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**INFLUENCIA DEL TIPO DE MOLINO Y ESTADO FENOLÓGICO DE
LAS ACEITUNAS EN LA CALIDAD DEL ACEITE DE OLIVA
VARIEDAD ARBOSANA**

**INFLUENCE OF MILL TYPE AND PHENOLOGICAL STAGES OF
OLIVES ON THE QUALITY OF THE ARBOSANA VARIETY OLIVE
OIL**

MABEL ALEJANDRA ARTEAGA NÚÑEZ

**Santiago, Chile
2010**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**INFLUENCIA DEL TIPO DE MOLINO Y ESTADO FENOLÓGICO DE
LAS ACEITUNAS EN LA CALIDAD DEL ACEITE DE OLIVA
VARIEDAD ARBOSANA**

Memoria para optar al Título Profesional de
Ingeniero Agrónomo
Mención: Agroindustria

MABEL ALEJANDRA ARTEAGA NÚÑEZ

Profesor Guía	Calificaciones
Sra. María de la Luz Hurtado P. Ingeniero Agrónomo, Mg. Cs.	6,8
Profesores Evaluadores	
Sra. Elena Sepúlveda E. Ingeniero Agrónomo	7,0
Sr. Ricardo Pertuzé C. Ingeniero Agrónomo, Ph. D.	6,8

Santiago - Chile
2010

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
MATERIALES Y MÉTODOS	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
Análisis a los frutos	
Índice de madurez	16
Peso promedio de los frutos	16
Relación pulpa/carozo	16
Tamaño del fruto	17
Contenido de aceite y Contenido de Humedad	17
Polifenoles en pulpa pormenorizados por PLC	19
Análisis de los Aceites	
Acidez libre	20
Índice de Peróxido	21
Coeficiente de extinción ultravioleta	22
Perfil de ácidos grasos	23
Polifenoles totales	25
Índice de Amargor (K225)	26
α - tocoferol	27
Polifenoles en aceite pormenorizados por HPLC	28
Capacidad antioxidante (DPPH)	32
Análisis Sensorial	35
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFÍA	38
ANEXOS	
Anexo I	43
Anexo II	44
APÉNDICES	
Apéndice I	45
Apéndice II	45
Apéndice III	46
Apéndice IV	46

RESUMEN

El aceite de oliva virgen es reconocido como uno de los mejores aceites vegetales. Su calidad está influenciada por muchos factores como el estado de madurez del fruto, la variedad y el sistema de extracción. Esta investigación tuvo como objetivos determinar la influencia del tipo de molino y el estado de madurez de las aceitunas de la variedad Arbosana, sobre las características químicas, sensoriales y sobre la capacidad antioxidante del aceite de oliva.

El estudio se realizó el año 2008 y comenzó con la cosecha de los frutos en dos estados de madurez correspondiente a las Clases 1 y 2 según Índice de Ferreira, el aceite se extrajo en un equipo marca Oliomio, con capacidad de 30 kg/h, el proceso contó con las etapas de eliminación de hojas, lavado de aceitunas, molienda con molinos de martillo y de cuchillos, batido y extracción del aceite mediante un “decanter” de dos fases. Se dejó decantar el aceite en oscuridad y luego se filtró y envasó en botellas de 250 cc. Durante los análisis los aceites se mantuvieron en oscuridad y bajo condiciones ambientales (15 - 20°C).

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se pudo observar que a medida que avanzaba la madurez de las aceitunas, la capacidad antioxidante y el contenido total de polifenoles en el aceite obtenido disminuyeron. Por otra parte el contenido de ácidos grasos insaturados aumentó y disminuyeron los ácidos grasos saturados.

Mediante HPLC se identificaron 13 compuestos fenólicos, destacándose la oleuropeína aglicona. A través de Análisis Sensorial se pudo clasificar a todos los aceites en la categoría virgen extra, presentando un nivel medio para los atributos de amargo y picante, frutado medio y notas frutales como manzana, almendra, tomate y plátano.

Con las combinaciones molino de martillos y aceitunas madurez clase 1 y molino de cuchillos y aceitunas madurez clase 2, se obtuvo mayor contenido de polifenoles totales, α -tocoferol y aumentó el índice de amargor (K_{225}).

De este estudio se puede concluir que el estado de madurez y el tipo de molino utilizado intervienen en la mayoría de los parámetros que influyen en la calidad química de los aceites de oliva.

Palabras clave: Índice de madurez, Capacidad Antioxidante (DPPH), Compuestos fenólicos, Índice de amargor (K_{225}).

ABSTRACT

Virgin olive oil is recognized as one of the best vegetable oils. Their quality is influenced by many factors including the maturity of the fruit, the variety and the extraction system. This study aims to determine the influence of type of mill and the ripeness of the olives of the variety Arbosana on the chemical, sensory and antioxidant capacity of olive oil.

The study was conducted in 2008 and began harvesting the fruit in two stages corresponding to Classes 1 and 2 according to Ferreira Index, the oil was extracted in a team scores Oliomio, with 30 kg/h capacity. The process included the steps of removing leaves, olives washing, grinding, hammer and knives mill; beating and extraction of oil through a "decanter" in two phases. Decant oil was left in darkness and then filtered and packaged in bottles of 250 cc. During the analysis, the oils were kept in the dark and under ambient conditions (15 - 20°C).

According to the results obtained in this study, it was observed that if the olives maturity advances, the antioxidant capacity and total phenol content in the oil obtained decreased. Moreover, the unsaturated fatty acid content increased and the saturated fatty acids decreased.

HPLC identified 13 phenolic compounds, highlighting the oleuropein aglycon. Through sensory analysis could classify all the oil in extra virgin category, presenting an average level for the attributes of bitter and spiciness, average fruitness and apple, almond, tomato and banana fruit notes.

With Hammer Mill combinations, mature olives Class 1, olive mill knives and maturity Class 2, higher content of polyphenols, α -tocopherol and increased the rate of bitterness (K_{225}), were obtained.

In this study we can conclude that the maturity and type of mill used are involved in most of the parameters that influence the chemical quality of olive oils.

Key words: Ripening index, antioxidant activity (DPPH), Phenolic Compounds, bitter index (K_{225}).

INTRODUCCIÓN

El aceite de oliva virgen, por sus beneficios nutricionales en la dieta humana y su calidad culinaria, es reconocido como uno de los mejores aceites vegetales. Sus particulares características organolépticas, lo convierten en un producto único dentro del ámbito de las grasas alimentarias.

La superficie de olivos plantada a nivel nacional ha ido en aumento durante los últimos años, estimándose que el año 2009 la superficie de olivos destinados a la producción de aceite alcanzó las 20.000 ha. La producción nacional creció del orden de un 31% con una producción de 8.500 toneladas de aceite el año 2009, respecto a las 6.500 toneladas producidas el año 2008. Así como aumenta la superficie plantada y la producción nacional, el consumo también se ha incrementado a nivel nacional, alcanzando el 2009 un consumo de aceite de oliva de 436 g por persona (ChileOliva, 2009).

El Consejo Oleícola Internacional (COI 2010) define como aceite de oliva virgen, aquel que se obtiene del fruto del olivo, únicamente por procesos físicos o mecánicos, bajo condiciones térmicas que no le produzcan alteraciones. No debe recibir ningún tratamiento adicional al lavado, decantación, centrifugación y filtrado.

En cuanto a las características de calidad del aceite de oliva, debe existir un equilibrio entre diversos factores que la condicionan, como son el método de cosecha de la aceituna, el estado de madurez del fruto, la variedad, el sistema de extracción, el sistema de conservación y el medio de transporte, entre los más importantes (Di Giovacchino, 2003).

El estado de madurez de las aceitunas debe ser óptimo al momento de su recolección de modo de obtener un equilibrio entre los componentes organolépticos y una buena calidad del aceite resultante (Cimato e Fiorino, 1984; Cimato *et al.*, 1988; Fiorino e Nizzi Grifi, 1991).

No se puede tomar una fecha específica como período óptimo de cosecha, debido a la diferencia de velocidad con que los cultivares maduran y a sus diferencias en relación a los componentes aromáticos y al “flavor” inicial. Para identificar las ligaciones entre diferentes parámetros, ha sido difícil establecer índices agronómicos de cosecha (IC) (Modi *et al.*, 1992), los cuales establecen una relación entre el rendimiento en aceite y los contenidos fenólicos, que influyen en las características organolépticas. Por ejemplo, si las aceitunas no están lo suficientemente maduras, o si su color no es negro, el aceite tendrá un olor herbáceo y un sabor amargo o picante. Si la cosecha ocurre cuando los frutos están sobre maduros, el aceite se caracterizará por un “flavor” a fruto maduro y un sabor dulce (Di Giovacchino, 2003).

Se han realizado variados estudios con respecto a la maduración de las aceitunas, al momento de cosecha y su influencia en la composición de ácidos grasos, contenido de

polifenoles, contenido de tocoferol y sobre los atributos sensoriales. Esta información es de gran utilidad para los productores ya que al cosechar en varios estados de madurez se obtienen diferentes tipos de aceites, desde más pungentes y frutados a más suaves y dulces dentro de la misma variedad (Troncoso *et al.*, 2006).

Otro factor condicionante de la calidad es la variedad, una de ellas y de reciente introducción en Chile es la variedad española Arbosana, la cual puede ser establecida en alta densidad y cosechada en forma mecanizada. Se caracteriza por presentar un fruto pequeño (2,5 g), es poco vigorosa, es autocompatible, baja resistencia al frío, resistente al repilo, con buena adaptación a la conducción en eje, con muy alta precocidad y productividad alta, su rendimiento graso es de 15%, el aceite es estable, de buen color, aroma y sabor armónico, equilibrado, amargo y picante ligero¹. Su cosecha se estima para mediados de mayo en la zona central (FIA, 2004).

El sistema de extracción también influye en la calidad del aceite de oliva. Para extraer el aceite que se encuentra en forma de pequeñas gotas, alojadas en las vacuolas de las células del mesocarpio de la aceituna, el fruto se somete a un proceso de molienda que rompe los tejidos vegetales y libera el aceite. El tipo de molino utilizado, así como la fuerza con que se lleve a cabo la molienda, afectan el tamaño de los fragmentos de carozos, el rendimiento industrial del aceite, y las propiedades organolépticas del aceite de oliva virgen (Di Giovacchino, 2003).

Los molinos más usados son los metálicos, los que incluyen: el de discos, martillos, cilíndricos o de rodillo y cuchillos (FIA, 2003). Entre sus ventajas, se puede mencionar que no son demasiado grandes ni costosos, trabajan en forma continua y tienen una alta capacidad por hora. Sin embargo, las piezas metálicas que rotan con gran velocidad, se desgastan y deterioran (Di Giovacchino, 2003).

Los molinos metálicos más comunes en la industria, son el molino de martillos y el molino de cuchillos.

- Molino de Martillos: Es el más usado, suelen ser de fierro muy resistentes. La molienda se produce por la acción de los martillos, que pueden estar fijos u oscilantes, montados en un eje de rotación que giran a un elevado número de vueltas a una velocidad de 2.800 rpm, golpeando la aceituna (FIA, 2003). La reducción de tamaño, se debe a la ruptura de las aceitunas debido al impacto de los martillos, al corte por los bordes de los martillos, o la acción de frotamiento o rozadura. Es un equipo sencillo, con un bajo desgaste de las placas y poca extracción de aromas y mayor oxidación debido al calentamiento de la pasta³.

- Molino de Cuchillos: Corresponde a una criba fija con 4 cuchillos de acero muy duros y afilados en su interior. Necesita poca energía y gira a una velocidad de 1.400 rpm. La

¹ Marco Rojas. Ingeniero Agrónomo, Gerente Agrícola Olave, Junio 2008. (Comunicación personal)

³ Mario Beltrami. Consultor de proyectos, desarrollo e instalación de equipos y optimización de proceso productivo de aceite de oliva. Septiembre 2008. (Comunicación personal). dott.mario.beltrami@libero.it.

reducción de tamaño es provocada por el corte que realizan los cuchillos sobre la piel y la pulpa. Si se desea extraer más aroma y sabor se recomienda utilizar este tipo de molino³.

El grado de molienda dependerá del tipo de aceituna. Con aceitunas más verdes o inmaduras, el grado de molienda debe ser más fino (para asegurar la rotura de las celdillas que contienen el aceite). Con aceitunas más maduras, la molienda puede ser más gruesa. Cuando el grado de molienda es excesivamente grueso para la aceituna, los orujos tendrán un alto contenido graso, sea cual sea el sistema de molienda elegido. Por el contrario, si el grado de molienda es excesivamente fino para el tipo de aceituna, se pueden formar sistemas coloidales y emulsiones, lo que produce problemas que varían de acuerdo al sistema de elaboración, por ejemplo, si el sistema de centrifugación es de dos fases, las partículas finas cargadas de grasa irán en el orujo, por lo que éste tendrá un contenido graso superior al aconsejable (FIA, 2003).

La estabilidad oxidativa, es una propiedad de gran importancia dentro de la calidad del aceite de oliva. Se ve afectada por diferentes compuestos antioxidantes, cuyos niveles pueden estar influenciados por la variedad, año y lugar de producción del aceite (Tura *et al.* 2006). El aceite de oliva se considera resistente a la oxidación debido a su bajo contenido en ácidos grasos poliinsaturados y por la presencia de antioxidantes naturales tales como el α -tocoferol y los compuestos fenólicos (Morales y Przybylski, 2000).

Los resultados de esta investigación, serán un aporte que ayudarán a definir el tipo de molino que sea más apropiado utilizar, según el estado de madurez de las aceitunas.

Objetivo general

- Determinar la influencia del tipo de molino utilizado y el estado de madurez de las aceitunas, sobre las características químicas y sensoriales del aceite de oliva monovarietal de la variedad Arbosana.
- Determinar el efecto del molino y del estado de madurez del fruto, sobre la capacidad antioxidante del aceite de oliva.

