

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE PREGRADO**

Memoria de Título

**ELABORACIÓN DE UNA PASTA UNTABLE, A PARTIR DEL ALPERUJO DE  
OLIVA**

**FRANCISCA NOEMÍ SEGURA ASTROZA**

**SANTIAGO, CHILE**

**2016**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE PREGRADO**

Memoria de Título

**ELABORACIÓN DE UNA PASTA UNTABLE, A PARTIR DEL ALPERUJO DE  
OLIVA**

**DEVELOPING A SPREADABLE PASTE, FROM OLIVE ALPERUJO**

**FRANCISCA NOEMÍ SEGURA ASTROZA**

**SANTIAGO, CHILE**

**2016**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE PREGRADO**

**ELABORACIÓN DE UNA PASTA UNTABLE, A PARTIR DEL ALPERUJO DE OLIVA**

Memoria para optar a al título profesional de Ingeniera Agrónoma

**FRANCISCA NOEMÍ SEGURA ASTROZA**

| <b>PROFESOR GUÍA</b>                           | <b>Calificaciones</b> |
|--|-----------------------|
| Hugo Núñez K.<br>Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc.   | 6,5                   |
| <b>PROFESORES EVALUADORES</b>                  |                       |
| Cielo Char A.<br>Bioquímico, Mg. Sc. Dr.       | 6,5                   |
| Loreto Cánaves S.<br>Ingeniera Agrónoma, M. S. | 6,3                   |
| <b>COLABORADOR</b>                             |                       |
| Inés Cea P.<br>Ingeniera Agrónoma              |                       |

**SANTIAGO, CHILE**

**2016**

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| RESUMEN.....  | 1  |
| ABSTRACT .....  | 2  |
| INTRODUCCIÓN .....  | 3  |
| Objetivo General .....  | 7  |
| Objetivos específicos.....  | 7  |
| MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 8  |
| Lugar de trabajo.....   | 8  |
| Materiales .....  | 8  |
| Materia prima.....  | 8  |
| Ingredientes para la fomulación de la pasta de alperujo.....  | 8  |
| Equipos .....   | 8  |
| Métodos.....  | 9  |
| Etapa 1. Ajuste del amargor.....  | 9  |
| Obtención de la pulpa de alperujo.....  | 9  |
| Disminución del amargor .....   | 10 |
| Etapa 2.Determinación de la formulación de la pasta de alperujo.....  | 13 |
| Determinación de la pulpa de alperujo reducida en amargor a utilizar.....                                       | 13 |
| Determinación del tipo de aceite a utilizar .....   | 13 |
| Etapa 3.Optimización de la formulación de la pasta untable de alperujo.....                                     | 15 |
| Etapa 4.Caracterización de la pasta de alperujo optimizada y comparación con una pasta de alperujo control..... | 17 |
| RESULTADO Y DISCUSIÓN.....  | 19 |
| Etapa 1. Ajuste del amargor .....   | 19 |
| Obtención de la pulpa de alperujo .....   | 19 |
| Caracterización del alperujo.....   | 19 |
| Caracterización de la pulpa de alperujo.....  | 20 |
| Disminución del amargor.....  | 21 |
| Determinación de los polifenoles totales.....   | 21 |
| Análisis sensorial.....   | 22 |
| Etapa 2.Determinación de la formulación de la pasta de alperujo.....  | 24 |
| Determinación de la pulpa de alperujo reducida en amargor a utilizar.....                                       | 24 |
| Determinación del tipo de aceite a utilizar .....   | 29 |
| Etapa 3.Optimización de la formulación de la pasta untable de alperujo.....                                     | 30 |
| Optimización de respuesta múltiple .....  | 31 |
| Etapa 4.Caracterización de la pasta de alperujo optimizada y comparación con una pasta de alperujo control..... | 33 |
| CONCLUSIONES .....  | 41 |
| BIBLIOGRAFIA .....  | 42 |
| APÉNDICES.....  | 51 |

## RESUMEN

El aumento en superficie plantada y toneladas producidas, de la industria olivícola nacional, ha traído como consecuencia un incremento de la generación de residuos, los cuales en un 76% corresponde a alperujo, residuo de la centrifugación de dos fases del aceite de oliva. Este residuo tiene efectos fitotóxicos si se aplica directamente al suelo, originado por la alta concentración de polifenoles que contiene. Actualmente, el uso de sus polifenoles con propiedades funcionales y farmacológicas tiene una ocupación incipiente, generando una buena oportunidad de uso de este residuo, como un subproducto alimenticio, buscando en este estudio, elaborar una pasta untable a partir del alperujo de la producción de aceite de oliva de la variedad arbequina.

El estudio se dividió en 4 etapas: en una primera etapa, el alperujo, tuvo que ser despulpado y tamizado, para extraer el carozo presente. La pulpa de alperujo, se lavó con agua destilada en diferentes proporciones de pulpa:agua, originando 6 tratamientos: pulpa de alperujo, 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 y 1:4, con la finalidad de disminuir el amargor originado por la oleuropeína y sus derivados, reflejándolo en valores de polifenoles totales, aceptabilidad y amargor sensorial, además de evaluar la calidad de los tratamientos. En una segunda etapa, se formularon los 6 tratamientos añadiendo aceite de oliva, sal y ácido láctico, usando una pasta de aceitunas de referencia, escogiendo al tratamiento 1:1 por su aceptabilidad, disminución del amargor sensorial y su alto contenido de polifenoles. Se formularon 2 pastas usando la pulpa escogida (1:1) con aceite de oliva o aceite de canola, añadiendo a su vez conservantes, lecitina de soya, sal y ácido láctico; se cambió la textura, homogeneizando la formulación con ultraturrax por 15 min a 24000 rpm, y se comparó la aceptabilidad de estas 2 formulaciones con una pasta de aceitunas comercial, siendo escogida la pasta de alperujo con aceite de oliva. En una tercera etapa, se realizó un diseño de mezclas “Simplex Centroid cúbico especial”, optimizando la formulación de la pasta, con una matriz variable de 3 ingredientes, que representa el 97,37% de la formulación: pulpa de alperujo, agua destilada y aceite de oliva, con 3 variables respuesta, buscando maximizar el contenido de polifenoles y aceptabilidad y minimizando el contenido de aceite. Se evaluó la respuesta múltiple, que arrojó una formulación óptima de 79,25% de pulpa, 12,6% de aceite de oliva y 5,52% de agua. Finalmente en la cuarta etapa, la pasta untable de alperujo óptima, se caracterizó química, física, funcional y sensorialmente y se comparó con una pasta de alperujo control.

La pasta untable de alperujo optimizada tuvo un menor contenido de lípidos, y un mayor contenido de extracto no nitrogenado respecto a la pasta control. Obtuvo una mayor aceptabilidad, un menor contenido de polifenoles pero una alta capacidad antioxidante. Mantuvo el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble, obteniendo así un alimento funcional, que tiene beneficios en el organismo, gracias a su alta capacidad antioxidante, alto contenido de polifenoles totales y a su alto contenido de fibra dietética.

**Palabras claves:** pasta untable, alperujo, amargor, diseño de mezclas, aceptabilidad

## ABSTRACT

The national increase in the planted area of olive tree as much as the tons produced by this industry has an important increment in the waste production. 76 % belongs to Alperujo which is coming from the centrifugation of two phases of the olive oil. This residue has phytotoxics effects when it is applied directly to the soil, Because it contains a high polyphenols concentration. Currently the utilization of polyphenols with functional or pharmacological properties, has an incipient use, creating a good opportunity to use this residue, as a food product, the main purpose of this study is to develop a spreadable paste made with alperujo coming from the production of Arbequina olive oil.

The study was divided into four phases: in a first stage, the alperujo, had to be pulped and sieved to remove this pit. Alperujo's pulp was washed with distilled water in different proportions of pulp: water, resulting 6 treatments: alperujos's pulp, 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 and 1:4, with the aim of reducing the bitterness caused by the oleuropein and its derivatives, and reflect values of total polyphenols, acceptability and sensory bitterness, besides to evaluate the quality of treatment. In a second phase, the 6 treatments adding oil, salt and acid were formulated using a reference olive paste, choosing the 1:1 treatment by its acceptability, decreased bitterness sensory and high polyphenol content. Two pastes were made, using the chosen pulp proportion (1:1) with olive oil or canola oil, adding preservatives, soy lecithin, salt and lactic acid; texture was changed, homogenizing the formulation with ultraturrax for 15 min at 24000 rpm, and acceptability of these two formulations was compared with a commercial olive paste, being chosen alperujo paste with olive oil. In a third stage, a mix design "Simplex Centroid special cubic" was performed, optimizing the formulation of alperujo paste, with a variable matrix of 3 ingredients, which represents 97.37% of the formulation: alperujo pulp, distilled water and olive oil, with 3 response variables, intending to maximize the polyphenol content and acceptability and minimizing oil content. Evaluated multiple response, wich casts an optimal formulation of 79.25% pulp, 12.6% of olive oil and 5.52% water was evaluated. Finally in the fourth stage, the optimal spreadable alperujo paste was characterized chemically, physically, functionally and sensory ,and after that it was compared with the alperujo control paste.

The spreadable optimized alperujo paste had a lower lipid content and higher ENN content respect to the control pulp. It obtained higher acceptability, lower polyphenol content but a high antioxidant capacity. It kept total, insoluble and soluble dietary fiber content, thus obtaining a functional food, which has a number of benefits in the body, due to its high antioxidant capacity, high total polyphenol content and high content of dietary fiber.

Keywords: spreadable paste, alperujo, bitter taste, mix design, acceptability

## INTRODUCCIÓN

Al evaluar el mercado del aceite de oliva en Chile, se puede señalar que hace un par de décadas atrás la oferta disponible de este producto estaba constituida fundamentalmente por aceites importados, específicamente españoles e italianos. Hoy esa situación ha cambiado radicalmente, siendo los aceites chilenos los que abundan en el mercado nacional (Mora *et al.*, 2013).