³ Mario Beltrami. Consultor de proyectos, desarrollo e instalación de equipos y optimización de proceso productivo de aceite de oliva. Septiembre 2008. (Comunicación personal). dott.mario.beltrami@libero.it.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El estudio se realizó en el laboratorio de Aceite de Oliva ubicado en la Planta Piloto del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

El estudio se realizó con aceitunas de la variedad Arbosana cosechadas durante la temporada 2008, provenientes de un huerto perteneciente a Sociedad Agrícola Oasis Ltda. (Agroindustrias Fray Jorge Ltda.) Cerrillos de Tamaya, Ovalle, Provincia de Limarí, IV Región. Este huerto fue plantado el año 2005, marco de plantación de 4,5 x 1,5 m, monocultivo y en proceso de transición a manejo orgánico.

Para la extracción del aceite de oliva monovarietal se utilizó un equipo marca Oliomio, modelo “mini” de capacidad de 30 kg/h, perteneciente al Laboratorio de Aceite de Oliva del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Método

El ensayo comenzó el 1 de julio del año 2008. La cosecha de los frutos, se efectuó con maquinaria de tipo cabalgante y se repasó manualmente con colibrí, la fecha de cosecha se fijó según el estado de madurez de las aceitunas. La primera cosecha se realizó el día 1 de julio con aceitunas en estado de madurez correspondiente a Clase 1: Piel verde o amarillenta (según Índice de Ferreira, Anexo I) y el 31 de julio se realizó la segunda cosecha con aceitunas correspondientes al estado de madurez Clase 2: Aceitunas en inicio de envero (según Índice de Ferreira, Anexo I) (Cuadro 1). Las aceitunas fueron transportadas desde el huerto a la planta de extracción en cajas cosecheras de 15 kg de capacidad. Cabe mencionar que las aceitunas cosechadas el 1 de julio permanecieron 24 horas más que las cosechadas el día 31 en el patio de recepción antes de ser trasladadas a la planta piloto debido a problemas con el transporte.

Cuadro 1. Factores y niveles que dan origen a cada tratamiento

Estado de madurez	Tipo de Molino	
	Martillo	Cuchillo
Clase 1: Piel verde o amarillenta	T1	T3
Clase 2: Inicio de envero	T2	T4

Una vez en la planta piloto y previa a la extracción del aceite, se tomó una muestra compuesta de 200 aceitunas (correspondientes a los 2 estados de madurez) para realizar los análisis correspondientes a la caracterización de los frutos. Luego se definieron los tratamientos que estuvieron compuestos por las factores “Tipo de molino” (Martillo o Cuchillo) y el “Estado de madurez” de las aceitunas (Clase 1 y Clase 2).

Después de separados los tratamientos se realizaron las extracciones, que estuvieron compuestas por lotes de 20 kg de fruta cada una. Los tratamientos y fechas de extracción se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Fechas en que ocurrió la cosecha y la extracción para cada tratamiento

Tratamientos	Fecha de cosecha	Fecha de extracción
Cosecha 1: T1: Aceitunas piel verde o amarillenta/ Molino de martillos	1 julio 2008	3 julio 2008
Cosecha 2: T2: Aceitunas inicio de envero/ Molino de martillos	31 julio 2008	2 agosto 2008
Cosecha 1: T3: Aceitunas piel verde o amarillenta/ Molino de Cuchillos	1 julio 2008	5 julio 2008
Cosecha 2: T4: Aceitunas inicio de envero/ Molino de Cuchillos	31 julio 2008	1 agosto 2008

El proceso de extracción contó con las siguientes etapas (Figura 1): eliminación manual de hojas, lavado de aceitunas, molienda con molinos de martillo (para los tratamientos T1 y T2) y de cuchillos (para los tratamientos T3 y T4), batido a 28°C por 30 minutos. La extracción de aceite se realizó en un “decanter” de dos fases. Una vez obtenido el aceite se recibió en envases opacos de 5 litros de capacidad donde se dejó decantar alejado de la luz, a los 5 días se realizó una filtración con papel filtro y algodón, el envasado final fue en botellas de vidrio opaco de 250 cc. Durante los análisis los aceites se mantuvieron en oscuridad y bajo condiciones de temperatura ambiental (15 - 20°C).

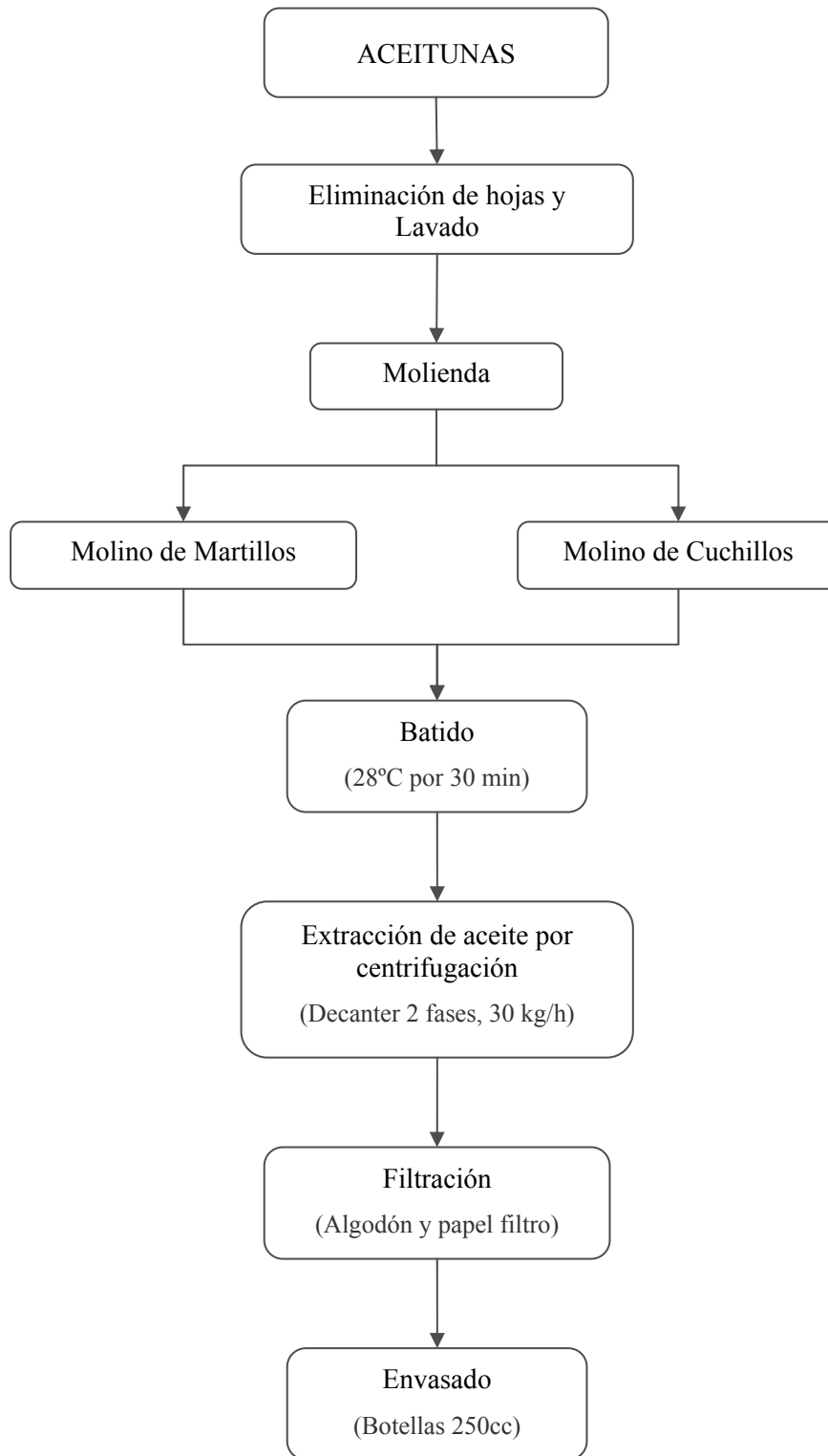


Figura 1. Diagrama de Flujo del Proceso de Extracción de Aceite de Oliva

Variables analizadas

I. Variables determinadas en los frutos

Índice de madurez: se utilizó el Índice de Ferreira. De una muestra de 100 frutos se separaron las aceitunas según su color de piel y pulpa en diferentes categorías, para luego determinar el índice de madurez (Hermoso *et al.*, 2001) (Anexo I).

Peso promedio de los frutos: se pesaron 100 frutos en una balanza analítica de 0,1 g de sensibilidad y los valores obtenidos se promediaron y el resultado se expresó en gramos.

Relación pulpa/carozo: se separó la pulpa del carozo en forma manual de 100 g de aceitunas, luego se pesaron los carozos sin restos de pulpa en una balanza digital de 0,1 g de sensibilidad. La relación pulpa/carozo correspondió a gramos de pulpa/gramos de carozo.

Tamaño del fruto: se midió el diámetro ecuatorial y la longitud de los frutos, con un pie de metro en una muestra de 25 frutos. Luego los valores obtenidos se promediaron y su resultado se expresó en centímetros.

Contenido de humedad de la pulpa: se determinó por desecación en estufa a presión atmosférica a 70°C, hasta llegar a peso constante. El resultado se expresó en porcentaje de humedad (Sepúlveda, 1998).

Contenido de aceite: se determinó mediante el método de extracción de Soxhlet. Se utilizó la pulpa deshuesada seca y éter de petróleo como solvente. El resultado se expresó en porcentaje de aceite en base materia seca (Frías *et al.*, 2001).

Polifenoles en pulpa pormenorizados por HPLC: se determinó por cromatografía líquida, los resultados se expresaron en mg/kg (Peña- Neira *et al.*, 2000).

II. Variables medidas en el aceite

Acidez libre (Grado de acidez): se determinó por titulación colorimétrica. El resultado se expresó como ácido oleico (%) (Sepúlveda, 1998).

Índice de peróxidos: se determinó por Iodometría expresándose el resultado en meq de O₂/kg de grasa (Sepúlveda, 1998).

Coefficiente de extinción ultravioleta (K₂₇₀, K₂₃₂ y ΔK): se midió en un espectrofotómetro marca Rayleigh UV-1600 UV/VIS, a longitud de onda de 232, 266, 270 y 274 nm. (Frías *et al.*, 2001).

Perfil de ácidos grasos: el contenido de los ácidos grasos principales presentes en el aceite se determinó por cromatografía de gases utilizando un cromatógrafo HP-5890 Serie II. El resultado se expresó en porcentaje de cada ácido graso (Frías *et al.*, 2001).

Polifenoles totales: se determinó por medio de un método colorimétrico utilizando el reactivo de Folin - Ciocalteu mediante espectrofotometría a 725 nm. El resultado se expresó en ppm de ácido cafeico (Tsimidou, 1998).

Índice de Amargor (K_{225}): se midió en un espectrofotómetro marca RayLeigh UV-1600 UV/VIS, a longitud de onda de 225 nm se utilizaron columnas para cromatografía con relleno de Octadecyl C₁₈ (Gutiérrez y Perdiguero, 1992).

α -Tocoferol por HPLC: el contenido de α -tocoferoles del aceite se determinó mediante cromatografía líquida HPLC (IUPAC 2432), la absorción se midió a 296 nm. Los resultados se expresaron en mg/kg (Gutiérrez *et al.*, 1992).

Polifenoles pormenorizados por HPLC: se determinó por cromatografía líquida, los resultados se expresaron en mg/kg (Peña- Neira *et al.*, 2000).

Capacidad antioxidante (DPPH): se determinó in Vitro por el método DPPH, se midió en un espectrofotómetro marca RayLeigh UV-1600 UV/VIS, a longitud de onda de 520 nm por un tiempo total de 600 segundos (Huang *et al.*, 2005).

Análisis sensorial: se realizó con un panel entrenado en aceite de oliva, utilizando una pauta estructurada. Se midieron atributos positivos como frutado, amargo, picante y atributos negativos como avinado, atrojado, rancio y moho (Anexo II).

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño de experimento fue completamente al azar y con una estructura factorial 2x2, con dos factores independientes y dos niveles para cada factor. Los factores son el tipo de molino usado durante la extracción y el estado de madurez de las aceitunas según un rango basado en el Índice de Ferreira (Hermoso *et al.*, 2001) (Anexo I).

La unidad experimental correspondió al aceite de oliva monovarietal de la variedad Arbosana obtenido de la extracción de los 20 kg de aceitunas.

Se realizaron análisis estadísticos para los frutos y para el aceite de oliva. Para determinar diferencias entre los estados de madurez de los frutos se empleó la prueba t de Student, con un nivel de significancia de 5%.

Los resultados obtenidos de los análisis a los aceites de oliva, se examinaron mediante análisis de varianza (ANDEVA) y en el caso de existir diferencias significativas en la interacción de los factores, se realizaron pruebas de comparación múltiple para el factor Molino (o factor Estado de madurez) dentro de cada nivel del factor Estado de madurez (o factor Molino).

Para el análisis sensorial cada panelista se consideró como un bloque y para determinar diferencias significativas, se empleó la prueba t de Student, con un nivel de significancia de 5%.

Todos los análisis fueron realizados en el programa estadístico Statistica 7,0 (StatSoft, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de los frutos

Índice de madurez

El índice de madurez presentó un aumento significativo entre ambas fechas de cosecha. Las aceitunas que fueron utilizadas para los tratamientos T1 y T3 correspondieron a la Clase 1: Piel verde o amarillenta con un valor de 1,2 de Índice de Ferreira (Anexo I). En cambio las aceitunas utilizadas para los tratamientos T2 y T4 obtuvieron un índice igual a 2,3, correspondiendo a la Clase 2: Inicio de envero (Cuadro 3). Estos índices de cosecha resultantes fueron los programados para ambos tratamientos.

Peso promedio del fruto

El peso promedio de los frutos presentó diferencias estadísticamente significativas entre ambos estados de madurez, siendo los frutos correspondientes a la Clase 2 los que presentaron mayor peso (2 g) (Cuadro 3).

El peso del fruto tiende a aumentar a medida que avanza la madurez, sin embargo, en los frutos más maduros el peso comienza a disminuir porque el fruto pierde agua y acumula aceite, cuya densidad es menor que la del agua y ocupa el mismo volumen (Cires, 2007).

Estudios realizados en el lugar de origen de la variedad Arbosana muestran un peso promedio al momento de cosecha al 4º año de producción de 1,5 g (Tous *et al.*, 2007), peso similar al alcanzado por las aceitunas utilizadas en este estudio.

En general, la variedad Arbosana presenta un fruto pequeño y de bajo peso (1,61 - 2,0 g) pero no es tan bajo si es comparado con otras variedades. Por ejemplo, para igual estado de madurez (Clase 2) en un estudio realizado por Cires (2007), las variedades Frantoio y Leccino presentaron pesos promedio de 2,92 g y 2,91 g respectivamente. Estay (2009) obtuvo un peso promedio de frutos de la variedad Blanqueta de 2,28 g.

Relación pulpa/carozo

Los valores para la relación pulpa/carozo, como se observan en el Cuadro 3, no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, aunque se observa una tendencia a incrementar en las aceitunas con madurez Clase 2.

Estudios realizados en Cataluña por Tous *et al.*, (2007) señalan que la relación pulpa/carozo para la variedad Arbosana es de 4,5 relación similar a la obtenida en ambas cosechas.

Tamaño del fruto

Las mediciones del diámetro ecuatorial y de la longitud de los frutos, presentaron diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 3). Ambos valores son mayores en las aceitunas con madurez Clase 2 y además se puede observar que ambas mediciones aumentan hacia la madurez.

En el Cuadro 4 se comparan los valores de tamaño de fruto obtenidos en este ensayo para las aceitunas de la variedad Arbosana y otras variedades de olivos en igual estado de madurez (Clase 2), con el fin de demostrar que el tamaño de la variedad Arbosana no difiere demasiado con el tamaño de otras variedades utilizadas para la elaboración de aceite.

Cuadro 3. Variables medidas a los frutos al momento de la cosecha

Estado de madurez	Índice de madurez	Peso promedio (g)	Relación pulpa/carozo	D. ecuatorial (cm)	Longitud (cm)
Clase 1: Piel verde o amarillenta	1,2 b	1,6 b	4,4 a	1,3 b	1,5 b
Clase 2: Inicio de enero	2,3 a	2,0 a	4,7 a	1,4 a	1,7 a

Valores seguidos verticalmente con distinta letra difieren estadísticamente según análisis de varianza ($p \leq 0,05$).

Cuadro 4. Comparación del tamaño de fruto de diferentes variedades en estado de madurez correspondiente a Clase 2: Inicio de enero (Índice de Ferreira)

Tamaño de frutos (cm)	Arbosana	Frantoio ¹	Leccino ¹	Blanqueta ²
D. ecuatorial	1,37	1,53	1,55	1,40
Longitud	1,70	2,16	2,10	1,75

Fuente: ¹Cires (2007) y ²Estay (2009).

Contenido de Aceite y Contenido de Humedad

Los componentes mayoritarios de la aceituna son el agua y el aceite. Se ha determinado que en la pulpa el porcentaje de agua alcanza un valor medio de 50 – 60%, mientras que el aceite representa entre el 20 – 30%, existiendo una relación inversa entre sí (Barranco *et al.*, 2004).

El contenido de aceite se expresa en base a materia seca (b.m.s.), se elimina la interferencia causada por el contenido de agua y de este modo es posible señalar de forma más exacta la finalización de la fase de formación de aceite ya que este parámetro permanece constante una vez que se detiene la síntesis de lípidos (Barranco *et al.*, 2004).

La acumulación de aceite comienza inmediatamente después del endurecimiento del carozo y se considera como término de este período para algunas variedades el momento en que la mayoría de los frutos se encuentra en envero (Clase 2 y 3) (Barranco *et al.*, 2004).

El contenido de aceite medido en b.m.s. (Figura 2), mostró un aumento estadísticamente significativo entre ambos estados de madurez, presentando un mayor contenido de aceite cuando las aceitunas presentaron un estado de madurez Clase 2, además, se aprecia en la misma Figura, el contenido de humedad, el cual, presentó diferencias estadísticamente significativas entre ambos estados de madurez, disminuyendo en el estado de madurez correspondiente a la Clase 2. Como señala Barranco *et al.*, (2004) el contenido de agua disminuye durante el proceso de maduración, porque aumenta el contenido de aceite y como consecuencia de las variaciones climáticas. A nivel nacional esta reducción se debe principalmente a la eliminación o disminución de los riegos antes de la cosecha.

Así como el contenido de aceite tiende al alza a medida que avanza la madurez el contenido de agua presenta un comportamiento inverso (Barranco *et al.*, 2004).

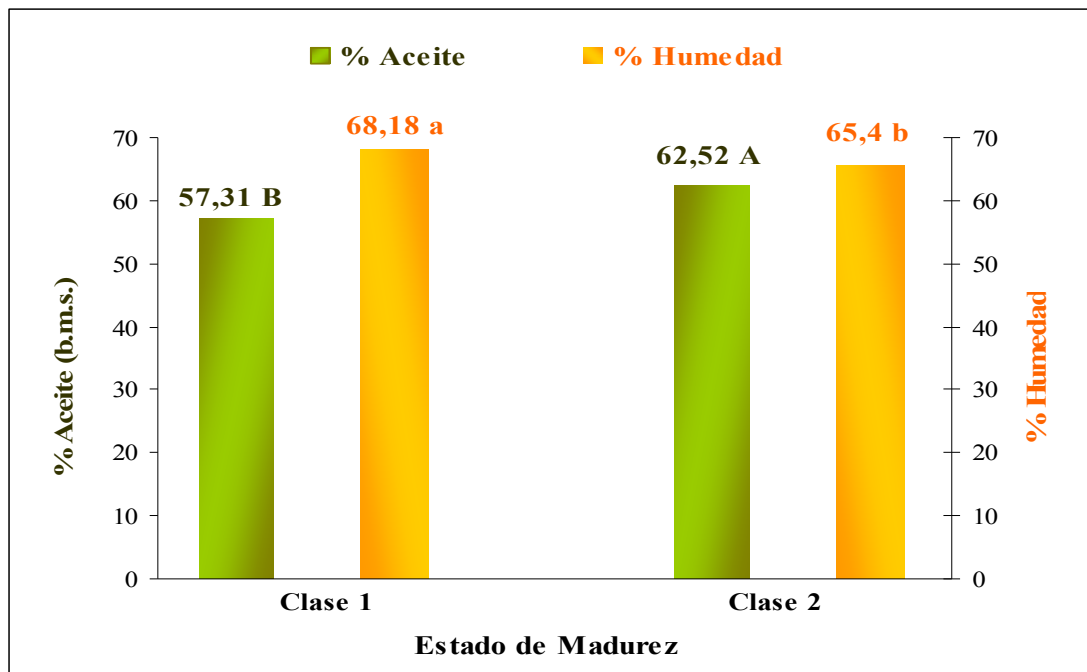


Figura 2. Contenido de aceite (% b.m.s.) y de humedad del fruto para ambos estados de madurez

Valores seguidos con letra distinta difieren estadísticamente, según el análisis de varianza ($p \leq 0,05$). Letras mayúsculas muestran diferencias en el % Aceite (b.m.s.) y letras minúsculas diferencias en % de Humedad.

Polifenoles en pulpa pormenorizados por HPLC

Mediante diferentes técnicas se ha concluido que en el fruto se presentan los siguientes grupos de compuestos fenólicos: ácido fenólico, flavonoides y secoiridoides (Macheix *et al.*, 1990, citado por Barranco *et al.*, 2004).

En el Cuadro 5 se presentan los valores de polifenoles determinados mediante cromatografía líquida (HPLC) de la pulpa de aceitunas provenientes de muestras obtenidas al momento de la cosecha, los valores se encuentran expresados en mg/kg. Se lograron identificar 10 compuestos fenólicos. El compuesto identificado como procianidina se cuantificó con la curva de catequina, los flavonoles 1, 2, 3 y 4 fueron cuantificados mediante la curva de quercetina, el compuesto Derivado de Oleuropeina se cuantificó como oleuropeina. En el Apéndice I se muestra un cromatograma de pulpa de aceituna de la variedad Arbosana.

Se presentaron diferencias estadísticamente significativas, en los compuestos fenólicos hidroxitirosol, tirosol, ácido vainillínico, ácido p-cumárico, procianidina y en los flavonoles 3 y 4, al igual que los resultados obtenidos por Bouaziz *et al.*, (2004), todos aumentaron su contenido en las aceitunas con madurez Clase 2.

El compuesto identificado en mayor proporción correspondió al flavonol 4, además, se observó que en los cuatro casos el contenido de flavonoles tendió a aumentar en las aceitunas con madurez Clase 2, coincidiendo con los resultados observados por Bouaziz *et al.*, (2004), quienes obtuvieron un aumento de los flavonoles a medida que avanzaba la madurez, con un máximo cuando los frutos presentaban la piel completamente morada (Clase 3 - 4).

Cuadro 5. Cuantificación de polifenoles presentes en la pulpa de aceitunas expresados en mg/kg para cada estado de madurez.

Compuesto Fenólico	Estados de Madurez	
	Clase 1: Piel verde o amarillenta	Clase 2: Inicio de envero
Hidroxitirosol	2,66 b	5,56 a
Tirosol	1,09 b	1,69 a
Ac. Vainillínico	3,31 b	3,57 a
Ac. p-cumárico	0,06 b	0,01 a
Procianidina	3,53 b	6,49 a
Flavonol 1	0,22 a	0,23 a
Flavonol 2	11,07 a	19,65 a
Der. Oleuropeina	0,01 a	0,02 a
Flavonol 3	2,55 b	5,43 a
Flavonol 4	23,13 b	43,88 a

Valores seguidos horizontalmente con letras distinta difieren estadísticamente según análisis de varianza ($p \leq 0,05$).

Análisis de los Aceites

Acidez libre

El objetivo de este análisis es determinar los ácidos grasos libres debido a la hidrólisis de alguno de los triacilglicéridos (TAG), presentes en el aceite de oliva, es una medida de la descomposición lipolítica de los glicéridos y se expresa en porcentaje de ácido oleico (Sepúlveda, 1998).

Niveles bajos de acidez libre en el aceite, entregan en general una razonable pero no absoluta indicación de que la fruta procesada estaba en buenas condiciones al momento de ser cosechada, en un adecuado estado de madurez, sin problemas sanitarios, adecuado sistema de cosecha y un buen proceso de extracción (Troncoso *et al.*, 2006).

Para el Consejo Oleícola Internacional, el máximo porcentaje de acidez libre permitido para un aceite de oliva categoría virgen extra debe ser menor o igual a 0,8% de ácido oleico (COI, 2003).

El valor de acidez para los distintos tratamientos (Cuadro 6), muestra que sólo se presentaron diferencias significativas entre los estados de madurez disminuyendo la acidez en los aceites con estado de madurez Clase 2. No se presentaron diferencias entre los tipos de molino utilizados en la extracción de aceite. Tampoco se encontraron diferencias significativas en la interacción de ambos factores.

Cuadro 6. Acidez libre expresada en Ácido Oleico (%)

Estado de madurez	Tipo de Molino		Promedio Estado de Madurez
	Martillo	Cuchillo	
Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,103	0,102	0,103 A
Clase 2: Inicio de envero	0,093	0,098	0,096 B
Promedio Tipo Molino	0,098 a	0,099 a	

Valores seguidos con letras minúsculas en sentido horizontal y distintas representan diferencias en el tipo de molino ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos con letras mayúsculas en sentido vertical y distintas representan diferencias en el estado de madurez ($p \leq 0,05$).

La acidez aumenta cuando la cosecha es tardía, cuando los frutos están demasiado maduros, cuando la recolección es del suelo o el tiempo de permanencia antes del proceso es mayor. Las aceitunas con madurez Clase 1 permanecieron 24 horas más en el patio de recepción antes de ser trasladadas a la planta de extracción, y esto pudo haber provocado un ligero aumento en la acidez, lo cual explicaría la diferencia significativa que existe entre los tratamientos. A pesar de estas diferencias los valores de acidez libre para todos los tratamientos son muy bajos y están aceptados dentro de la categoría virgen extra.

En un estudio realizado por Rotondi *et al.*, (2004) en Italia sobre el efecto del grado de madurez de las aceitunas en la estabilidad oxidativa y en las propiedades organolépticas del aceite virgen extra de la variedad Nostrana di Brisighella se muestra que los resultados de la acidez libre no presentaron diferencias significativas y se mantuvieron estables en la última etapa de madurez de los frutos (acidez libre igual 0,26 de ácido oleico).

Caponio *et al.*, (2003) realizaron un estudio relacionado con la influencia del tipo de molino en la calidad del aceite virgen extra, la acidez libre presentó diferencias significativas presentando valores más altos los aceites obtenidos al utilizar en el proceso de molienda el molino de martillos (0,29 % de ácido oleico).

Índice de Peróxido

El índice de peróxidos es una medida del grado de oxidación inicial y el potencial de enranciamiento de un aceite.

Los peróxidos son considerados como productos primarios de la oxidación, antes de que se hayan formado carbonilos, y por tanto antes de que haya manifestación de malos olores y sabores (Troncoso *et al.*, 2006). Su formación sigue, al menos durante las primeras etapas una curva paralela con la cantidad de O₂ absorbido. Para el Consejo Oleícola Internacional, un aceite de oliva virgen extra no debe superar 20 meq O₂/kg aceite (COI, 2003).

Los resultados para este análisis se muestran en el Cuadro 7, se observa que se presentaron diferencias significativas con los estados de madurez, disminuyendo el índice de peróxidos en los aceites con madurez Clase 2. No se presentaron diferencias entre los tipos de molino y tampoco existieron diferencias en la interacción de ambos factores. A pesar de las diferencias estadísticamente significativas, todos los valores son muy bajos y están dentro de la tolerancia del COI para aceites extra vírgenes.