De acuerdo a lo que señala Pefaur (2015), la superficie plantada de olivos en Chile ha aumentado más de 100% en los últimos ocho años, que actualmente presenta 25.000 hectáreas plantadas, y se estima que seguirá creciendo, pero a una menor tasa. La producción de aceite de oliva registrada para el año 2015 alcanzó 18.000 toneladas, señalando que la producción aumentó en un 20% con respecto al año 2014 (Chileoliva, 2015). A su vez, las exportaciones chilenas de aceite de oliva han aumentado tanto en volumen como en valor, pasando de US\$5,5 millones en 2008 a US\$41,5 millones en 2014, representando un aumento del 649% (Pefaur, 2015). De la superficie total plantada de olivos, el 75% están destinadas a la producción de aceite de oliva, siendo la variedad Arbequina la más usada en Chile, que corresponde al 70 % del total (Centro de competitividad del Maule, 2010)

El aceite de oliva se posiciona de manera creciente en el campo de los alimentos, como una de las opciones más sanas entre los aceites comestibles, presentando beneficios para la salud, gracias a su alto contenido de ácido oleico, vitamina E y polifenoles, que tienen la capacidad de proteger el ADN del ataque oxidativo e inhibir la activación de células cancerígenas, mejorando con estas propiedades las expectativas de vida, disminución de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Mataix, 2009). Actualmente el consumo local de aceite de oliva ha ido en aumento, fuertemente potenciado por una preferencia de los chilenos a consumir dietas balanceadas y sanas, esperando que pronto Chile alcance y supere los 700 gramos per cápita/año (Pefaur, 2015). La creciente popularidad de la dieta mediterránea, basada en el consumo de aceite de oliva, se debe a la gran cantidad de estudios epidemiológicos que muestran cómo la incidencia de enfermedades coronarias es más baja; existiendo actualmente un enorme interés científico en la identificación de sus propiedades protectoras contra el cáncer; señalando que tipos de cáncer como: colorrectal, de mama, próstata, páncreas y endometrio podrían prevenirse mediante un cambio hacia una dieta sana (Polzonetti *et al.*, 2004; Parisi *et al.*, 2014; López-Miranda, 2010, citado por Fernández Bolaños *et al.*, 2013)

El rendimiento de aceite de oliva corresponde a un 20% del total procesado, generando entonces, un 80% de residuos agroindustriales (Albuquerque *et al.*, 2004), lo que en conjunto con el alza en producción del área olivícola en Chile, trae consigo un aumento en la cantidad de residuos de la agroindustria. Los residuos olivícolas generados, dependen del método de extracción del aceite, que puede ser de dos modos: mediante centrifugación de 3

fases o mediante un sistema de centrifugación de 2 fases; generando como residuos el alpechín y orujo y, alperujo respectivamente. El orujo corresponde a la parte sólida formada por carozo, piel y pulpa de aceituna, con un 50% de humedad aproximadamente y el alpechín, corresponde a la parte líquida del residuo, que incluye el agua del fruto de oliva y el agua agregada en el proceso de extracción del aceite. El alperujo por otro lado, corresponde a una mezcla de alpechín y orujo, al cual no se le añade agua externa, y tiene un 75% de humedad aproximadamente (Albuquerque *et al.*, 2004). En Chile, el sistema de extracción predominante es el sistema de dos fases, con un 76% del total de almazaras o plantas de extracción de aceite, utilizando este método (Cortés y Sudy, 2012).

En la actualidad, las técnicas aplicadas para manejar y valorizar el alperujo, como un subproducto de la agroindustria olivícola, corresponden a secado natural en cancha para valorización térmica en calderas de biomasa, ya que seco se puede utilizar como combustible para la cogeneración de energía eléctrica y térmica por combustión ya que presenta un poder calorífico de 4000 kcal/kg (Gil, 2015; Caputo *et al.*, 2003, citado por Usaquen, 2008); pelletizado para alimentación animal (Brozzoli *et al.*, 2010; Valiente *et al.*, 1995, citado por Dermeche *et al.*, 2013), fertilizante para el suelo estabilizando el alperujo mediante procesos de compostaje (Albuquerque *et al.*, 2006; Albuquerque *et al.*, 2007, Martínez, 2004). El alperujo no puede aplicarse directamente al suelo, debido a su alto contenido de humedad y diversas propiedades físicas y químicas que impiden su incorporación directa al suelo; destacando la presencia de elementos fitotóxicos como los polifenoles hidrosolubles; una elevada relación carbono/nitrógeno, un alto contenido de sales solubles y elevado contenido de aceite (Albuquerque *et al.*, 2006; Martín *et al.*, 2002; Cabrera *et al.*, 2002, citado por Usaquen, 2008). Actualmente, se ha iniciado la investigación acerca de las propiedades biológicas de los compuestos fenólicos del alperujo (Lafka *et al.*, 2014; Gil, 2015). El alperujo parece ser una accesible y abundante fuente de sustancias fenólicas biológicamente activas que tienen un prometedor potencial como antioxidante, antiinflamatorio y un agente antimicrobiano (Dermeche *et al.*, 2013).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios en las plantas que están involucrados en el crecimiento y reproducción de las plantas, en la protección de las células contra la foto-oxidación por la luz ultravioleta, antibióticos, pesticidas naturales o responsables de la resistencia a enfermedades (Ávalos y Pérez, 2009; Shahidi y Nazk, 2004, citado por Porrás-Loaiza y López-Malo, 2009). Estos compuestos contienen propiedades antioxidantes que protegen el aceite de oliva de la autooxidación. La acción antioxidante retrasa o inhibe la oxidación de lípidos u otras moléculas mediante la inhibición de la iniciación o propagación de reacciones de oxidación, la cual se debe principalmente a sus propiedades redox y la capacidad que tienen estas moléculas para introducirse en una cadena oxidativa y eliminar los radicales libres, neutralizando la reacción (Zheng y Wang, 2001).

Por consiguiente, al analizar la información, en ningún planteamiento actual, se aborda la idea de incorporar de manera directa este subproducto a la cadena alimentaria de la industria, como un alimento, resultando por ello, una idea innovadora la de realizar una

pasta untable de alperujo para consumo alimenticio. Para ello, se utilizará el alperujo de Arbequina, que corresponde a la variedad más usada en Chile.

Para la elaboración de este producto, el problema más significativo es el amargor natural del fruto del olivo, originado por los polifenoles que posee. Los principales compuestos fenólicos que se generan durante la molienda y extracción del aceite de oliva, derivan de la oleuropeína y del ligustrósido (Montaño, 2016). Formas aldehídicas y dialdehídicas de la oleuropeína aglicona y formas dialdehídicas de la aglicona del ligustrósido están estrechamente relacionados con la evaluación sensorial del atributo amargo (Gutiérrez *et al.*, 2003 citado por Montaño, 2016; García *et al.*, 2001). La oleuropeína, un polifenol glucosilado formado por tres moléculas: hidroxitirosol, glucosa y ácido elenólico, sólo se encuentran en las plantas que pertenecen a la familia Oleaceae, que incluye *Olea europea L.* (Torrecilla, 2000).

La metodología utilizada en aceitunas de mesa, para hacerlas adecuadas al consumo, para disminuir el amargor natural del fruto, tradicionalmente se ha efectuado a través de una solución diluída de hidróxido de sodio, que produce la hidrólisis alcalina de la oleuropeína; generando compuestos no amargos como son el hidroxitirosol y el ácido elenólico glucosilado, siendo muy efectivo y muy utilizado. Sin embargo, el uso del hidróxido de sodio es un proceso industrial altamente nocivo para el ambiente, debido a las aguas residuales con alto contenido de este componente y la elevada cantidad de sólidos orgánicos disueltos que contaminan el suelo y las aguas subterráneas (Heredia *et al.*, 1991; Jaramillo *et al.*, 2011). Actualmente se han implementado métodos alternativos al lavado con NaOH para las aceitunas de mesa, lavando con agua las aceitunas, con la finalidad de disminuir el amargor de las aceitunas. Por un lado, Unala y Nergiz (2003), señala que dejar en reposo aceitunas de mesa durante 40 días, cambiando el agua 2 veces por semana, disminuye el amargor de las aceitunas y; por otro lado, Savas y Uylaser (2013) señala que al sumergir las aceitunas de mesa en agua para disminuir el amargor de éstas, existe una disminución en la absorbancia de las aceitunas a medida que aumenta el tiempo de exposición al lavado con agua.

La oleuropeína, causante del amargor en los frutos, tiene un rol cardioprotector y neuroprotector en el organismo (Haris, 2010; Ryan, 2001); previene la arteriosclerosis, gracias a la acción protectora sobre la oxidación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) en las paredes vasculares (Coni *et al.*, 2000) y, en conjunto con su derivado, el hidroxitirosol, tienen un rol citostático y antiangiogénico en diferentes tipos de tumores (Carrera-González *et al.*, 2013). Se ha estudiado, que el hidroxitirosol, es uno de los principales compuestos fenólicos presentes en la oliva y se ha revelado ser el más interesante, debido a su notable actividad farmacológica y antioxidante (Fernández-Bolaño *et al.*, 2006), es conocido por su elevada capacidad para frenar el estrés oxidativo y neutralizar los radicales libres, como actividades biológicas, tales como antiagregante plaquetario, antioxidante de las lipoproteínas LDL e inhibidor de las lipooxigenasas (implicadas en el proceso inflamatorio), así como capacidad para inducir apoptosis en células (De la Fuente, 2004; Ramos *et al.*, 2013), razón por la cual se potencia el uso del alperujo, con un alto valor agregado, como un alimento para una dieta saludable con el fin

de prevenir diversas patologías, entrando en la categoría de un excelente alimento funcional.

Los alimentos funcionales son aquellos que proporcionan un efecto beneficioso para la salud, además de sus contenidos de nutrición básica (Vidal y Díaz, 2009). Paralelo a ello, el International Life Science Institute (1999, citado por Cadaval *et al.*, 2005) estableció que un “alimento funcional es aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto añadido por encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable”. Para el caso del interés de este estudio, y las características benéficas que tienen los polifenoles presentes en el alperujo, que al incluirlo en un alimento, potencia la elaboración de una pasta untable de alperujo.

El problema de la eliminación o utilización del residuo olivícola alperujo, no se ha resuelto por completo, y es necesaria la investigación de nuevos procedimientos tecnológicos que permitan su uso rentable y, tras la información antes señalada, es potencialmente un buena materia prima para la elaboración de una pasta untable.

### **Objetivo general**

Elaborar una pasta untable a partir del alperujo de oliva

### **Objetivos específicos**

- Evaluar un tratamiento para disminuir el amargor en la pulpa de oliva.
- Caracterizar química, física y sensorialmente una pasta untable realizada a partir del alperujo de oliva.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Lugar de estudio**

El lugar de realización del estudio fue en el Laboratorio de Ingredientes Funcionales y el Laboratorio de Evaluación Sensorial del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

### **Materiales**

#### **Materia prima**

Se utilizó alperujo de la variedad Arbequina, subproducto de la elaboración de aceite de la planta piloto de aceite de oliva del Departamento de Agroindustria y Enología. El material se fraccionó en pulpa, carozo y piel, para el uso específico de la pulpa de éste.