Cuadro 7. Resultados del Índice de Peróxidos expresados en meq de O₂/ kg de aceite.

Estado de madurez	Tipo de Molino		Promedio Estado de Madurez
	Martillo	Cuchillo	
Clase 1: Piel verde o amarillenta	4,7	5,6	5,2 A
Clase 2: inicio enero	4,1	3,8	4,0 B
Promedio Tipo Molino	4,4 a	4,7 a	

Valores seguidos con letras minúsculas en sentido horizontal y distintas representan diferencias en el tipo de molino ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos con letras mayúsculas en sentido vertical y distintas representan diferencias en el estado de madurez ($p \leq 0,05$).

Según lo señalado por Di Giovacchino, (1998), el índice de peróxidos depende en primer lugar de las condiciones del proceso de elaboración y de la calidad de las aceitunas y no del estado de madurez, lo que explica que las aceitunas con madurez Clase 1 presentaron

mayor índice de peróxidos debido a que permanecieron almacenadas por más horas antes de ser procesadas.

Al igual que en los estudios realizados por Rotondi *et al.*, (2004) y Cires, (2007) el índice de peróxidos no presentó diferencias significativas a lo largo del proceso de maduración, en los estudios realizados por Rotondi *et al.*, (2004) el índice de peróxidos para la variedad Nostrana di Brisighella no superó los 8 meq de O₂/ kg de aceite. En el caso de Cires, (2007) sus resultados muestran que el índice de peróxidos para la variedad Leccino varió entre 3,7 y 4,1 meq de O₂/ kg de aceite y variedad Frantoio presentó un índice de 5,4 meq de O₂/ kg de aceite en los primeros estados de madurez y en el estado maduro el índice alcanzó a 6,4 meq de O₂/ kg de aceite.

En el estudio realizado por Caponio *et al.*, (2003) el índice de peróxidos presentó diferencias significativas alcanzando un valor más alto los aceites obtenidos por el molino de martillos.

Coefficiente de extinción ultravioleta. Pruebas espectrofométricas (K₂₇₀, K₂₃₂, ΔK)

Estas pruebas son utilizadas para reconocer el estado de conservación de los aceites y si ellos han sido refinados. Para un aceite virgen extra sus valores deben ser menores o iguales a 2,5 para K₂₃₂, 0,22 para K₂₇₀ y 0,001 para delta K (Consejo Oleícola Internacional (COI), 2003). Estos índices sirven como criterio de pureza, por ejemplo, la presencia de ácidos grasos de otros aceites diferentes al de oliva elevan el valor de K₂₇₀. (Troncoso *et al.*, 2006)

En esta investigación, sólo se presentaron diferencias estadísticamente significativas en el tipo de molino para el valor de K₂₇₀. Para el factor estado de madurez se presentaron diferencias significativas en los valores de K₂₃₂ y ΔK. No hubo diferencias en la interacción de los factores Tipo de Molino y Estado de Madurez (Cuadro 8).

Cuadro 8. Resultados del Coeficiente de extinción ultravioleta (K₂₇₀, K₂₃₂, ΔK)

Coef. de extinción UV	Estado de madurez	Tipo de Molino		Promedio E. Madurez
		Martillo	Cuchillo	
K ₂₇₀	Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,102	0,116	0,109 A
	Clase 2: Inicio de envero	0,108	0,121	0,115 A
	Promedio Tipo Molino	0,105 b	0,118 a	
K ₂₃₂	Clase 1: Piel verde o amarillenta	1,451	1,452	1,452 B
	Clase 2: Inicio de envero	1,471	1,487	1,479 A
	Promedio Tipo Molino	1,461 a	1,470 a	
ΔK	Clase 1: Piel verde o amarillenta	-0,0025	-0,0019	-0,0022 B
	Clase 2: Inicio de envero	-0,0020	-0,0018	-0,0019 A
	Promedio Tipo Molino	-0,0023 a	-0,0019 a	

Valores seguidos con letras minúsculas en sentido horizontal y distintas representan diferencias en el tipo de molino ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos con letras mayúsculas en sentido vertical y distintas representan diferencias en el estado de madurez ($p \leq 0,05$).

Al igual que la acidez libre y el índice de peróxidos, el coeficiente de extinción ultravioleta es un parámetro que no varía de forma significativa durante la maduración, ya que dependen esencialmente de la calidad de las aceitunas (Di Giovacchino, 1998), así como también del proceso de extracción. Las diferencias encontradas en K_{232} y ΔK para el factor estado de madurez se atribuyen al igual que los resultados obtenidos en este estudio para acidez libre y para el índice de peróxidos, a las 24 horas de más que estuvieron las aceitunas con Clase 1 antes del traslado a la planta. En el estudio realizado por Rotondi *et al.*, (2004) no se presentaron diferencias significativas entre los estados de madurez para el parámetro K_{232} en los aceites de la variedad Nostrana di Brisighella.

El valor del K_{270} es significativamente mayor con el uso de molino de cuchillos, lo cual no concuerda con estudios realizados por Caponio *et al.* (2003) sobre la influencia del tipo de molino, según sus resultados el molino de martillos al producir mayor energía, provoca la salida completa de la piel y fragmenta los carozos en partes más pequeñas.

Los bajos valores para K_{270} , K_{232} , ΔK confirman la buena calidad de estos aceites, ya que todos los valores clasifican dentro de la categoría virgen extra.

Perfil de ácidos grasos

El perfil de ácidos grasos es un parámetro químico indicativo de la pureza de un aceite, es decir, que no ha sido adicionado con otros aceites. El contenido de sus ácidos mayoritarios: oleico, palmítico, esteárico y linoleico permiten diferenciar aceites para una misma categoría y/o variedades considerando que la composición de ácidos grasos difiere de una muestra a otra, dependiendo de la zona de producción. Se ha señalado, por diversos autores, que los factores principales que afectan la composición son: latitud, condiciones climáticas, variedad y grado de madurez de las aceitunas recogidas (Troncoso *et al.*, 2006).

Los resultados para este análisis se muestran en el Cuadro 9, se presentaron diferencias estadísticas en el estado de madurez en los ácidos grasos insaturados palmitoleico, oleico y linoléico que aumentaron su porcentaje cuando el estado de madurez correspondió a Clase 2. Los ácidos insaturados margaroleico y linoleico también aumentaron en la segunda cosecha, pero estos aumentos no fueron significativos. Disminuyeron su porcentaje los ácidos saturados palmítico, margárico y esteárico. Tal como señala Barranco *et al.*, (2004), se aprecia una tendencia en la biosíntesis de ácidos grasos hacia formas más insaturadas.

Cuadro 9. Composición de los principales ácidos grasos del Aceite de Oliva expresados en porcentaje

Ác. Grasos	Estado de madurez	Tipo de Molino		Promedio Estado de Madurez
		Martillo	Cuchillo	
Palmítico C16:0	Clase 1: Piel verde o amarillenta	11,45	11,40	11,43 A
	Clase 2: Inicio de envero	11,28	11,13	11,21 B
	Promedio Tipo Molino	11,37 a	11,27 a	
Palmitoleico C16:1	Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,93	0,91	0,92 B
	Clase 2: Inicio de envero	1,00	0,97	0,99 A
	Promedio Tipo Molino	0,97 a	0,94 b	
Margárico C17:0	Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,15	0,15	0,15 A
	Clase 2: Inicio de envero	0,13	0,13	0,13 B
	Promedio Tipo Molino	0,14 a	0,14 a	
Margaroleico C17:1	Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,32	0,30	0,31 A
	Clase 2: Inicio de envero	0,33	0,32	0,33 A
	Promedio Tipo Molino	0,33 a	0,31 a	
Estearico C18:0	Clase 1: Piel verde o amarillenta	1,84	1,91	1,88 A
	Clase 2: Inicio de envero	1,78	1,83	1,81 B
	Promedio Tipo Molino	1,81 b	1,87 a	
Oleico C18:1	Clase 1: Piel verde o amarillenta	79,48	79,60	79,54 B
	Clase 2: Inicio de envero	79,70	79,83	79,77 A
	Promedio Tipo Molino	79,59 a	79,72 a	
Linoleico C18:2	Clase 1: Piel verde o amarillenta	5,03	4,95	4,99 A
	Clase 2: Inicio de envero	5,03	5,01	5,02 A
	Promedio Tipo Molino	5,03 a	4,98 a	
Linolénico C18:3	Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,46	0,42	0,44 B
	Clase 2: Inicio de envero	0,56	0,47	0,52 A
	Promedio Tipo Molino	0,51 a	0,45 a	

Valores seguidos con letras minúsculas en sentido horizontal y distintas representan diferencias en el tipo de molino ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos con letras mayúsculas en sentido vertical y distintas representan diferencias en el estado de madurez ($p \leq 0,05$).

Los resultados obtenidos se sustentan con lo señalado por Gutiérrez *et al.*, (1999) y Beltrán (2000) quienes mencionan que a lo largo del proceso de maduración se registran importantes cambios en la composición de ácidos grasos del aceite. Así, el contenido de palmítico desciende al igual que el resto de ácidos saturados, el ácido oleico muestra una evolución variable ya que puede permanecer constante o mostrar un ligero incremento y el ácido linoleico aumenta su porcentaje a lo largo del proceso de maduración.

A lo largo de la maduración del fruto, la estabilidad de los aceites desciende como consecuencia del aumento del ácido linoleico, su efecto en la relación entre ácidos grasos y el descenso del contenido en polifenoles totales (Barranco *et al.*, 2004).

Al analizar estadísticamente el efecto del tipo de molino, sólo se presentaron diferencias en el porcentaje del ácido palmitoleico aumentando al utilizar el molino de martillos y al usar el molino de cuchillos existió un aumento del ácido esteárico.

Polifenoles totales

Los polifenoles son antioxidantes muy importantes para la estabilidad del aceite. Existe una relación positiva entre la cantidad de polifenoles y resistencia a la oxidación. Altas concentraciones le confieren al aceite características de amargor y pungencia (sensación de picor), atributos considerados positivos. Las cantidades de polifenoles pueden variar de 0 a 1000 ppm o más, expresados como ácido cafeico. El contenido de polifenoles entrega información de la calidad nutricional, estabilidad y características sensoriales del aceite de oliva. Generalmente rangos de 50 a 200 ppm expresados como ácido cafeico son considerados “bajos”, desde 200 a 400 ppm “medios” y sobre 400 ppm “altos” (Troncoso *et al.*, 2006).

Aparentemente el gran número de variables involucradas en el proceso, son responsables de las diferencias encontradas entre los diversos investigadores. Boskou, (1998) señala que pequeñas diferencias en la maquinaria de molido de la oliva, temperatura de batido, contacto con el agua y el volumen de agua utilizado, pueden provocar cambios significativos en el contenido de polifenoles.

Al analizar estadísticamente los resultados del contenido de polifenoles totales de esta investigación se encontró que existían interacciones entre los dos factores, luego se procedió a realizar pruebas de comparación múltiple para el factor Molino (o factor Estado de madurez) dentro de cada nivel del factor Estado de madurez (o factor Molino) (Cuadro 10).

Cuadro 10. Contenido de polifenoles totales ppm de ácido cafeico.

Estado de madurez	Tipo de Molino		Promedio Estado de Madurez
	Martillo	Cuchillo	
Clase 1: piel verde o amarillenta	398 aA	299 bB	349
Clase 2: inicio envero	329 bB	459 aA	394
Promedio Tipo Molino	364	379	

Valores seguidos de letras minúsculas y distintas en sentido vertical muestran diferencias significativas producidas entre los estado de madurez para el tipo de molino ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos de letras mayúsculas distintas en sentido horizontal muestran diferencias significativas producidas entre los tipos de molino para el estado de madurez ($p \leq 0,05$).

Al utilizar el molino de martillos en aceitunas menos maduras (Clase 1), se obtuvo mayor contenido de polifenoles que al utilizar este mismo molino con aceitunas con madurez Clase 2, lo que se podría atribuir a la fuerza con la que trabaja este molino, ya que divide al fruto en muchas partes, provoca mayor ruptura celular y extrae más polifenoles que el otro molino.

Cuando las aceitunas están en un estado de madurez más avanzado (Clase 2) se obtuvo una mayor proporción de polifenoles al utilizar el molino cuchillos, y se debe a que con este tipo de molino el aceite está mucho más en contacto con la piel de las aceitunas incorporando mayor cantidad de polifenoles al aceite. Según lo señalado por Beltrán *et al.*, (2003) el contenido de antioxidantes naturales comienza a descender al madurar los frutos, alcanzando un máximo contenido de polifenoles cuando la mayoría de los frutos están en pinta, etapa a la cual comenzaban a entrar las aceitunas con Clase 2.

En el estudio realizado por Rotondi *et al.*, (2004) para el cultivar Nostrana di Brisighella, presentó una disminución significativa en el contenido de polifenoles totales al aumentar el estado de madurez, pasando de 441 a 209 ppm. Cires, (2007) también encontró un comportamiento similar para la variedad Frantoio, sus resultados muestran que los polifenoles totales disminuyeron de 303 a 221 ppm.

Índice de Amargor (K_{225})

El amargor es un atributo importante en la caracterización del aceite de oliva virgen por un doble motivo. En primer lugar, es un atributo valorado positivamente desde un punto de vista organoléptico, aunque cuando se presenta en un grado extremo puede provocar rechazo en el consumidor. En segundo lugar, está relacionado con el contenido de polifenoles del aceite (Beltrán *et al.*, 2000).

El aceite sabe a amargo si la absorbancia a 225 nm excede de 0,3 (Kiritsakis *et al.*, 2003) pudiendo alcanzar valores de 0,5 en estados tempranos de maduración, mientras que en estados más tardíos alcanza valores de 0,19 como consecuencia de la disminución del contenido de fenoles (Morelló *et al.*, 2004).

Al analizar estadísticamente los resultados de este estudio, se encontraron diferencias significativas en la interacción de los factores, por este motivo se procedió a realizar pruebas de comparación múltiple para el factor Molino (o factor Estado de madurez) dentro de cada nivel del factor Estado de madurez (o factor Molino). Los resultados se muestran en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Resultados del Índice de Amargor (K_{225})

Estado de madurez	Tipo de Molino		Promedio Estado de Madurez
	Martillo	Cuchillo	
Clase 1: piel verde o amarillenta	0,31 aA	0,25 aB	0,28
Clase 2: inicio envero	0,29 bA	0,32 aA	0,31
Promedio Tipo Molino	0,30	0,29	

Valores seguidos de letras minúsculas y distintas en sentido vertical muestran diferencias significativas producidas entre los estado de madurez para el tipo de molino ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos de letras mayúsculas distintas en sentido horizontal muestran diferencias significativas producidas entre los tipos de molino para el estado de madurez ($p \leq 0,05$).

Al igual que lo sucedido con el contenido de polifenoles totales si las aceitunas están más inmaduras (Clase 1), al utilizar el molino martillos, se obtuvo mayor contenido de polifenoles lo cual está directamente relacionado con el índice de amargor, que también aumentó en esta combinación de factores.

Si las aceitunas están más maduras (estado de madurez correspondiente a Clase 2) se obtuvo una mayor proporción de polifenoles y por ende mayor índice de amargor al utilizar el molino de cuchillos, y se debió a que con este tipo de molino el aceite está mucho más en contacto con la piel de las aceitunas y hay mayor contenido de polifenoles (Beltrán *et al.*, 2003).

Beltrán *et al.*, (2003) en un estudio relacionado con la influencia del proceso de maduración del fruto sobre el contenido en antioxidantes naturales en aceite de oliva virgen de la variedad Hojiblanca, señalan que durante el proceso obtuvieron un descenso del amargor de los aceites lo que se repitió en varias temporadas, cabe mencionar que el descenso se produce a un mayor estado de madurez que los observados en este estudio, el índice de amargor se redujo de 0,6 a 0,2 en una de las temporadas en que realizaron el estudio. Cires, (2007) en su estudio sobre la influencia de la época de cosecha sobre las características del aceite de oliva, obtuvo para la variedad Frantoio diferencias significativas en el índice de amargor, con valores de 0,4 en aceitunas verdes y 0,3 en aceitunas en estado maduro.

α - tocoferol

Los tocoferoles o vitamina E son importantes en el aceite de oliva virgen debido a su valor nutricional y por sus propiedades antioxidantes, protegen a los componentes de la grasa de la autooxidación. Confieren estabilidad a la grasa o aceite que los posee, siendo siempre su contenido más alto en los aceites vírgenes (Morales *et al.*, 2003). El contenido de tocoferol se puede utilizar para detectar la adulteración del aceite de oliva (Kiritsakis *et al.*, 2003).

El α -tocoferol es el más importante, representa alrededor del 95% del total de tocoferoles presentes en el aceite de oliva virgen (Aguilera *et al.*, 2005), y su contenido estaría influenciado en un 79% por la variedad y en 19,7% por el estado de madurez (Barranco *et al.*, 2004).

Los resultados de α -tocoferol de este estudio, fueron analizados estadísticamente y se encontraron diferencias significativas en la interacción de los factores, por este motivo se procedió a realizar pruebas de comparación múltiple para el factor Molino (o factor Estado de madurez) dentro de cada nivel del factor Estado de madurez (o factor Molino). Los resultados expresados en el Cuadro 12 muestran que sólo se presentaron diferencias aumentando el contenido de α -tocoferol cuando las aceitunas estaban más maduras (Estado de madurez correspondiente a Clase 2) y se utilizó el molino de cuchillos.

Cuadro 12. Contenidos de α - tocoferol, expresados en mg/kg

Estado de madurez	Tipo de Molino		Promedio Estado de Madurez
	Martillo	Cuchillo	
Clase 1: piel verde o amarillenta	365 aA	409 aA	387
Clase 2: inicio envero	294 aB	546 aA	420
Promedio Tipo Molino	330	478	

Valores seguidos de letras minúsculas y distintas en sentido vertical muestran diferencias significativas producidas entre los estado de madurez para el tipo de molino ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos de letras mayúsculas distintas en sentido horizontal muestran diferencias significativas producidas entre los tipos de molino para el estado de madurez ($p \leq 0,05$).

Otros autores han observado un amplio rango de α - tocoferol en aceites de oliva, por ejemplo, Beltrán *et al.*, (2003), para la variedad Hojiblanca obtuvieron valores entre 232,22 y 373,56 mg/kg. Aguilera *et al.*, (2005), para la variedad Leccino observaron valores entre 275 y 306 mg/kg. En estudios realizados en el laboratorio de Aceite de Oliva de la Facultad de Ciencias Agronómicas, se obtuvieron resultados para la variedad Coratina⁴ de 278 mg/kg y para la variedad Arbequina⁵ de 176 mg/kg.

Polifenoles en aceite pormenorizados por HPLC

El uso del método HPLC (cromatografía líquida de gases) reduce en un 40% el tiempo de análisis, el uso de disolventes y la complejidad de la gama de disolventes que se necesitan normalmente para la concentración, separación y análisis de los compuestos presentes en el aceite (Kiritsakis *et al.*, 2003).

La presencia de polifenoles en el aceite de oliva está relacionada con la estabilidad oxidativa y la calidad sensorial del aceite (Morales *et al.*, 2003). Barranco *et al.* (2004) señalan que los polifenoles tienen un fuerte componente varietal 45,7% y están influenciados por la época de recolección en un 17,4%.

Cada aceite de oliva virgen extra contiene una combinación única de las diferentes especies de polifenoles, así se obtienen los distintos grados de amargor y picante (Gutiérrez-Rosales

⁴ Andrea Morales. Lic. en Ciencias Agronómicas Universidad de Chile. (comunicación personal) anmorac@gmail.com

⁵ Pamela González. Lic. en Cs. Agronómicas Universidad de Chile. (comunicación personal). pamelapilar@hotmail.com

et al., 2003 y Andrewes *et al.*, 2003). En los aceites analizados en este ensayo se identificaron 13 compuestos fenólicos: ácido gálico, tirosol, ácido vainillínico, vainillina, ácido cinámico, 3,4-DHPEA-EDA forma diacetilica del ácido elenoico unido al hidroxitirosol, X1 identificado como derivado secoiridoide, secoiridoide, X2 y X3 también como derivados secoiridoide, *p*-DHPEA-EDA forma diacetilica del ácido elenoico unida al tirosol, oleuropeina aglicona y Flavonoide, en el Apéndice II se muestra un cromatograma de compuestos fenólicos de aceite de oliva virgen extra de la variedad Arbosana.

En el Cuadro 13 se presentan cuantificados en mg/kg los compuestos fenólicos identificados en los aceites estudiados. Se presentaron diferencias estadísticamente significativas al analizar el factor Estado de madurez en los compuestos fenólicos tirosol, X2 der. secoiridoide y en *p*-DHPEA-EDA. Diferencias significativas al analizar el factor Tipo de molino sólo en el compuesto fenólico oleuropeina aglicona y diferencias estadísticas en la interacción de ambos factores en los compuestos 3,4 DHPA-EDA, X1 der. secoiridoide y X3 der. secoiridoide.

Cuadro 13. Cuantificación de polifenoles por HPLC presentes en el aceite de oliva expresados en mg/kg.

Compuesto fenólico	Estado de madurez	Tipo de Molino		Prom. E. de Madurez
		Martillo	Cuchillo	
Ácido gálico	Clase 1: Piel verde o amarillenta	2,910	2,820	2,865 A
	Clase 2: Inicio de envero	2,875	2,940	2,908 A
	Promedio Tipo Molino	2,893 a	2,880 a	
Tirosol	Clase 1: Piel verde o amarillenta	1,413	1,215	1,314 A
	Clase 2: Inicio de envero	1,013	0,868	0,941 B
	Promedio Tipo Molino	1,213 a	1,041 a	
Ácido vainillínico	Clase 1: Piel verde o amarillenta	3,768	3,823	3,796 A
	Clase 2: Inicio de envero	3,628	3,730	3,679 A
	Promedio Tipo Molino	3,698 a	3,777 a	
Vainillina	Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,428	0,323	0,376 A
	Clase 2: Inicio de envero	0,300	0,365	0,333 A
	Promedio Tipo Molino	0,364 a	0,344 a	
Ácido Cinámico	Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,085	0,085	0,085 A
	Clase 2: Inicio de envero	0,075	0,085	0,079 A
	Promedio Tipo Molino	0,080 a	0,085 a	
3,4 DHPA-EDA	Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,005 aA	0,008 aA	0,007
	Clase 2: Inicio de envero	0,004 aB	0,004 aA	0,004
	Promedio Tipo Molino	0,005	0,006	

(Continuación Cuadro 13)

Compuesto fenólico	Estado de madurez	Tipo de Molino		Prom. E. de Madurez
		Martillo	Cuchillo	
X1 der. Secoiridoide	Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,278 aA	0,130 bB	0,204
	Clase 2: Inicio de envero	0,218 aA	0,290 aA	0,254
	Promedio Tipo Molino	0,248	0,210	
Secoiridoide	Clase 1: Piel verde o amarillenta	0,012	0,003	0,008 A
	Clase 2: Inicio de envero	0,003	0,005	0,004 A
	Promedio Tipo Molino	0,008 a	0,004 a	
X2 der. Secoiridoide	Clase 1: Piel verde o amarillenta	13,723	11,045	12,384 B
	Clase 2: Inicio de envero	14,625	15,100	14,863 A
	Promedio Tipo Molino	14,174 a	13,073 a	
X3 der. Secoiridoide	Clase 1: Piel verde o amarillenta	1,723 aA	1,335 aA	1,529
	Clase 2: Inicio de envero	0,693 bA	1,264 aA	0,979
	Promedio Tipo Molino	1,208	1,300	
p-DHPEA- EDA	Clase 1: Piel verde o amarillenta	12,658	11,995	12,327 A
	Clase 2: Inicio de envero	11,850	10,893	11,372 B
	Promedio Tipo Molino	12,254 a	11,444 a	
Oleuropeina Aglicona	Clase 1: Piel verde o amarillenta	53,825	51,157	52,491 A
	Clase 2: Inicio de envero	53,315	48,598	50,956 A
	Promedio Tipo Molino	53,570 a	49,878 b	
Flavonoide	Clase 1: Piel verde o amarillenta	6,073	6,208	6,141 A
	Clase 2: Inicio de envero	6,178	7,858	7,018 A
	Promedio Tipo Molino	6,126 a	7,033 a	

Valores seguidos con letras minúsculas distintas en negrilla y en sentido horizontal representan diferencias en el tipo de molino ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos con letras mayúsculas distintas en negrilla y en sentido vertical representan diferencias en el estado de madurez ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos de letras minúsculas y distintas en sentido vertical muestran diferencias significativas producidas entre los estado de madurez para el tipo de molino ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos de letras mayúsculas distintas en sentido horizontal muestran diferencias significativas producidas entre los tipos de molino para el estado de madurez ($p \leq 0,05$).

En el caso de las diferencias presentadas en el estado de madurez de los compuestos fenólicos tirosol y *p*-DHPEA-EDA, en ambos casos disminuyó su concentración en los aceites provenientes de aceitunas con madurez Clase 2, estos resultados coinciden con los obtenidos por Gómez-Rico *et al.* (2008) que también observaron la disminución de ambos compuestos a medida que avanzaba la madurez de las aceitunas en los aceites de las variedades Arbequina, Cornicabra y Picual.

El compuesto fenólico identificado como X2 derivado secoiridoide, también presentó diferencias significativas en el estado de madurez, en este caso el contenido de este fenol aumentó en los aceites con madurez Clase 2.

Existen otros compuestos fenólicos que disminuyen su concentración al avanzar el proceso de maduración, Brenes *et al.*, (1999) señalan que, por lo general, tanto las formas de ácido diacéticas del ácido elenoico vinculados a tirosol (*p*-DHPEA-EDA) o las unidas al hidroxitirosol (3,4 DHPEA-EDA) y la oleuropeína aglicona disminuyen su concentración con la maduración de los frutos. Sin embargo, estas transformaciones requieren de la actividad enzimática que ocurre durante la molienda o el batido. Para Morelló *et al.*, (2004) las concentraciones de todos los derivados secoiridoide de aceites de la var. Arbequina sufrieron una disminución durante la maduración con la excepción del 3,4-DHPEA-EDA, cuya concentración se mantuvo prácticamente constante.

Se presentaron diferencias estadísticamente significativas en el tipo de molino en oleuropeína aglicona disminuyendo la concentración al utilizar el molino de cuchillos. El molino de martillos al tener un accionar más violento que el de cuchillos, provocaría mayor ruptura celular, lo que concuerda con lo señalado por Morelló *et al.*, (2004) que como consecuencia de esta ruptura y mezcla del contenido celular durante la extracción (molienda y batido) se produciría la hidrólisis de glicéridos por la acción de lipasas, hidrólisis de glúcidos y oligosacáridos por glucosidasas, la oxidación de compuestos fenólicos por fenoloxidasas, y polimerización de fenoles libres.

En los casos que existió diferencias estadísticas en la interacción de los factores se procedió a realizar pruebas de comparación múltiple para el factor Molino (o factor Estado de madurez) dentro de cada nivel del factor Estado de madurez (o factor Molino). Para el compuesto fenólico 3,4- DHPEA- EDA sólo se presentaron diferencias entre los molinos cuando la madurez de las aceitunas correspondía a Clase 1, cuando las aceitunas están más verdes aumentó el contenido de éste compuesto fenólico al usar el molino de martillos que debido a la velocidad con que opera fragmenta mucho más los trozos del carozo de la aceituna y pone más en contacto el contenido celular.