#### **Ingredientes para formular la pasta de alperujo**

- Agua destilada
- Aceite de canola, 100% aceite vegetal de canola, marca Belmont
- Aceite de Oliva, extra virgen, marca Trattoria
- Biosal
- Lecitina de soya
- Conservantes (Sorbato de potasio y Benzoato de sodio), Droguería Michelson

#### **Equipos**

- Despulpadora de fruta rotatoria, marca Boslo.
- Colorímetro modelo CR-200b, marca Minolta
- Malla de acero inoxidable, tamiz de 1 mm
- Ultra-turrax modelo T 18, marca IKA
- Shaker orbital modelo OS-200, marca Aosheng
- Espectrofotómetro, marca Optizen Pop
- Extractor Soxhlet, serie 4855
- Horno mufla JSR, modelo JSMF-30T, Korea

- pHmetro modelo PL-600, marca Ezodo
- Balanza analítica, marca Belltronic Scales
- Higrómetro LUFFT, modelo 5803
- Estufa, modelo VT 6025 Heraeus, marca Thermo, Alemania
- Centrífuga, modelo D-78532 Zentrifugen, marca Hettich, Alemania

## **Método**

### **Etapas 1. Ajuste del amargor**

**Obtención de la pulpa de alperujo.** El alperujo, se sometió al proceso del despulpado, con un tamiz de 2 mm, para separar el carozo de la pulpa y la piel. En este proceso, al quedar restos de carozos, menores a 2 mm, que atravesaron el tamiz, se tamizó manualmente con un tamiz de 1 mm. De este modo, se obtuvo la pulpa de alperujo, el cual fue el material que se utilizó para obtener la pasta untable de alperujo.

Se caracterizó el alperujo y la pulpa de alperujo obtenida en este proceso, mediante los siguientes análisis:

### **Caracterización física**

- Humedad y sólidos totales: Determinado según el método descrito por Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1990).

### **Caracterización química**

- Lípidos: Medido por el método definido por AOAC (1990).
- Proteínas: Determinado por el método de Micro-Kjeldahl, definido por AOAC (1990).
- Cenizas: Evaluado según el método de incineración seca, descrito por AOAC (1990).
- Extracto no nitrogenado (ENN): Obtenido por diferencia de la caracterización física y química antes mencionada.

### Caracterización funcional

- Polifenoles totales: Se determinó con un análisis espectrofotométrico a 765 nm. Y se usó como método el Índice Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton *et al.* (1999).
- Capacidad antioxidante: Método espectrofotométrico (DPPH) desarrollado por Brand-Williams *et al.* (1995).
- Fibra dietética: Analizado mediante el método gravimétrico y enzimático Buffer MES-TRIS, descrito por Lee y De Vries (1992).

**Disminución del amargor.** La pulpa de alperujo, fue lavada con agua destilada para disminuir el amargor de la pulpa (Figura 1). La oleuropeína, molécula que origina el amargor en el alperujo, es soluble en agua (Ozdemir *et al.*, 2014). En base a este antecedente, se han realizado diferentes estudios en aceitunas de mesa que utilizan el agua potable, para disminuir el amargor de las aceitunas. Unala y Nergiz (2003), señalan que para disminuir el amargor de aceitunas de mesa tipo Kalamata, se dejan en reposo las aceitunas en agua, durante 40 días, cambiando el agua 2 veces por semana, para disminuir así, el amargor de las aceitunas. Otro estudio señala una disminución de la absorbancia de la oleuropeína y su derivado, el hidroxitirosol, luego de sumergir las aceitunas en agua potable durante 33 días (Savas y Uylaser, 2013). En este estudio, no se necesitó un tiempo extenso para el lavado de estos compuestos fenólicos, ya que la piel no es una barrera de penetración del agua y la pulpa está directamente expuesta al lavado.

**Procedimiento:** Los lavados se realizaron en diferentes proporciones de agua destilada y de pulpa de alperujo, obteniendo así 6 tratamientos, mediante ensayos previos (Cuadro 1). Con este proceso, a medida que aumente la proporción de agua, se laven un mayor contenido de compuestos fenólicos que causan el amargor, principalmente oleuropeína (Figura 1).

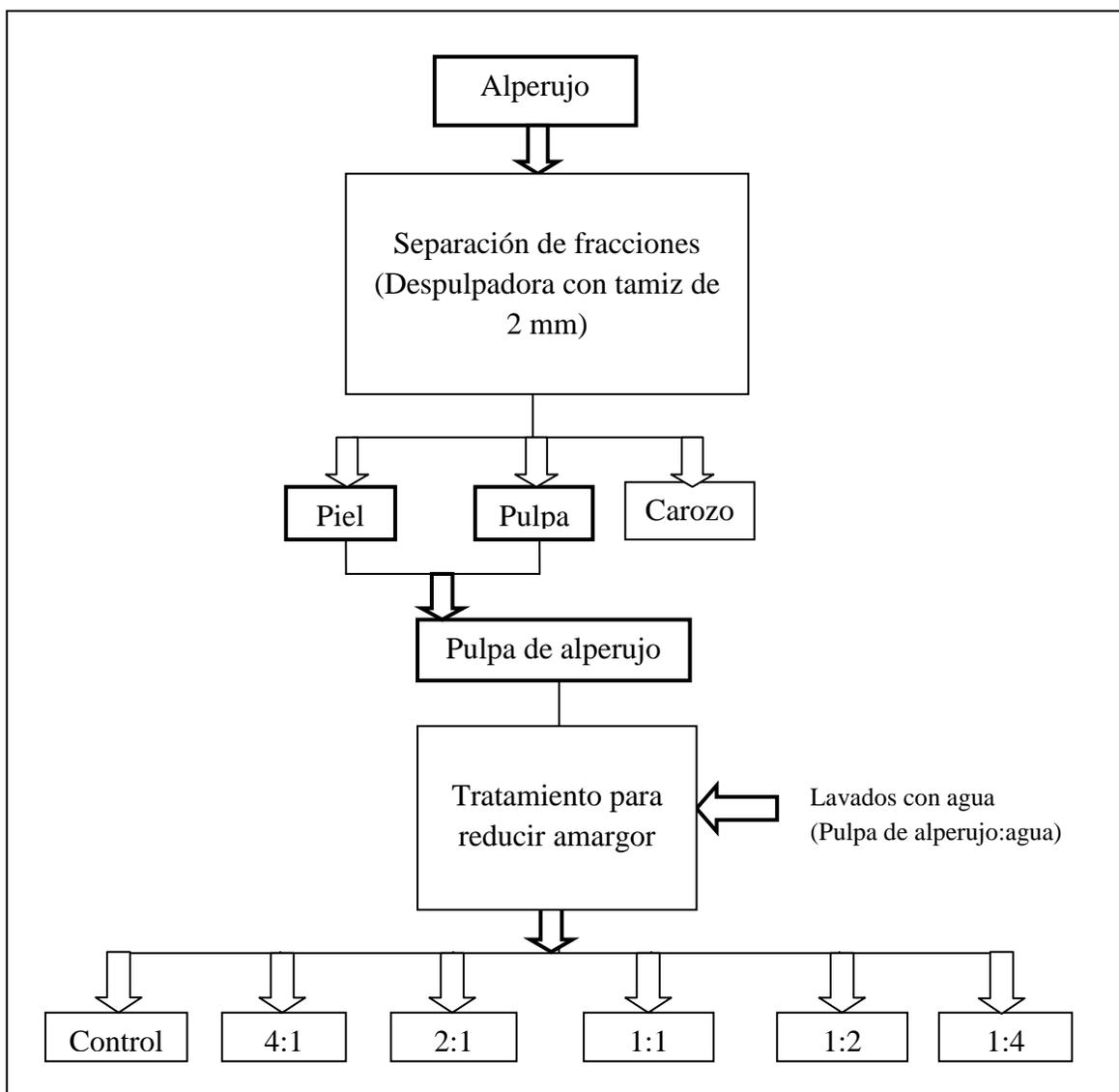


Figura 1. Línea de flujo Reducción del amargor en el alperujo

Para cada tratamiento, se pesó la pulpa de alperujo y el agua de manera independiente, se mezclaron en su proporción determinada, agitándose durante 1 minuto en el shaker orbital, marca Aosheng OS-200, a 130 rpm, en un matraz erlenmeyer de 500 ml. Posterior a ello, se centrifugó cada tratamiento, a diferentes rpm, por 15 minutos, para que contengan todos los tratamientos la misma humedad, ya que a medida que aumentaba la proporción de agua, una menor cantidad de sólidos estaba en suspensión, y se necesitan mayores rpm para precipitar la pulpa de alperujo y poder sacar el agua (condición evaluada mediante ensayos previos) (Cuadro 1), quitando luego de la centrifugación, el agua sobrenadante.

Cuadro 1. Lavados con agua destilada

| Tratamientos | Proporción pulpa de alperujo: agua    | Rpm  |
|--------------|---------------------------------------|------|
| 1            | Control o pulpa de alperujo sin lavar | -    |
| 2            | 4:1                                   | 3000 |
| 3            | 2:1                                   | 3500 |
| 4            | 1:1                                   | 4000 |
| 5            | 1:2                                   | 4500 |
| 6            | 1:4                                   | 5000 |

Se analizaron los seis tratamientos según el contenido de polifenoles totales, aceptabilidad sensorial y seis atributos de calidad: acidez, salado, astringencia, aceitosidad, arenosidad y amargor (atributos definidos por un focus group en pruebas previas).

**Polifenoles totales:** Se determinó de acuerdo a la metodología mencionada anteriormente.

**Análisis sensorial:** Mediante un panel entrenado de 12 personas, para obtener una caracterización técnica de las muestras a evaluar, utilizando el método de análisis descriptivo cuantitativo (QDA) (Lawless y Heymann, 1998). Paralelo a ello, se realizó un focus group, para definir los atributos técnicos de calidad a utilizar para evaluar las muestras y además, se definieron las evaluaciones sensoriales a realizar posteriormente, para evaluar el comportamiento de los tratamientos. Se determinó que para definir los atributos sensoriales de todo el estudio, como un valor alto, debe estar  $> 7,5$ cm, y por el contrario, un valor bajo, se señalará como  $\leq$  a 7,5cm.

**Diseño experimental y análisis estadístico:** Para el contenido de polifenoles totales, se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 6 tratamientos y 3 repeticiones. Para el análisis sensorial, se realizó una evaluación sensorial de los 6 tratamientos, que se analizó con un Diseño en Bloque Completamente Aleatorizado (DBCA), con un panel entrenado de 12 personas, donde se analizaron, en una pauta de calidad de 0-15 cm, los siguientes 6 atributos: acidez, salado, astringencia, aceitosidad, arenosidad y amargor; y una pauta de aceptabilidad, con una escala hedónica de 0-15cm (Apéndice V y VI).