El compuesto fenólico X1 derivado secoiridoide, presentó diferencias significativas al igual que en el caso anterior en aquellos aceites que provenían de aceitunas con madurez correspondiente a Clase 1 aumentando el contenido de este fenol cuando se utilizó el molino de martillos.

El tercer compuesto que presentó diferencias estadísticas en la interacción de los factores, es el X3 derivado secoiridoide, las diferencias se expresaron cuando se utilizó el molino de martillos, en este caso disminuyó el contenido del compuesto en los aceites con aceitunas madurez Clase 2, estos resultados es posible asociarlos a lo expuesto por Morelló *et al.*, (2004) quienes obtuvieron una disminución de las concentraciones de todos los derivados secoiridoide de aceites de la var. Arbequina durante la maduración.

El compuesto fenólico identificado en mayor cantidad es la oleuropeína aglicona que concuerda con lo descrito por Allalout *et al.* (2009) en un estudio sobre la caracterización de aceites de oliva de variedades superintensivas. Luego sigue *p*-DHPEA-EDA y X2 derivado secoiridoide.

Otros fenoles simples identificados en las muestras de aceite, como la vainillina, el ácido vainillínico y el ácido cinámico se encuentran en concentraciones muy bajas. Para Bouaziz *et al.*, (2004) y Gómez-Rico *et al.*, (2008), el ácido cinámico en los estudios de estos autores, mostró una débil variación y disminuyó en la última fase de maduración. Morelló *et al.*, (2004) cuantificaron fenoles simples, como el ácido vainillínico en concentraciones muy bajas y vainillina con tendencia decreciente durante el proceso de maduración, coincidiendo estos resultados con los obtenidos en esta memoria.

El flavonoide cuantificado como quercetina según Bouaziz *et al.*, (2004) tiende a aumentar hacia el final de la madurez. Para Gómez-Rico *et al.*, (2008) este compuesto fenólico presentó pocos cambios durante la madurez, en un principio tiende a aumentar pero disminuye al final de la etapa de maduración, en este estudio, este compuesto no presentó diferencias significativas, pero se observó una leve tendencia a aumentar en el estado de madurez Clase 2.

Capacidad Antioxidante (DPPH)

A través de este análisis se mide el tiempo de reacción del radical (DPPH) con los compuestos antioxidantes que posee el aceite. Para esto se midió la concentración inicial de DPPH sin añadir la muestra de aceite y luego se midió la concentración resultante una vez que se añadió el antioxidante (muestra de aceite), de forma que una disminución de la absorción se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de la especie antioxidante.

Para analizar estadísticamente la velocidad de degradación del radical DPPH, se calculó la ecuación de la recta para cada curva (Apéndice III), de ésta se obtuvieron las pendientes las cuales al ser analizadas estadísticamente no presentaron diferencias significativas (Cuadro 14). Todas las pendientes resultaron negativas, lo que indica que todas las curvas además de presentar la misma inclinación, a medida que transcurre el tiempo la absorbancia a 520 nm van disminuyendo, es decir, se reduce la concentración del radical (DPPH), esto se ve reflejado en la Figura 4.

Cuadro 14. Valores promedio correspondientes a la pendiente de la ecuación de la recta para curva.

Estado de madurez	Tipo de Molino		Promedio Estado de Madurez
	Martillo	Cuchillo	
Clase 1: piel verde o amarillenta	-0,000112	-0,000144	-0,000128 A
Clase 2: inicio envero	-0,000198	-0,000126	-0,000162 A
Promedio Tipo Molino	-0,000155 a	-0,000135 a	

Valores seguidos con letras minúsculas en sentido horizontal y distintas representan diferencias en el tipo de molino ($p \leq 0,05$).

Valores seguidos con letras mayúsculas en sentido vertical y distintas representan diferencias en el estado de madurez ($p \leq 0,05$).

En la Figura 4, se muestran las curvas de degradación del DPPH, todos los tratamientos partieron con la misma concentración inicial de DPPH (0,917).

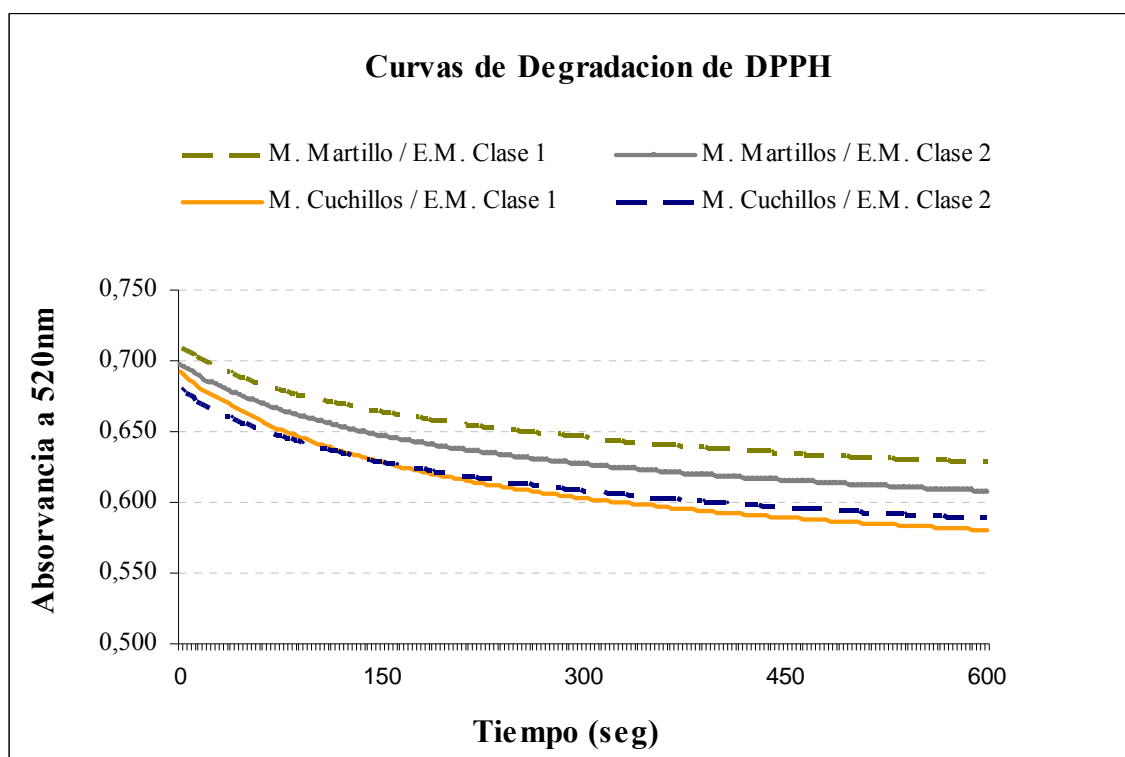


Figura 4. Curvas de degradación del radical DPPH

En la Figura 5, es posible observar la reducción del DPPH en los tres intervalos de lectura, se presenta la lectura inicial realizada al radical DPPH antes de aplicar la muestra de aceite (antioxidante), y las lecturas obtenidas una vez que se adjuntó el radical a las muestras de aceite al inicio del ensayo (0 segundos) y al término de éste (600 segundos). Al momento de juntar el DPPH con el aceite al tiempo inicial, se observó la reducción del radical entre un 23 a 26% (Apéndice IV), presentando mayor reducción los aceites que fueron extraídos

con el molino de cuchillos y en ambos estados de madurez. Luego de transcurrido los 600 segundos que dura el análisis, la lectura final obtenida fue un 11 a 16% menos que la lectura recogida a los 0 segundos. En este caso el tratamiento con molino de cuchillos y aceitunas con madurez correspondiente a Clase 2 fue el que obtuvo la mayor reducción (16%) del agente oxidante desde la lectura a los 0 segundos y en un 37% si se compara con la lectura obtenida cuando el DPPH no se encuentra junto al aceite. Este tratamiento es además el que presentó el mayor contenido de polifenoles totales y el mayor contenido de α -tocoferol, por lo tanto un mayor poder antioxidante, esto explicaría la mayor degradación del radical DPPH.

Como señala Bonoli, *et al.*, (2004) en un estudio sobre análisis de compuestos fenólicos en función del grado de maduración de los frutos en aceites de la variedad Nostrana di Brisighella, comprueban al igual que Rotondi *et al.*, (2004) que a medida que avanza la madurez la estabilidad oxidativa y el contenido total de polifenoles disminuye lo que provocará que la capacidad que posee el aceite para reducir al radical disminuya, perdiendo así capacidad antioxidante.

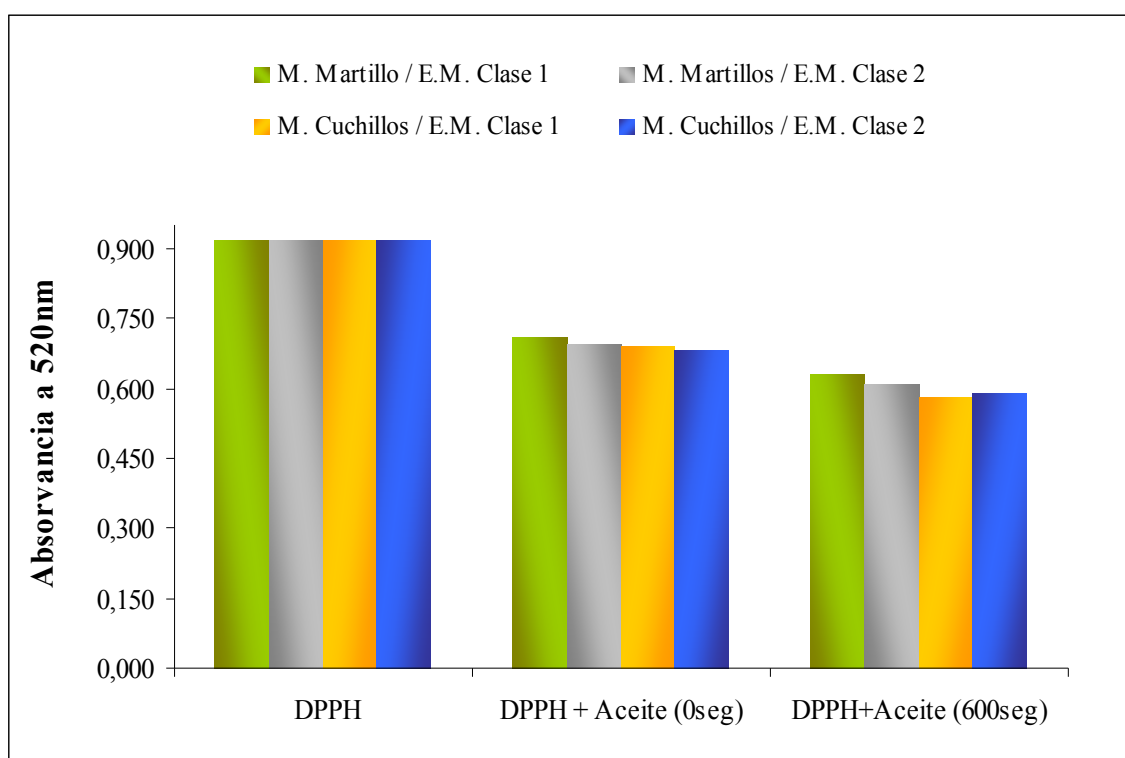


Figura 5. Reducción de DPPH, basado en las lecturas obtenidas a 520nm.

Análisis Sensorial

Las propiedades organolépticas de una sustancia son aquellos caracteres, percibidos por los órganos de los sentidos, correspondientes a los diversos estímulos sensoriales que posee dicha sustancia. Se trata ante todo, de propiedades físicas o químicas, relativas a su composición; sin embargo, los avances de la física y química no son suficientes para sustituir a nuestros sentidos. En el aceite de oliva los compuestos que se controlan están indirectamente relacionados con la combinación de las características de aroma y sabor (flavor) y sólo cuando superan valores extremos pueden considerarse como nocivos (Jamett, 2007).

Los niveles de compuestos secoiridoides (sustancias responsables de las auténticas percepciones gustativas del aceite de oliva) están muy influenciados por los factores genéticos, la etapa de maduración de los frutos y los procesos tecnológicos de extracción del aceite. La concentración de estos compuestos aumenta con el crecimiento del fruto, hasta alcanzar un máximo que generalmente coincide con el viraje a color púrpura de las aceitunas; a partir de esta etapa el contenido de polifenoles disminuye (Solinas, 1987; Montedoro y Servili, 1992).

Con relación al aroma del aceite de oliva se ve afectado por el estado de madurez de las aceitunas. La máxima intensidad de un aroma, con un adecuado balance entre sus atributos positivos, se corresponde con el máximo contenido en volátiles que a su vez suele coincidir con el óptimo nivel de maduración. El sistema de elaboración y las condiciones adoptadas durante el proceso de elaboración (principalmente molienda y batido), son responsables de los cambios iniciales de la fracción volátil y, por tanto, del tipo e intensidad del aroma. Una molienda muy violenta tiene efectos negativos en el aroma del aceite (Angerosa y DiGiacinto, 1995).

La evaluación organoléptica de los aceites de oliva, es fundamental y determina si un aceite es virgen extra después de haber clasificado como tal mediante los análisis químicos. Se identifican como atributos positivos el aroma, flavor, picor y amargor. Para un aceite virgen extra la mediana del frutado debe ser mayor a 0 y la mediana del defecto igual a 0, no debe haber defectos como rancidez, atrojado, moho, avinado o borras.

Analizando estadísticamente cada atributo percibido por los panelistas entrenados en aceite de oliva, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para cada atributo. Se puede desprender del Cuadro 15 de medias que todos los aceites clasificaron para la categoría de virgen extra, ya que la mediana del frutado fue mayor a 0. Ningún aceite presentó defectos. De la Figura 5 se desprende que estos aceites presentaron un nivel medio para el amargo y picante, frutado medio-alto y notas frutales como manzana, almendra, tomate, plátano. El panel percibió además bajas notas de tomate y dulce.