Los tratamientos fueron sometidos a un ANDEVA para cada uno de los parámetros a medir, para evaluar si existen diferencias significativas. Si hubo diferencias ( $p$  valor  $> \alpha$ ), se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Se utilizó el programa Statgraphics 5.1. plus para el análisis de datos. La unidad experimental fueron 100 g de pulpa de alperujo.

## **Etapla 2. Determinación de la formulación de la pasta untable de alperujo**

**Determinación de la pulpa de alperujo reducida en amargor a utilizar.** Se evaluaron los 6 tratamientos anteriores en una segunda evaluación sensorial, considerando las condiciones de aceitosidad, acidez y salado de una pasta untable de aceitunas comercial, marca BUKA (con aliños, sin conservantes) usada como referencia (Apéndice I); la cual tiene una mayor participación en el mercado, estando presente actualmente en diversas cadenas de supermercados como Líder, Jumbo y Tottus. Esta evaluación midió los mismos atributos de calidad antes mencionados y la aceptabilidad (Apéndice V y VI). Se midió también, el contenido de polifenoles totales de los 6 tratamientos, tal y como se señala en la Etapa 1. Se asoció la aceptabilidad y el amargor, con el contenido de fenoles totales de cada tratamiento, y se determinó cual es el tratamiento óptimo, a través de la mayor aceptabilidad, menor percepción de amargor y mayor contenido de fenoles totales.

**Determinaciones analíticas:** Se caracterizó la pasta de aceitunas comercial y las pulpas de alperujo en cuanto al contenido de humedad, lípidos y acidez. La acidez, se determinó utilizando la metodología de acidez titulable de acuerdo a lo descrito en AOAC (1995), expresando el resultado en porcentaje de ácido láctico. Para el salado, se usó sal reducida en sodio en un 50%, marca biosal, la cual se añadió en una cantidad de 0,8%, respetando los límites máximos de la nueva ley 20.606 de etiquetado de los alimentos (Decreto N° 13, 2015). Los ingredientes utilizados: aceite de oliva, sal y ácido láctico, se pesaron, se añadieron a la pulpa de cada tratamiento y se agitaron con un batidor manual.

**Diseño experimental y análisis estadístico:** Se realizó como se describió en la etapa anterior.

**Determinación del tipo de aceite a utilizar.** Mediante el uso de 2 tipos de aceites: aceite de oliva y aceite de canola, en la formulación junto a la pulpa de alperujo elegida anteriormente, se realizó una tercera evaluación sensorial, que midió los mismos 6 atributos de calidad y la aceptabilidad señalada en el Apéndice (V y VI). Se incluyó en la evaluación sensorial, una pasta de aceitunas negras, marca Huascoliva (Apéndice II), para tener un punto de referencia con el cual evaluar y comparar la tendencia de las diferentes variables de las 2 formulaciones con diferente tipo de aceite.

**Procedimiento:** Para formular las pastas de alperujo, se utilizó como referencia, las condiciones de la pasta de aceitunas negras, marca HuascOliva (Apéndice II), con la finalidad de tener una pasta de referencia con una coloración similar, respecto a las pastas de alperujo y, además, que tenga la incorporación de conservantes en su composición, que permite el almacenamiento por un periodo prolongado. Además se utilizó como referencia la acidez de la pasta de aceitunas respecto a las pastas de alperujo. Los conservantes se añadieron en una dosis de 2g/kg de benzoato de sodio y 1g/kg de sorbato de potasio, los cuales tienen como finalidad, evitar que la población microbiana afecte la calidad del alimento durante el almacenamiento (Tortora *et al.*, 1993; citado por Schwartz *et al.*, 2009).

Respecto del contenido de aceite, sal y kilocalorías, se utilizó como referencia el límite máximo que fija la nueva ley 20.606 de etiquetado de los alimentos para cada uno de ellos, que puso restricciones en el contenido de energía, sodio, azúcares y grasas saturadas de un alimento (Cuadro 2). El uso de esta referencia, tiene como objetivo, cumplir con la condición un alimento saludable y no tener el símbolo de advertencia que señale “exceso en”.

Cuadro 2. Ley 20.606 de etiquetado de los alimentos

| Normativa de etiquetado de alimentos    | <b>Energía (Kcal/100g)</b> | <b>Sodio (mg/100g)</b> | <b>Azúcares (g/100g)</b> | <b>Grasas saturadas (g/100g)</b> |
|---|----------------------------|------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| Límites permitidos en alimentos sólidos | 275                        | 400                    | 10                       | 4                                |

Fuente: Decreto N° 13, 2015.

Se añadió finalmente lecitina de soya a la formulación, en una cantidad de 0,7g/100g (Cuadro 3), como lo señala la ficha técnica del producto, con el objetivo de unir la fracción agua-aceite, que actúe como agente humectante y emulsificante y forme una mezcla homogénea (Gennaro 2003, citado por Medina, 2013). Los ingredientes se pesaron de manera independiente, en una balanza analítica, marca Belltronic Scales y se mezclaron con Ultra-turrax, modelo T18 basic, marca IKA, a 24.000 rpm por 5 minutos de agitación para cada formulación, tal como lo señala el método usado por Ruiz-Márquez *et al.* (2010), con la finalidad de unir todos los ingredientes y cambiar la textura de la pasta untable de alperujo.

Cuadro 3. Ingredientes de la formulación de la pasta

| <b>Formulación Pasta untable de alperujo con aceite de Canola u Oliva</b> | <b>g/100g</b> |
|---|---------------|
| Pulpa de alperujo 1:1   | 71,37         |
| Aceite  | 26            |
| Sal reducida en sodio en un 50% (marca Biosal)                            | 1,6           |
| Lecitina de soya  | 0,7           |
| Sorbato de potasio  | 0,2           |
| Benzoato de sodio   | 0,1           |
| Ácido láctico   | 0,03          |
| Agua destilada  | 0             |

Al término de esta tercera evaluación sensorial, se entregaron galletas tipo “cracker”, para comerlas junto a las 3 muestras: pasta de aceitunas negras marca Huascoliva, pasta de

alperujo con aceite de oliva y pasta de alperujo con aceite de canola; con la finalidad de evaluar la aceptabilidad de las 3 muestras, consumiéndolas como aperitivo, que es su forma usual de consumo (Apéndice III) y comparar si existiera algún cambio en la aceptabilidad, respecto a las pastas evaluadas sin galleta.

**Diseño experimental y análisis estadístico:** La evaluación sensorial de los 3 tratamientos se analizó con un Diseño en Bloque Completamente Aleatorizado (DBCA), con un panel entrenado de 12 personas, para obtener una caracterización técnica de las muestras a evaluar, midiendo los mismos atributos señalados en las evaluaciones anteriores y mediante el mismo análisis.

### **Etapas 3. Optimización de la formulación de la pasta untable de alperujo**

Para la optimización final de la pasta untable de alperujo, se realizó un diseño de mezclas. La formulación se dividió en una matriz fija de 2,63% (sal reducida en sodio en un 50% (marca Biosal), lecitina de soya, benzoato de sodio, sorbato de potasio y ácido láctico) y una matriz variable de 97,37% (pulpa de alperujo, aceite de oliva y agua destilada).

Se definieron los niveles máximos y mínimos a utilizar en la optimización de la mezcla, para los 3 ingredientes de la matriz variable a utilizar (Cuadro 4).

Cuadro 4. Niveles máximos y mínimos de la matriz variable

| <b>Matriz variable</b> | <b>Mínimo</b> | <b>Máximo</b> |
|------------------------|---------------|---------------|
| Pulpa de alperujo      | 71,37         | 89,37         |
| Aceite de oliva        | 8             | 26            |
| Agua destilada         | 0             | 18            |

**Diseño experimental y análisis estadístico.** Se utilizó un diseño de mezclas Simplex Centroid cúbico especial, con la matriz variable de 3 ingredientes: Pulpa de alperujo, aceite de oliva y agua. La optimización se obtuvo a través de la metodología de superficie respuesta, maximizando las variables respuesta aceptabilidad sensorial y polifenoles totales y minimizando el contenido de aceite; buscando que de este modo, la pasta untable de alperujo disminuya el aporte calórico y de grasas totales y contenga un alto contenido de compuestos antioxidantes. La variable respuesta aceptabilidad, fue evaluada mediante un panel entrenado de 12 personas, para obtener una caracterización técnica de las muestras a evaluar, utilizando el mismo método descrito en los procesos anteriores. Se utilizó el programa Statgraphics 5.1. plus y la unidad experimental fueron 100g de pasta de alperujo.

Los niveles máximos y mínimos de los 3 ingredientes de la matriz variable, fueron analizados por el programa, el cual arrojó los 10 tratamientos, que equivalen a las 10 combinaciones entre los 3 ingredientes, para encontrar el óptimo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Formulación de los 10 tratamientos arrojados por el programa Statgraphics Plus 5.1

| Tratamiento | Matriz variable   |                 |              | Matriz fija |                  |                   |                    |               |
|-------------|-------------------|-----------------|--------------|-------------|------------------|-------------------|--------------------|---------------|
|             | Pulpa de alperujo | Aceite de oliva | Agua destil. | Biosal      | Lecitina de soya | Benzoato de sodio | Sorbato de potasio | Ácido láctico |
| <b>T 1</b>  | 89,37             | 8               | 0            | 1,6         | 0,7              | 0,1               | 0,2                | 0,03          |
| <b>T 2</b>  | 71,37             | 26              | 0            | 1,6         | 0,7              | 0,1               | 0,2                | 0,03          |
| <b>T 3</b>  | 71,37             | 8               | 18           | 1,6         | 0,7              | 0,1               | 0,2                | 0,03          |
| <b>T 4</b>  | 80,37             | 17              | 0            | 1,6         | 0,7              | 0,1               | 0,2                | 0,03          |
| <b>T 5</b>  | 80,37             | 8               | 9            | 1,6         | 0,7              | 0,1               | 0,2                | 0,03          |
| <b>T 6</b>  | 71,37             | 17              | 9            | 1,6         | 0,7              | 0,1               | 0,2                | 0,03          |
| <b>T 7</b>  | 77,37             | 14              | 6            | 1,6         | 0,7              | 0,1               | 0,2                | 0,03          |
| <b>T 8</b>  | 83,37             | 11              | 3            | 1,6         | 0,7              | 0,1               | 0,2                | 0,03          |
| <b>T 9</b>  | 74,37             | 20              | 3            | 1,6         | 0,7              | 0,1               | 0,2                | 0,03          |
| <b>T 10</b> | 74,37             | 11              | 12           | 1,6         | 0,7              | 0,1               | 0,2                | 0,03          |

Cada uno de los ingredientes, se pesaron en una balanza analítica, marca Belltronic Scales y se mezclaron con Ultra-turrax, modelo T18 basic, marca IKA, a 24.000 rpm por 5 minutos. Una vez, obtenida la pasta óptima de alperujo, se envasó en un recipiente de vidrio de 200 g (Figura 2) y se mantuvo bajo condiciones de temperatura ambiente.

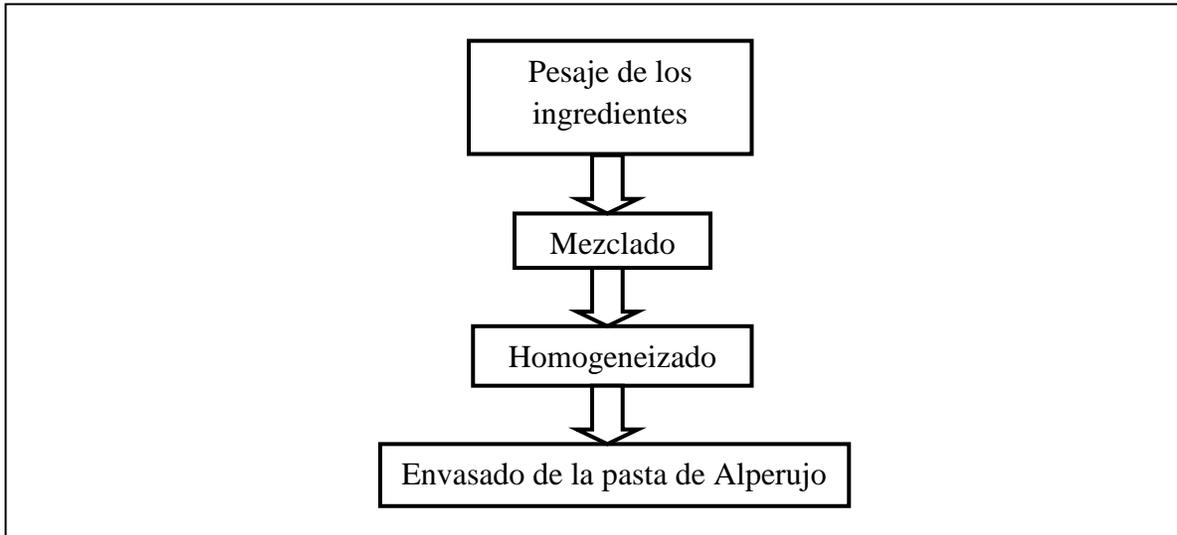


Figura 2. Línea de flujo Elaboración de una pasta untable de Alperujo

#### **Etapa 4. Caracterizaciones de la pasta untable de alperujo optimizada y comparación con una pasta untable de alperujo control**

Se elaboró una pasta untable de alperujo control para así poder realizar comparaciones respecto de la pasta untable de alperujo obtenida en la optimización. Se ocupó la formulación de la pasta de alperujo optimizada, cambiando el uso de la pulpa reducida en amargor (T<sub>1:1</sub>), por la pulpa de alperujo sin tratar o pulpa control.

Se realizaron caracterizaciones físicas, químicas y funcionales, evaluando los mismos parámetros de humedad, lípidos, proteínas, cenizas, extracto no nitrogenado, polifenoles totales, capacidad antioxidante y fibra dietética, con su metodología anteriormente descrita en la caracterización de la Etapa 1, incluyendo además:

- **Color:** Medido a través de un espectrofotómetro HunterLab UltraScan Pro (U.S.A), utilizando los parámetros de color: luminosidad (L), contribución de color rojo (a\*) y del color amarillo (b\*). Calculando croma (C\*) y tono (h\*).
- **Actividad de agua (Aw):** Medido a través del instrumento Rotronic instrument corp, Higrölab2 (U.S.A).
- **pH:** pHmetro, Ezodo PL-600 (AOAC, 1995) fue determinado por medición directa con potenciómetro.

**Diseño experimental y análisis estadístico.** Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 2 tratamientos y 3 repeticiones. Para analizar los resultados se realizó un análisis de varianza (ANDEVA). Se utilizó el programa Statgraphics 5.1. plus para el análisis de datos. La unidad experimental fueron 100 g de pasta de alperujo.

**Aceptabilidad sensorial.** La caracterización sensorial, se realizó con un panel de consumidores de 80 personas, evaluando aceptabilidad, utilizando una escala hedónica con una pauta no estructurada de 0-15 cm (Lawless y Heymann, 1998).

**Diseño experimental y análisis estadístico.** Se realizó un Diseño en Bloques Completamente Aleatorizado (DBCA), de la evaluación sensorial de aceptabilidad para los 2 tratamientos, con un panel de consumidores de 80 personas.

La unidad experimental fueron 100 g de pasta de alperujo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Etapa 1. Ajuste del amargor

#### Obtención de la pulpa de alperujo

**Caracterización del Alperujo.** El alperujo en su composición de manera general contiene normalmente un 60-75% de agua, un 5-8% de aceite, un 20-25% de hidratos de carbono, un 6-8% de fibra, un 1,5-2,5% de proteínas y un 1,5-2,3% de cenizas en base a peso fresco (Zumbe, 2007).

La caracterización del alperujo realizada en este estudio (Cuadro 6), señala valores similares a los señalados por Albuquerque *et al.* (2004) y Vlyssides *et al.* (2004, citado por Roig, 2006), en cuanto a humedad, lípidos y proteínas. En cuanto al contenido de cenizas, los valores que señalan los autores Nasopoulou<sup>1</sup> y Zabetakis (2013) y Hernández *et al.* (2014) de 1,44% y 1,35% respectivamente, son valores similares al 1,28% obtenido en este estudio.

Los valores obtenidos en polifenoles totales, respecto a los descritos en bibliografías, son similares a los obtenidos en este análisis, de 0,46 y 0,5% (Albuquerque *et al.*, 2004; Cegarra *et al.*, 2000, citado por Roig, 2006). Para la capacidad antioxidante obtenida, corresponde a un valor menor al señalado por Uribe *et al.* (2014), de 102  $\mu\text{mol ET/g}$ .

En cuanto a fibra dietética, se obtuvo un 22,32% de fibra dietética total, un valor similar al obtenido por bibliografía que señala un 28% de fibra dietética total (Hernández *et al.*, 2014). El contenido proteico del alperujo, es menor al valor señalado por Albuquerque *et al.* (2004) de 2,49%, y a los 6,7% que señala Vlyssides *et al.* (2004; citado por Roig, 2006).

Cuadro 6. Caracterización física, química y funcional del Alperujo y la pulpa de alperujo

| Caracterizaciones físicas, químicas y funcionales | Alperujo     | Pulpa de alperujo |
|---|--------------|-------------------|
| <b>Caracterización física</b>                     |              |                   |
| Humedad (g/100g)                                  | 65,16 ± 0,14 | 79,30 ± 0,14      |
| <b>Caracterización química</b>                    |              |                   |
| Lípidos (g/100g)                                  | 3,88 ± 0,13  | 4,25 ± 0,06       |
| Proteínas (g/100g)                                | 0,89 ± 0,07  | 0,92 ± 0,02       |
| Cenizas (g/100g)                                  | 1,28 ± 0,04  | 3,85 ± 0,77       |
| ENN (g/100 g)                                     | 26,86 ± 0,39 | 7,22 ± 0,58       |
| <b>Caracterización funcional</b>                  |              |                   |
| Polifenoles totales (EAG mg/g)                    | 4,79 ± 0,27  | 5,01 ± 0,09       |
| Capacidad antioxidante DPPH (uM ET/g)             | 45,39 ± 4,31 | 29,84 ± 2,26      |
| Fibra dietética total (g/100g peso fresco)        | 22,31 ± 0,85 | 9,32 ± 1,34       |
| Fibra dietética Insoluble                         | 19,77 ± 0,63 | 7,72 ± 1,13       |
| Fibra dietética Soluble                           | 2,75 ± 0,32  | 1,30 ± 0,33       |

Todos los valores señalados corresponden a la muestra en peso fresco. FDI (Fibra Dietética Insoluble), FDS (Fibra Dietética Soluble) y ENN (Extracto No Nitrogenado).

**Caracterización de la pulpa de alperujo.** Al realizar una comparación entre el alperujo y la pulpa de alperujo, que perdió el carozo y parte de su piel en el proceso de tamizaje, cabe señalar que la pulpa tuvo un mayor contenido de humedad, lípidos, proteínas, cenizas y polifenoles totales. Sin embargo, disminuyó en la pulpa el ENN, la capacidad antioxidante y la fibra dietética total, tanto en su fibra insoluble como soluble.

Según lo señalado por Fernández-Bolaños *et al.* (2004), que caracterizó el alperujo sin carozo, tamizado por una malla de 0,5mm, la pulpa contenía un 71,55% de humedad, 1,26% de cenizas y 2,28% de lípidos, valores similares a los obtenidos, donde la variabilidad puede deberse a las diferentes variedades utilizadas, que no se definen en el estudio. El carozo, que contiene sólo un 9,79% de humedad (Rodríguez *et al.*, 2008), factor que reducía la humedad del alperujo. A su vez la pulpa de la aceituna, contiene el mayor porcentaje de aceite, debido a que de ella depende el rendimiento graso de la producción de aceite de la aceituna (Morales, 2011). El contenido de fibra disminuyó en la pulpa con respecto al contenido de fibra del alperujo, debido a que en el carozo y en la semilla, el principal componente es la fibra, que entre celulosa, hemicelulosa y lignina, forman un 72% de fibra en base a peso fresco (Rodríguez *et al.*, 2008). Para el caso del contenido proteico, éste aumentó al tamizarlo, en la pulpa, dado que el carozo contiene sólo un 2,88% de proteínas (Rodríguez *et al.*, 2008). Respecto al contenido de fenoles totales que señala el autor Fernández-Bolaños (2004), de 0,65 mg/g, resulta ser un valor bajo respecto al obtenido en este análisis, de 5 mg/g.

## Disminución del amargor

Dado que el alperujo es un residuo que proviene directamente del proceso mecánico de la producción de aceite de oliva, sin ningún tratamiento adicional, es que mantiene el amargor natural que el fruto del olivo posee. Este amargor es originado por compuestos fenólicos, que la familia Oleacea posee, siendo la oleuropeína, el compuesto fenólico más abundante en la pulpa, y la causante del amargor de los frutos (Ozdemir *et al.*, 2014). Como el objetivo de este estudio es consumir el alperujo como una pasta untable, es que el amargor excesivo es una característica que se debe disminuir, ya que no es deseable para el consumidor y es la principal razón de rechazos de los alimentos (Drewnowski, 1997, citado por Drewnowski y Gómez-Carneros, 2000).