Cuadro 15. Valores medios de cada atributo para cada uno de los tratamientos

Atributos	Tratamientos			
	Molino Martillos/ E.M. Clase 1	Molino Martillos/ E.M. Clase 2	Molino Cuchillos/ E.M. Clase 1	Molino Cuchillos/ E.M. Clase 2
Frutado	3 a	2,6 a	2,6 a	3,2 a
Amargo	2 a	2,6 a	2,2 a	2,4 a
Picante	2,4 a	2,4 a	2 a	2,2 a
Manzana	1,2 a	1 a	1,2 a	1 a
Almendra	0,6 a	0,8 a	1 a	1 a
Alcachofa	0,2 a	0,4 a	0,8 a	0,8 a
Tomate	0,6 a	0,8 a	0 a	0,6 a
Hierba	1,2 a	0,8 a	0,6 a	1,8 a
Plátano	1 a	0,8 a	0 a	1,2 a
Dulce	0,2 a	0,8 a	1 a	0,2 a
Astringencia	1,2 a	0,8 a	1,2 a	1,4 a
Verde	1,6 a	1 a	1,2 a	1,6 a

Valores seguidos horizontalmente con distinta letra difieren estadísticamente según análisis de varianza ($p \leq 0,05$).

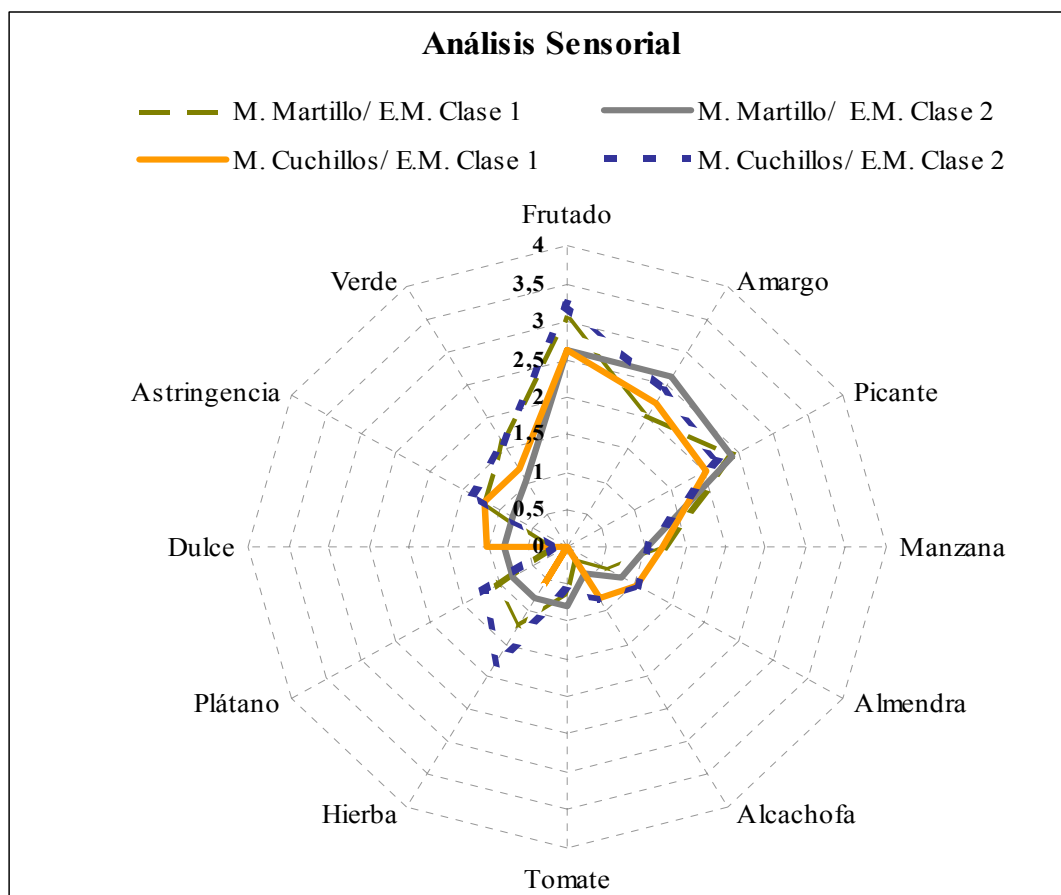


Figura 5. Gráfico araña con valores medios de cada tratamiento para cada uno de los atributos.

CONCLUSIONES

En base a los datos obtenidos en este ensayo y bajo las condiciones en que éste se realizó se puede concluir que:

- El grado de madurez de las aceitunas es una herramienta de suma importancia al momento de decidir la fecha óptima de cosecha, interviene en la gran mayoría de los parámetros que influyen en la calidad química de los aceites de oliva, afecta al contenido de polifenoles, ácidos grasos, tocoferoles, amargor y a la calidad sensorial.
- El tipo de molino utilizado, debido a las diferencias en la fuerza ejercida, afectará el tamaño de los fragmentos de carozo y estos a la extracción de algunos compuestos que determinan la calidad del aceite, como son los polifenoles y el amargor.
- Con estados de madurez tempranos y el uso de molinos de martillo para la molienda de las aceitunas, se extrae mayor cantidad de polifenoles totales, aumenta el índice de amargor y el contenido α - tocoferol.
- Con aceitunas en estado de madurez correspondientes a la Clase 2 y con el uso de molino de cuchillos, se obtuvieron mayores contenidos de fenoles totales, índice de amargor y α - tocoferol.
- El aceite variedad Arbosana es un aceite ideal para paladares que recién se inician en el consumo del aceite de oliva debido a que posee características sensoriales muy agradables para el consumidor, con niveles medios de amargor y picante, frutado medio alto y con notas frutales como manzana, almendra, plátano y tomate.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilera, M. P., G. Beltrán, D. Ortega, A. Fernández, A. Jiménez and M. Uceda. 2005. Characterization of virgin olive oil of Italian olive cultivars: Frantoio and Leccino, grown in Andalusia. *Food Chem.* 89: 387–391.

Allalout A., D. Kriche` ne, K. Methenni, A. Taamalli, I. Oueslati, D. Daoud and M. Zarrouk. 2009. Characterization of virgin olive oil from Super Intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. 2009. *Scientia Horticulturae* 120: 77–83.

Andrewes P, J. Busch, T. De Joode, A. Groenewegen and H. Alexandre. 2003. Sensory properties of virgin olive oil phenols: Identification of deacetoxy-ligstroside aglycon as a key contributor to pungency. *J. Agr. Food Chem.* 51: 1415-1420.

Angerosa, F e L. DiGiacinto. 1995. Caratteristiche di qualita dell olio di oliva vergine in relazione ai metodi di fragatura. Nota II. *Riv. Ital. Sostanze Grasse* 72, pp.1-4. In Aparicio-Harwood. Manual del aceite de oliva. Capítulo 11: Calidad sensorial de los aceites de oliva. 1º edición. Editorial A. Madrid Vicente y Mundi Prensa. Madrid, España. 614p.

Barranco, D., R. Fernández y L. Rallo. 2004. Cultivo del olivo. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España. 714p.

Beltrán, G., A. Jiménez, M. P. Aguilera y M. Uceda. 2000. Análisis mediante HPLC de la fracción fenólica del aceite de oliva virgen de la variedad Arbequina. Relación con la medida del amargor K225 y la estabilidad oxidativa. *Grasas y Aceites* 51: 320–324.

Beltrán, G., M. P. Aguilera, C. del Río y L. Martínez. 2003. TEC-15. Influencia del proceso de maduración del fruto sobre el contenido en antioxidantes naturales del aceite de oliva virgen de la variedad Hojiblanca. [En línea]. Disponible en: <http://www.expoliva.com/expoliva2003/symposium/comunicaciones/Tec-15-Texto.pdf> Leído el 25 de agosto 2009.

Bonoli M. , A. Bendini, L. Cerretani, G. Lercker and T. Toschi. 2004. Qualitative and semiquantitative analysis of phenolic compounds in extra virgin olive oils as a function of the ripening degree of olive fruits by different analytical techniques. *J. Agric. Food Chem.* 52: 7026-7032.

Boskou, D. 1998. Química y tecnología del aceite de oliva. Mundi-prensa, AMV Ediciones. Primera Edición. España, 92p. In Troncoso, H., F. Jamett, A. Benavides, M. Astorga. 2006. Caracterización química de aceites de oliva producidos en zonas de la Región de Coquimbo. *Boletín INIA* 153. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Intihuasi, La Serena, Chile, 30p.

Bouaziz M., M. Chamkha and S. Sayadi. 2004. Comparative study on phenolic content and antioxidant activity during maturation of the olive cultivar chemlali from Tunisia. *J. Agric. Food Chem.* 52 (17): 5476 – 5481.

Brenes M., A. García, P. García, J. J. Rios and A. Garrido. 1999. Phenolic Compounds in Spanish Olive Oils. *J. Agric. Food Chem.* 47(9): 3535 – 3540.

Caponio F., T. Gomes, C. Summo and A. Pasqualone. 2003. Influence of type of olive-crusher used on quality of extra virgin olive oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 105: 201 – 206.

ChileOliva, 2009. Informe anual del mercado nacional de aceite de oliva – 2009. [En línea]. Disponible en: http://www.chileoliva.cl/estadisticas_noticias.php
Leído el 1 de septiembre de 2010.

Cimato, A. e P. Fiorino. 1984. Olive: vantaggi della raccolta precoce. *Giorn. Agric.*, 94, pp. 42. *In Enciclopédia mundial da Oliveira. Conselho Oleícola Internacional.* 1998. Capítulo 5: Técnicas Agronomicas e Caracteristicas do aceite. pp. 197-222. Primera edición en lengua Portuguesa. Editado por Plaza & Janés Editores, S.A. Barcelona, España. 459pp.

Cimato, A., F. Nizzi Grifi e P. Fiorino. 1988. La maturazione delle olive. Variazioni di alcuni componenti principali dell'olio. Atti del Convegno “Gli aspetti fisiologici della cascola, della maturazione, della conservazione e della trasformazione post raccolta dei frutti, Torino, 3-4 Outubro. *In Enciclopédia mundial da Oliveira. Conselho Oleícola Internacional.* Capítulo 5: Técnicas Agronomicas e Caracteristicas do aceite. pp. 197-222. 1998. Primera edición en lengua Portuguesa. Editado por Plaza & Janés Editores, S.A. Barcelona, España. 459pp.

Cires, M. J. 2007. Influencia de la época de cosecha de aceitunas de las variedades Leccino y Frantoio sobre las características del aceite de oliva. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 34p.

Consejo Oleícola Internacional (COI). 2003. Normas comerciales aplicables a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva. COI/T.15/NC nº 3/Rev 1. Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/foros/olivo/biblio/5-junio/Normaesp.pdf>. Consultado: 9 de julio 2010.

Consejo Oleícola Internacional, 2010. Definición de aceite de oliva virgen. [En línea]. Disponible en: <http://www.internationaloliveoil.org/web/aa-ingles/oliveWorld/aceite1.html>. Leído el 1 de septiembre de 2010.

Di Giovacchino, 1998. Recolección de las aceitunas y extracción del aceite de oliva. pp.25-66. *In.* Boskou, D. (Ed). Química y tecnología del aceite de oliva. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 291 p.

Di Giovacchino, 2003. Capítulo 2: Aspectos tecnológicos. pp. 33-77. *In* Aparicio - Harwood. Manual del aceite de oliva. (Ed.). Editorial A. Madrid Vicente y Mundi Prensa. Madrid, España. 614p.

Estay, K. 2009. Descripción de algunos estados fonológicos y caracterización del aceite de cinco variedades de olivo de la VI región. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 66p.

FIA. 2003. Boletín olivícola. Boletín trimestral N° 11, 12, 13, 14. [En línea]. Disponible en: <http://www.fia.cl/difus/boletin/bololiv/bolivo.htm> Leído el 27 de octubre 2009.

FIA 2004. Variedades aceiteras españolas. Boletín olivícola. Boletín trimestral N°15. [En línea]. Disponible en: <http://www.fia.cl/difus/boletin/bololiv/bofebrero2004.PDF>. Leído el 27 de octubre 2009.

Fiorino, P. e F. Nizzi Grifi. 1991. Maturazione delle olive e variazioni di alcuni componenti dell'olio. *Olivae*, n°35, pp. 25-33. *In* Enciclopédia mundial da Oliveira. Conselho Oleícola Internacional. Capítulo 5: Técnicas Agronomicas e Características do aceite. pp. 197-222. 1998. Primera edición en lengua Portuguesa. Editado por Plaza & Janés Editores, S.A. Barcelona, España. 459pp.

Frías, L., A. Gracias – Ortiz, M. Hermoso, A. Jiménez, M. Llaverro del Pozo, J. Bernardio, M. Ruano y M. Uceda. 2001. Analistas de almazara. 3ª ed. Ediciones J. de Haro Artes Gráficas, Sevilla, España, 111p.

Gómez-Rico A., G. Fregapane and M. D. Salvador. 2008. Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International* 41: 433 – 440.

Gutiérrez, F., y S. Perdiguero. 1992. Estudio de efectividad de las columnas de Octadecilo C₁₈ en la evaluación del amargor (K₂₂₅) del aceite de oliva virgen. Error y esquema analítico del método de valoración. *Grasas y aceites* 43 (2): 93-96.

Gutierrez, F., B. Jimenez and A. Ruiz. 1999. Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from varieties "Picual" and "Hojiblanca". *J. Agric. Food Chem.* 47; 121-127.

Gutiérrez - Rosales F., Ríos J. J. and Gómez - Rey M. A. 2003. Main phenols in the bitter taste of virgin olive oil. Structural confirmation by on-line high-performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agr. Food Chem.* 51: 6021-6025.

Hermoso, M., M. Uceda, L. Frías y G. Beltrán. 2001. Maduración. pp.153 – 169. *In*: Barranco, D. Fernández – Escobar R. y Rallo, L. (Ed). El cultivo del olivo. 4ª ed. Ediciones Mundi – Prensa, Madrid, España. 724 p.