Los tratamiento para disminuir el amargor de la pulpa alperujo, a través de lavados con agua, solubilizan los compuestos solubles en agua como la oleuropeína (Ozdemir *et al.*, 2014), y con ello disminuyen este componente que origina el amargor.

La centrifugación de cada tratamiento a diferentes revoluciones por minuto, llevó a los tratamientos a un contenido de humedad sin diferencias estadísticamente significativa (Cuadro 7).

Cuadro 7. Humedad de la pulpa y los tratamientos para disminuir amargor a diferentes rpm de centrifugación

| Tratamiento       | Rpm  | Humedad (%) | Sólidos totales (%) |
|-------------------|------|-------------|---------------------|
| Pulpa de alperujo | -    | 79,1 a      | 20,9 a              |
| 4:1               | 3000 | 77,5 a      | 22,5 a              |
| 2:1               | 3500 | 77,2 a      | 22,8 a              |
| 1:1               | 4000 | 77,4 a      | 22,6 a              |
| 1:2               | 4500 | 78,2 a      | 21,8 a              |
| 1:4               | 5000 | 78,9 a      | 21,1 a              |

Humedad y sólidos totales en base a peso fresco. Letras minúsculas distintas en cada columna, indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0,05$ ), según prueba de rango múltiple Tukey.

**Determinación de los polifenoles totales.** El contenido de fenoles totales, expresado como equivalentes de ácido gálico, utilizando la curva de ácido gálico señalada en el Apéndice VII, muestran una clara asociación entre el aumento de la proporción de agua, a una disminución de los compuestos fenólicos, que se debe a un mayor contenido de compuestos fenólicos lavados. Se puede apreciar una clara correlación entre los EAG y los tratamientos

realizados (Figura 3) obteniéndose un coeficiente de correlación ( $r$ ) de -0,988 y un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0,977.

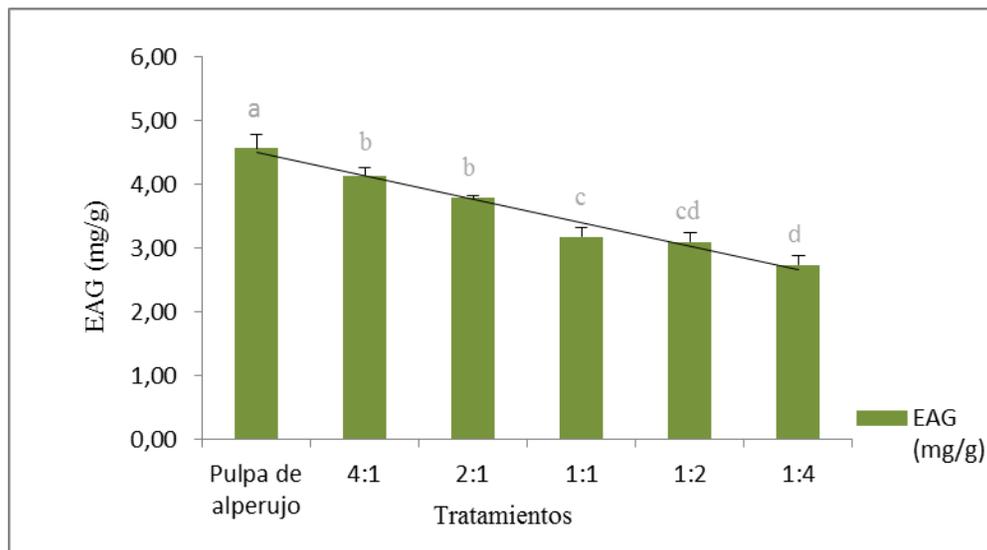


Figura 3. Promedio de polifenoles totales (EAG mg/g) respecto a los 6 tratamientos.

En el Apéndice IV, se puede apreciar que en la extracción metanólica ácida (Metanol+HCl), que se realiza para medir fenoles totales, existe una reducción de la intensidad del color, en los cuales, a medida que aumentan los lavados, se pierde color; relación que puede ser asociada a la pérdida de compuestos fenólicos, y por ende, los que causan el amargor en el alperujo.

**Análisis sensorial.** Se realizó un focus group previo, por medio del cual se definieron los atributos de calidad sensorial técnica de las muestras a evaluar, los cuales fueron: acidez, salado, astringencia, aceitosidad y amargor. Además de ello, se determinó la realización de 3 evaluaciones sensoriales, para evaluar el comportamiento de los tratamientos: Evaluar sensorialmente los tratamientos sin aditivos; evaluar los tratamientos añadiendo aceite, sal y ácido y; evaluar los tratamientos anteriormente mencionados, incorporando una galleta de cocktail.

En los resultados de la Evaluación sensorial N°1 (Cuadro 8), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en aceptabilidad y tampoco en los parámetros de calidad como la astringencia y la arenosidad. Estos 3 atributos tuvieron una puntuación baja, es decir, tuvieron baja aceptabilidad, baja astringencia y baja arenosidad.

En el atributo acidez, la pulpa de alperujo se logró diferenciar del tratamiento 1:1 y 1:4; se obtuvo una percepción de baja acidez en todos los tratamientos. En cuanto al atributo

salado, la pulpa de alperujo es distinta al tratamiento 1:4, que corresponde al tratamiento que utilizó una mayor proporción de agua de lavado, lo que hace alusión a una mayor cantidad de sales solubles posiblemente lavadas con esta proporción pulpa de alperujo:agua (Albuquerque *et al.*, 2004; García de la Fuente, 2011). En todos los tratamientos se percibió una baja acidez. La aceitosidad tuvo diferencias significativas entre los tratamientos 2:1, 1:1, 1:2 y 1:4 respecto a la pulpa de alperujo, siendo la pulpa, el único tratamiento que obtuvo una alta aceitosidad.

En el atributo amargor, la pulpa de alperujo fue percibida significativamente distinta al tratamiento 1:1, 1:2 y 1:4, los cuales tuvieron una mayor proporción de agua que lavó los compuestos amargos, de los cuales, el tratamiento 1:4, fue el percibido con una menor puntuación, siendo éste justamente el que mayor proporción de agua tuvo y mayor cantidad de compuestos amargos fueron lavados. Tuvieron un alto amargor los tratamientos 2:1, 4:1 y la pulpa de alperujo. En los tratamientos, el amargor tuvo una tendencia a disminuir a medida que aumenta la proporción de agua de lavado en cada tratamiento. Esto revela una clara relación entre los tratamientos y el amargor sensorial (Figura 4), donde al aumentar la proporción de agua, se redujo el contenido de compuestos fenólicos, y por lo tanto, se obtuvo lo esperado, los 12 evaluadores en promedio, detectaron la disminución del amargor sensorial entre los tratamientos. Esto coincide con Tovar de Dios (2001), que señala una correlación positiva entre el contenido de las moléculas de oleuropeína y el índice de amargor k225 para el caso del aceite de oliva. Condición similar se revela en este estudio, con una correlación positiva, entre los polifenoles totales y el amargor de los tratamientos, con un coeficiente de correlación ( $r$ ) de -0,985.

Cuadro 8. Resultados de los descriptores de la Evaluación sensorial N°1

| Tratamiento       | Aceptabilidad | Acidez    | Salado  | Astringencia | Aceitosidad | Arenosidad | Amargor |
|-------------------|---------------|-----------|---------|--------------|-------------|------------|---------|
| Pulpa de alperujo | 6,6 a         | 5,3 a     | 3,4 a   | 7,1 a        | 7,6 a       | 6,0 a      | 10,7 a  |
| 4:1               | 5,7 a         | 4,3 a b   | 2,8 a b | 6,7 a        | 6,0 a b     | 6,9 a      | 9,5 a   |
| 2:1               | 6,4 a         | 3,1 a b c | 2,4 a b | 5,5 a        | 4,6 b       | 7,5 a      | 8,7 a b |
| 1:1               | 7,4 a         | 1,5 c     | 1,6 a b | 5,1 a        | 4,5 b       | 8,1 a      | 6,6 b c |
| 1:2               | 6,6 a         | 2,5 b c   | 2,0 a b | 5,6 a        | 3,9 b       | 7,5 a      | 6,5 b c |
| 1:4               | 6,9 a         | 1,3 c     | 1,1 b   | 5,8 a        | 3,9 b       | 7,3 a      | 4,8 c   |
| E.E               | 0,66          | 0,67      | 0,45    | 0,69         | 0,52        | 0,81       | 0,68    |

Valores promedio ( $n=12$ ), para cada atributo, letras minúsculas distintas en cada columna, indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0,05$ ), según prueba de rango múltiple Tukey. EE (Error estándar).

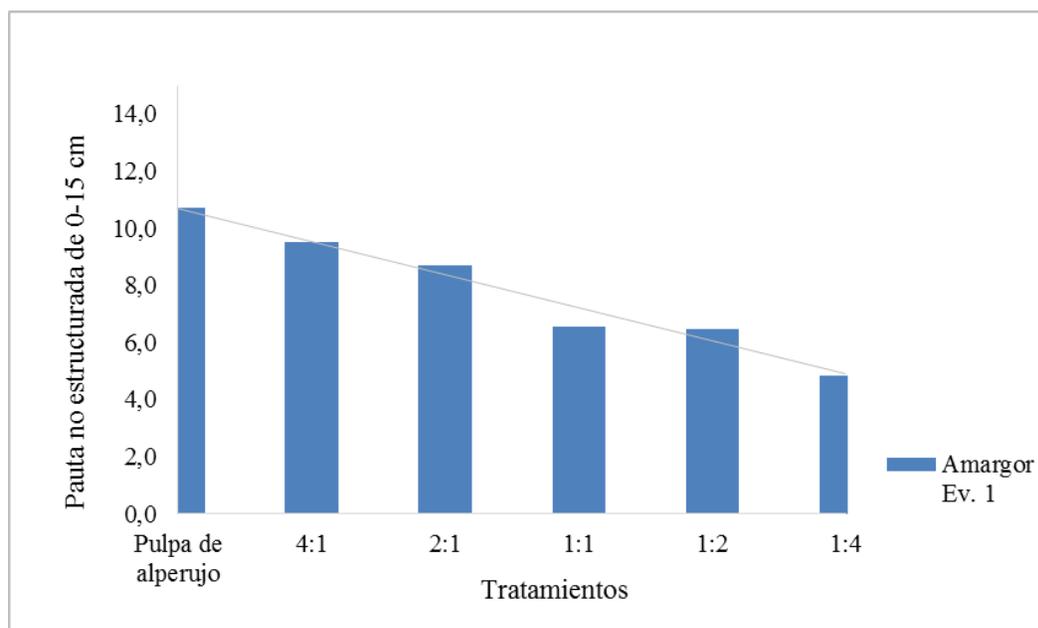


Figura 4. Correlación existente entre los tratamientos y el amargor, en la Ev. Sensorial N°1

## Etapa 2. Determinación de la formulación de la pasta de alperujo

### Determinación de la pulpa de alperujo a utilizar

Se caracterizó la pulpa de alperujo en cuanto a humedad, contenido de lípidos y acidez. El contenido de aceite que se agregó a la formulación de los tratamientos corresponde a 21,3% de aceite, de acuerdo al contenido de la pasta comercial según lo señalado en el Cuadro 9, junto a la cantidad de ácido láctico que se tuvo que añadir, la cual corresponde a la indicada en el Cuadro 10. La cantidad de sal que se añadió, se estableció de acuerdo a los parámetros establecidos por la nueva ley de etiquetado de los alimentos (Decreto N° 13, 2015).