Huang, D., B. Ou, and R. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1841-1856.

Jamett F., A. Benavides, H. Troncoso y M. Astorga. 2007. Caracterización de aceites de oliva en zonas de la Región de Coquimbo. 68p. Boletín INIA N°161. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Intihuasi, La Serena, Chile.

Kiritsakis, A. y V. Christie. 2003. Capítulo 6: Análisis de aceites comestibles. pp. 135 -162. *In Aparicio- Harwood. Manual del aceite de oliva.* 1° edición. Editorial A. Madrid Vicente y Mundi Prensa. Madrid, España. 614p.

Macheix, J., A. Fleuriet y J. Billot. 1990. *In*. Barranco, D., Fernández-Escobar, R., L. Rallo. 2004. El Cultivo del olivo. Capítulo 6: Maduración. pp. 162- 1834° ed. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 714p.

Modi, G., F. Nizzi Grifi e P. Fiorino. 1992. Crescita, maturazione dei frutti e caratteri dell'olio in Frantoio e Leccino nel Chianti. Ati del Congreso "Olive oil Quality", Florenca, 1-3 Dezembro, pp. 87-92. *In* Enciclopédia mundial da Oliveira. Conselho Oleícola Internacional. Capítulo 5: Técnicas Agronomicas e Caracteristicas do aceite pp. 197-222. 1998. Primera edición en lengua Portuguesa. Editado por Plaza & Janés Editores, S.A. Barcelona, España. 459pp.

Montedoro G., M. Servili, M. Baldioli and E. Miniati. 1992. Simple and hydrolizable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. their extraction, separation and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1571-1576.

Morales, M.T. and R. Przybylski. 2000. Capítulo 13: Oxidación del aceite de oliva. pp.443-473. *In Aparicio- Harwood. Manual del aceite de oliva.* 1° edición. Editorial A. Madrid Vicente y Mundi Prensa. Madrid, España. 614p.

Morales, M. T. y M. Tsimidou. 2003. Capítulo 12: El papel de los compuestos volátiles y los polifenoles en la calidad sensorial del aceite de oliva. pp. 381- 441. *In Aparicio-Harwood. Manual del aceite de oliva.* 1° edición. Editorial A. Madrid Vicente y Mundi Prensa. Madrid, España. 614p.

Morelló J. R., M. P. Romero y M. J. Motilva. 2004. Effect of the maturation process of the olive fruit on the phenolic fraction of drupes and oils from Arbequina, Farga, and Morrut Cultivars. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 52 (19):6002 – 6009.

Peña-Neira. A., T. Hernández, C. García-Vallejo, I. Estrella and J. A. Suárez, 2000. A survey of phenolic compounds in Spanish wines of different geographical origins. *Eur. Food Res. Technol.* 210: 445-448.

Rotondi, A., A. Bendini, L. Cerretani, M. Mari, G. Lercker and T. Gallina. 2004. Effect of olive ripening degree on the oxidative stability and organoleptic properties of Cv. Nostrana di Brisighella extra virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem* 52: 3649 -3654.

Sepúlveda, E. 1998. Manual de trabajos prácticos de análisis de alimentos. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Publicación docente n° 4. Santiago, Chile. 51p.

Solinas, M. 1987. Analisi HRGC delle sostanze fenoliche di oli vergini di oliva in relazione al grado di maturazione e alla varietà delle olive. *Riv. Ital Sostanze Grasse* 64. pp. 255-262. *In* Aparicio- Harwood. Manual del aceite de oliva. Capítulo 11: Calidad sensorial de los aceites de oliva. 1° edición. Editorial A. Madrid Vicente y Mundi Prensa. Madrid, España. 614p.

Tous, J., A. Romero, J. F. Hermoso y N. Mallén. 2007. Sistemas de producción del olivo en seto. Experiencias en Cataluña. [En línea] disponible en: http://www.agronoms.cat/media/upload/pdf/OlivoJornadasAEMOCCordoba07_editora_241_35.pdf. Leído 25 Agosto 2009.

Troncoso, H., F. Jamett, A. Benavides y M. Astorga. 2006. Caracterización química de aceites de oliva producidos en zonas de la Región de Coquimbo. *Boletín INIA* 153. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Intihuasi, La Serena, Chile, 30p.

Tura, D., C. Gigliotti, S. Pedò, O. Failla, D. Bassi and A. Serraiocco. 2006. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea Europea* L.) and correlations with oxidative stability. *Science Direct. Scientia horticulturae* 112: 108-119.

Tsimidou, M. 1998. Polyphenol and quality of virgin olive oil in retrospect. *Ital. J. Food. Sci.* 10: 99-116.1

ANEXO I

Índice de madurez de Ferreira

Clases

Clase 0: Piel verde intenso.

Clase 1: Piel verde o amarillento.

Clase 2: Piel con manchas rojizas en menos de la mitad del fruto. Inicio de envero.

Clase 3: Piel rojiza o morada en más de la mitad del fruto. Final de envero.

Clase 4: Piel negra y pulpa blanca.

Clase 5: Piel negra y pulpa morada sin llegar a la mitad de la pulpa.

Clase 6: Piel negra y pulpa morada sin llegar al hueso.

Clase 7: Piel negra y pulpa morada totalmente hasta el hueso.

Siendo A, B, C, D, E, F, G, H, el número de frutos de las clases: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, respectivamente. El índice de madurez se obtiene por la siguiente fórmula:

$$I.M. = \frac{A*0 + B*1 + C*2 + D*3 + E*4 + F*5 + G*6 + H*7}{100}$$

Obtención de la muestra

Se toma una muestra de aceitunas de aproximadamente 2 Kg., cogiendo los frutos a la altura del operador y en las cuatro orientaciones del árbol. Una vez homogeneizada la muestra, se separan 100 frutos y se clasifican en las 8 clases o categorías anteriormente descritas. Posteriormente se determina el índice de madurez (I.M.) como la sumatoria de los productos del número de aceitunas de cada clase por el valor del numérico de cada clase, dividido por 100. Este índice de madurez puede aceptar valores entre 0 (todos los frutos de color verde intenso) y el 7 (todos los frutos con piel negra y pulpa morada hasta el hueso) (Hermoso *et al.*, 2001).

ANEXO II

PAUTA ESTRUCTURADA

DEPARTAMENTO DE AGROINDUSTRIA Y ENOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE CHILE

Hoja de perfil Nombre del Catador: _____

Notas olfato gustativas - táctiles N° de la muestra: _____

Fecha: _____

Atributos	Intensidad de Percepción					
	0	1	2	3	4	5
Frutado de aceituna (verde o madura)						
Amargo						
Picante						
Manzana						
Almendra						
Alcachofa						
Tomate (hoja, fruto)						
Hierba recién cortada						
Plátano						
Dulce						
Astringencia						
Verde (hoja o hierba)						
Otros.....						
Agrio/ Avinado/ Avinagrado/ Ácido (*)						
Moho/ Humedad (*)						
Borras/ Turbio (*)						
Rancio						
Otro(s) atributo(s) intolerable(s) ¿Cuáles?.....						

(*) Táchese lo que no proceda.

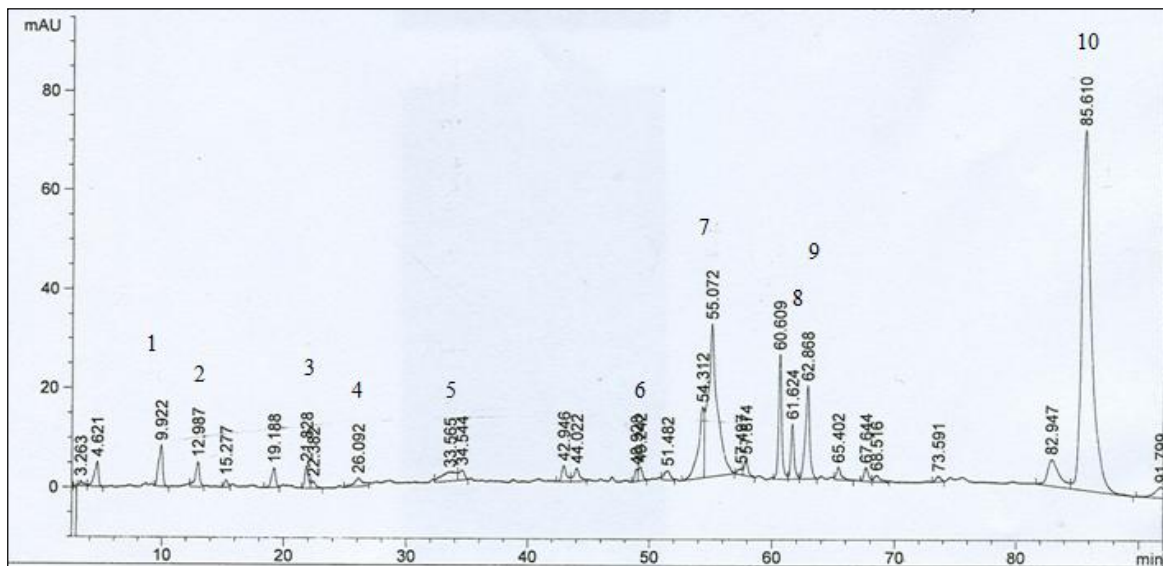
Nota: es obligatorio indicar la ausencia de la nota sensorial marcando con una "X" en la casilla correspondiente.

Observaciones: _____

Intensidad de la percepción
0 Ausencia total
1 Casi imperceptible
2 Baja
3 Media
4 Grande
5 Extrema

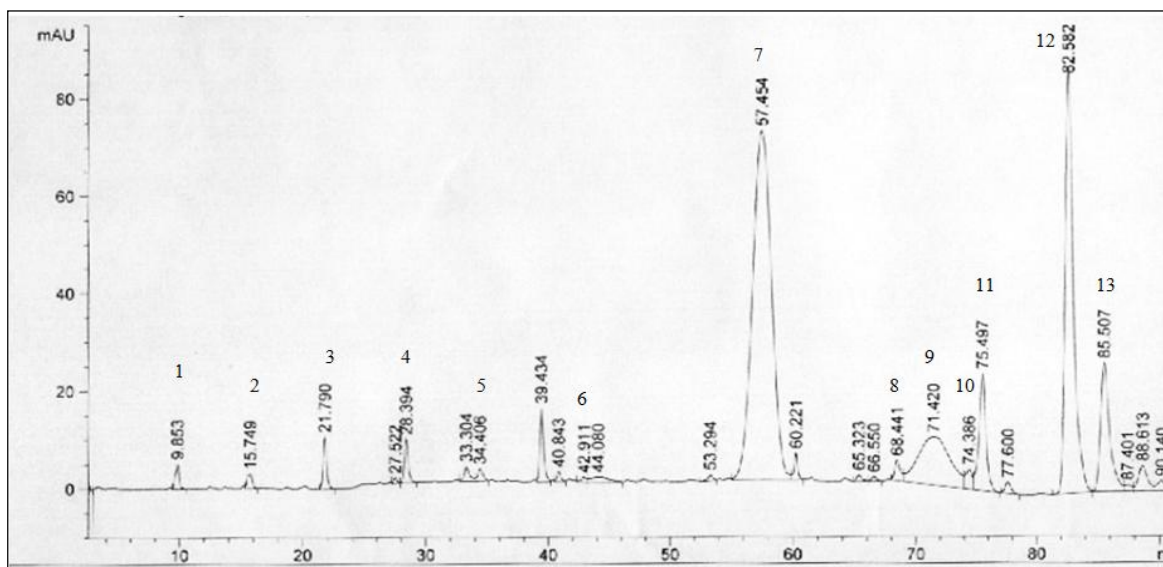
Fuente: Estación de Olivicultura. C.I.F.A. "Venta del Llano" de Mengibar (Jaén), 2001.

APÉNDICE I



Cromatograma polifenoles HPLC extraídos de pulpa de aceituna variedad Arbosana (280 nm)
 (1) Hidroxitirosol, (2) Tirosol, (3) Ác. Vainillínico, (4) Ac. p-cumarico, (5) Procianidina,
 (6) Flavonol 1, (7) Flavonol 2, (8) Derivado Oleuropeina, (9) Flavonol 3, (10) Flavonol 4

APÉNDICE II



Cromatograma Polifenoles HPLC extraídos de aceite de oliva virgen extra var. Arbosana (280 nm)
 (1) Ácido Gálico; (2) Tirosol; (3) Ácido vainillínico; (4) Vainillina; (5) Ácido cinámico; (6) 3,4
 DHPA-EDA; (7) X1 der. Secoiridoide; (8)Secoiridoide; (9) X2 der. Secoiridoide; (10) X3 der.
 Secoiridoide; (11) p-DHPEA-EDA; (12) oleuropeina aglicona; (13) Flavonoide.

APÉNDICE III

Ecuaciones de la recta correspondientes a cada curva de degradación del DPPH

Estado de madurez	Tipo de Molino	
	Martillo	Cuchillo
Clase 1: piel verde o amarillenta	$Y = -0,000112x + 0,685$	$Y = -0,000154x + 0,658$
Clase 2: inicio envero	$Y = -0,000124x + 0,671$	$Y = -0,000125x + 0,656$

APÉNDICE IV

Lecturas del DPPH a 520 nm al tiempo inicial y al DPPH más la muestra de aceite a los 0 y 600 segundos

	Absorvancia a 520nm				
	DPPH	DPPH + Aceite	DPPH + Aceite	Reducción inicial (entre dpph y dpph +aceite 0seg)	Reducción final (entre 0 y 600 seg.)
		0seg	600 seg.		
M. Martillo / E.M. Clase 1	0,917	0,709	0,628	23%	11%
M. Martillos / E.M. Clase 2	0,917	0,697	0,608	24%	13%
M. Cuchillos / E.M. Clase 1	0,917	0,692	0,580	25%	16%
M. Cuchillos / E.M. Clase 2	0,917	0,680	0,589	26%	13%