Cuadro 9. Análisis de humedad y lípidos

| Muestras evaluadas                            | Humedad g/100g | Lípidos g/100g |
|---|----------------|----------------|
| Pasta de aceitunas negras (marca HuascOliva)* | 66,162         | 26,272         |
| Pulpa de alperujo*                            | 79,378         | 4,988          |

\*gramos en base a peso fresco

Se ajustó la acidez de los tratamientos, al valor presente de acidez de la pasta de aceitunas negras comercial, teniéndola como muestra control o muestra de referencia (Cuadro 10).

Cuadro 10. Porcentaje de acidez de los diferentes tratamientos y el % de ácido añadido

| Tratamientos                   | Acidez (%) | Ácido láctico añadido (%) | Acidez Final (%) |
|--------------------------------|------------|---------------------------|------------------|
| Pasta de aceituna (marca Buka) | 0,35       | -                         | -                |
| Pulpa de alperujo              | 0,3        | 0,05                      | 0,36 ± 0,07      |
| T <sub>4:1</sub>               | 0,28       | 0,07                      | 0,35 ± 1,02      |
| T <sub>2:1</sub>               | 0,3        | 0,05                      | 0,37 ± 0,38      |
| T <sub>1:1</sub>               | 0,16       | 0,19                      | 0,36 ± 0,59      |
| T <sub>1:2</sub>               | 0,16       | 0,19                      | 0,35 ± 1,22      |
| T <sub>1:4</sub>               | 0,11       | 0,24                      | 0,37 ± 0,04      |

Una vez identificado el contenido de aceite, ácido y sal que se requería para formular los 6 tratamientos, se formuló cada uno, con sus respectivas pulpas de alperujo lavadas con la proporción de agua definida para cada uno (Cuadro 11) y se realizó la evaluación sensorial de los mismos.

Cuadro 11. Formulaciones de los tratamientos para la evaluación sensorial N°2

| Tratamiento       | Pulpa de alperujo control y pulpas de alperujo lavadas (g/100 g) | Aceite de oliva (g/100 g) | Biosal (g/100 g) | Ácido láctico (g/100 g) |
|-------------------|--|---------------------------|------------------|-------------------------|
| Pulpa de alperujo | 78,11  | 21                        | 0,84             | 0,05                    |
| T <sub>4:1</sub>  | 78,09  | 21                        | 0,84             | 0,07                    |
| T <sub>2:1</sub>  | 78,11  | 21                        | 0,84             | 0,05                    |
| T <sub>1:1</sub>  | 77,97  | 21                        | 0,84             | 0,19                    |
| T <sub>1:2</sub>  | 77,97  | 21                        | 0,84             | 0,19                    |
| T <sub>1:4</sub>  | 77,92  | 21                        | 0,84             | 0,24                    |

Los resultados obtenidos en esta segunda evaluación sensorial (Cuadro 12) revelan que los atributos acidez, salado y astringencia, no tuvieron diferencias estadísticamente significativas entre todos los tratamientos, donde claramente los nuevos ingredientes añadidos, fueron homogéneos para todos los tratamientos, para los cuales, los evaluadores detectaron que estaban bajo las mismas condiciones.

En el atributo aceitosidad, se diferenciaron estadísticamente los tratamientos T<sub>2:1</sub>, T<sub>1:1</sub>, T<sub>1:2</sub> y T<sub>1:4</sub> del tratamiento control o pulpa de alperujo. En estos tratamientos, desde el tratamiento T<sub>2:1</sub>, a medida que aumenta la proporción de agua de lavado, disminuyó la

aceitosidad, lo que puede asociarse a una pérdida de aceite junto al agua en la fase acuosa que se elimina luego de la centrifugación de cada tratamiento. Todos los tratamientos, a excepción de del T<sub>1:1</sub>, tuvieron una alta aceitosidad percibida.

La arenosidad, tuvo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T<sub>2:1</sub>, T<sub>1:1</sub>, T<sub>1:2</sub> y T<sub>1:4</sub> respecto a la pulpa de alperujo; los 4 tratamientos diferentes a la pulpa control tienen valores > a 7,5cm, por lo tanto tuvieron una alta arenosidad.

El amargor, tuvo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T<sub>1:2</sub> y T<sub>1:4</sub> respecto a la pulpa de alperujo. Los tratamientos pulpa de alperujo y T<sub>4:1</sub>, tuvieron los mayores valores entrando al rango de alto amargor. El amargor presenta una tendencia a disminuir a medida que disminuye la proporción de pulpa en los tratamientos.

Analizando estos resultados, respecto a la evaluación sensorial N°1 (Cuadro 8), la baja acidez que se percibió en los tratamientos sin ingrediente añadidos o evaluación N°1, en la evaluación N°2 (Cuadro 12), aumentaron los valores de su percepción. El salado, pasó de una percepción de bajo salado, aumentando en esta segunda evaluación sensorial. La astringencia se mantuvo dentro de los mismos rangos respecto a la evaluación N°1. La aceitosidad aumentó sus valores respecto a la evaluación N° 1 (Cuadro 12) y la arenosidad, se percibió con un menor valor en esta segunda evaluación para la pulpa de alperujo y los tratamientos T<sub>2:1</sub>, T<sub>1:2</sub> y T<sub>1:4</sub> aumentó la puntuación en los tratamientos (Cuadro 8).

La aceptabilidad tuvo diferencias en los tratamientos T<sub>1:1</sub>, T<sub>1:2</sub> y T<sub>1:4</sub> respecto a la pulpa de alperujo. Se puede apreciar también, una tendencia al aumento de la aceptabilidad a medida que disminuye la proporción de pulpa en los tratamientos. La aceptabilidad aumentó, a medida que hay un menor contenido de fenoles totales y, por consiguiente, una disminución del amargor en las muestras evaluadas (Figura 5 y Cuadro 12). Respecto a la evaluación N° 1, la aceptabilidad aumentó, donde claramente el haber agregado sal, aceite y ácido láctico, influyó en que las muestras pasaran del rango de baja aceptabilidad (Cuadro 8), hasta el rango de aceptable (Cuadro 12).

Cuadro 12. Resultados de los atributos de la Evaluación sensorial N°2

| Tratamientos      | Aceptabilidad | Acidez | Salado | Astringencia | Acetosis | Arenosidad | Amargor |
|-------------------|---------------|--------|--------|--------------|----------|------------|---------|
| Pulpa de alperujo | 6,4 b         | 6,5 a  | 7,2 a  | 6,0 a        | 11,8 a   | 4,5 b      | 9,9 a   |
| T <sub>4:1</sub>  | 8,6 a b       | 6,1 a  | 7,0 a  | 6,1 a        | 10,3 a b | 6,9 b      | 8,6 a b |
| T <sub>2:1</sub>  | 8,7 a b       | 5,6 a  | 6,0 a  | 6,7 a        | 8,1 c    | 8,5 a      | 7,3 b c |
| T <sub>1:1</sub>  | 8,9 a         | 6,8 a  | 7,1 a  | 6,1 a        | 7,4 c    | 7,5 a      | 6,5 b c |
| T <sub>1:2</sub>  | 9,7 a         | 6,1 a  | 5,6 a  | 5,2 a        | 7,8 c    | 8,3 a      | 6,1 c   |
| T <sub>1:4</sub>  | 10,1a         | 6,7 a  | 5,9 a  | 5,4 a        | 8,1 c    | 8,4 a      | 5,5 c   |
| E.E               | 0,58          | 0,51   | 0,52   | 0,47         | 0,52     | 0,61       | 0,56    |

Valores promedio (n=12), para cada atributo, letras minúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0,05$ ), según prueba de rango múltiple Tukey. EE (Error estándar).

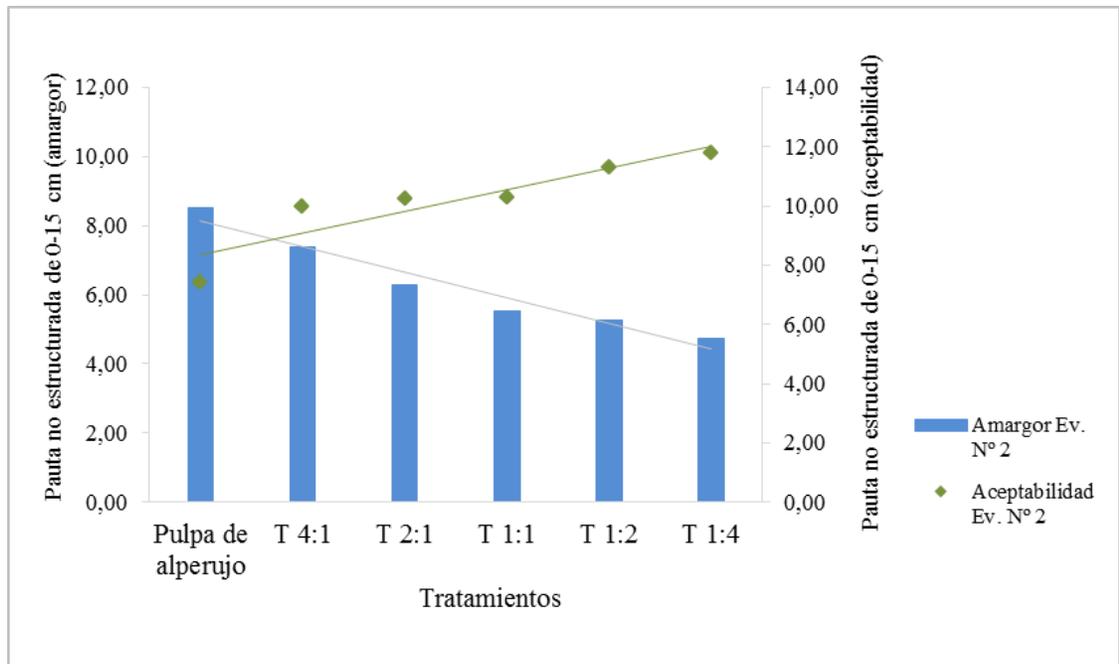


Figura 5. Relación existente entre los tratamientos con el amargor sensorial y la aceptabilidad sensorial

Cuadro 13. Relación de aceptabilidad y el amargor con los tratamientos

|                                       | <b>Aceptabilidad</b> | <b>Amargor</b> |
|---------------------------------------|----------------------|----------------|
| Coef. Correlación (r)                 | 0,909                | -0,974         |
| Coef. Determinación (R <sup>2</sup> ) | 0,827                | 0,949          |

El amargor sensorial señala que existe una correlación con tendencia lineal respecto a los tratamientos (Cuadro 13), detectando un menor amargor, a medida que aumenta el lavado con agua, presentándose de manera muy similar al comportamiento en el gráfico y valores que se obtuvieron en la evaluación sensorial N° 1 (Cuadro 8), fluctuando los valores entre rangos de amargos a poco amargos a medida que aumenta la dilución de los lavados.

El resultado de los polifenoles totales de los tratamientos, señala el comportamiento lineal que existe entre los tratamientos y la disminución de polifenoles totales (Figura 6), demostrando un comportamiento similar al señalado en la Figura 3, descrita en la evaluación sensorial N° 1.

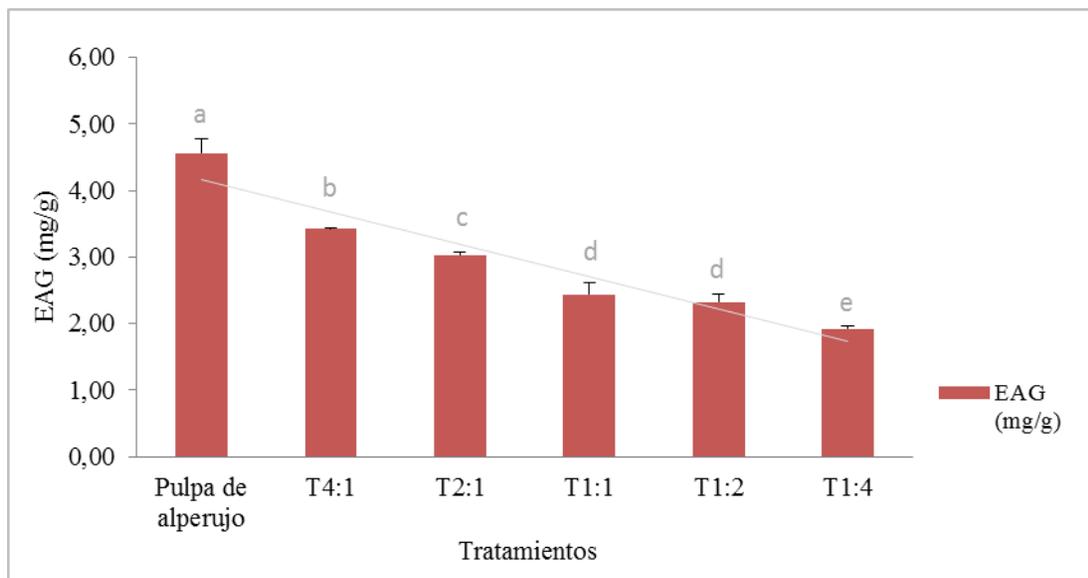


Figura 6. Relación entre el contenido de polifenoles totales y los tratamientos (pastas con aditivos)

Cuadro 14. Relación entre el amargor y la aceptabilidad con los polifenoles totales (EAG mg/g)

|                                       | <b>Aceptabilidad</b> | <b>Amargor</b> |
|---------------------------------------|----------------------|----------------|
| Coef. Correlación (r)                 | -0,959               | 0,989          |
| Coef. Determinación (R <sup>2</sup> ) | 0,920                | 0,979          |

En el Cuadro 14, se puede apreciar la clara relación que tienen los polifenoles totales (EAG mg/g) con la aceptabilidad y el amargor. De estos resultados, y de los señalados en el Cuadro 12 y Cuadro 13, se pudo escoger un tratamiento. Usando los valores obtenidos en el contenido de polifenoles totales, si bien el T<sub>1:1</sub>, no tuvo diferencias significativas con el T<sub>1:2</sub>, sí tuvo un mayor contenido de polifenoles que el T<sub>1:4</sub> (Figura 6). Analizando también los resultados de la aceptabilidad sensorial, donde el T<sub>1:1</sub>, es el primer tratamiento diferente al tratamiento control o de referencia, entrando a la categoría de aceptable, no tiene diferencias significativas con los tratamientos T<sub>1:2</sub> y T<sub>1:4</sub>. Sin embargo, es el tratamiento que tiene un mayor contenido de pulpa utilizada en la proporción pulpa:agua. Los polifenoles en un alimento mientras estén presente en mayor cantidad, tiene mejores beneficios para quien lo consume, aportando al alimento condiciones preventivas de enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades neurodegenerativas (Barberán, 2003; Fernández-Bolaño *et al.*, 2006).

### **Determinación del tipo de aceite a utilizar**

Los aceites utilizados, son escogidos gracias a sus propiedades funcionales para el organismo. El aceite de oliva tiene un alto contenido de ácido oleico, vitamina E y polifenoles, que le confieren la capacidad de proteger el ADN del ataque oxidativo e inhibir la activación de células cancerígenas, disminución de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Araújo *et al.*, 2015; Mataix *et al.*, 2009). Paralelo a ello, el aceite de canola posee un alto contenido de ácidos grasos polinsaturados, dentro del cual está el Omega 3, que tiene diversas funciones en el organismo, regulando la coagulación sanguínea, triglicéridos, mecanismos vasculares, ritmos y latidos cardiacos, crecimiento de tumores, enfermedades inmunológicas, diabetes tipo 2 y algunos tipos de cánceres (Calder, 2013; Castro, 2002).

Los resultados de la tercera evaluación sensorial (Cuadro 15), revelan que en cuanto a la aceptabilidad de los 3 tratamientos evaluados, la pasta de alperujo con aceite de oliva, resulta ser una mejor opción que la pasta con aceite de canola, teniendo una mayor aceptabilidad, pasando al rango de un producto aceptable. Paralelo a ello, revela que la máxima puntuación en aceptabilidad que detectaron los panelistas fue para la pasta de aceitunas negras, con 10,2 puntos. No se percibieron diferencias estadísticamente significativas entre las 3 pasta evaluadas en el salado, astringencia y amargor.

La pasta de aceitunas negras, fue caracterizada como aceptable en el rango “me gusta”, con baja acidez, astringencia, arenosidad, salado y amargor, pero un exceso de aceitosidad.

La pasta de alperujo con aceite de canola, fue caracterizada como indiferente en aceptabilidad, se percibió una baja acidez, astringencia, aceitosidad y arenosidad, pero la consideraron salada, sin embargo, como se mencionó anteriormente, no tuvo diferencias significativas respecto a las otras pastas evaluadas. Finalmente, la pasta de alperujo con aceite de oliva, la percibieron como aceptable en el rango “me gusta”, con baja acidez, astringencia, arenosidad y amargor y, con alta aceitosidad y salado.

Se incluyó en el parámetro aceptabilidad una galleta, marca “craker”, para determinar el comportamiento que tendría el evaluar la pasta con una galleta, que es la forma habitual de consumo. El resultado mostró un aumento en la aceptabilidad de ambas pastas de alperujo evaluadas, tal y como se señala en el Apéndice III.

La pasta de aceitunas comercial en aceptabilidad fue la mejor evaluada, sin embargo la formulación con aceite de oliva, logró igualar las condiciones de aceptabilidad con respecto a la pasta de aceituna comercial (Cuadro 15), y además de ello, en el atributo amargor, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que ya, bajo estas condiciones, el amargor ya no es un parámetro que preocupe en las variaciones de la aceptabilidad; por lo tanto, por estos motivos, se escoge el aceite de oliva para optimizar la formulación.

Cuadro 15. Evaluación sensorial N°3

| Pastas evaluadas                       | Aceptabilidad | Acidez  | Salado | Astringencia | Aceitosidad | Arenosidad | Amargor |
|--|---------------|---------|--------|--------------|-------------|------------|---------|
| Pasta de alperujo con aceite de canola | 7,7 b         | 7,3 a   | 8,5 a  | 5,8 a        | 6,7 b       | 6,6 a b    | 7,5 a   |
| Pasta de alperujo con aceite de oliva  | 8,6 a b       | 5,4 a b | 8,5 a  | 5,1 a        | 8 b         | 7,5 a      | 6,4 a   |
| Pasta de aceitunas negras              | 10,2 a        | 4,7 b   | 7,4 a  | 3,9 a        | 11,4 a      | 4,7 b      | 6,2 a   |
| E.E                                    | 0,72          | 0,58    | 0,36   | 0,6          | 0,5         | 0,68       | 0,7     |

Valores promedio (n=12), para cada atributo, letras minúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0,05$ ), según prueba de rango múltiple de Tukey. EE (Error estándar).

### Etapa 3. Optimización de la formulación de la pasta untable de alperujo

Mediante el diseño de mezclas Simplex Centroid cúbico especial que arrojó los 10 tratamientos con diferentes formulaciones, se evaluaron sensorialmente para obtener los valores de aceptabilidad. Se analizó el contenido de polifenoles totales y el contenido de aceite de los 10 tratamientos, obteniendo los valores que señala el Cuadro 16.

Cuadro 16. Valores de aceptabilidad, fenoles totales y contenido de aceite de los 10 tratamientos optimizados.

| <b>Tratamientos</b> | <b>Aceptabilidad (cm)</b> | <b>EAG (mg/g)</b> | <b>Contenido de aceite (%)</b> |
|---------------------|---------------------------|-------------------|--------------------------------|
| T1                  | 8,58                      | 2,66              | 16,65                          |
| T2                  | 9,93                      | 2,23              | 29,68                          |
| T3                  | 9,75                      | 2,38              | 15,07                          |
| T4                  | 9,97                      | 2,79              | 25,46                          |
| T5                  | 8,38                      | 2,83              | 14,7                           |
| T6                  | 10,07                     | 2,54              | 22,24                          |
| T7                  | 9,92                      | 2,68              | 22,06                          |
| T8                  | 9,39                      | 2,82              | 18,05                          |
| T9                  | 11,34                     | 2,63              | 26,74                          |
| T10                 | 9,84                      | 2,45              | 17,93                          |

EAG (Equivalentes de ácido gálico)

### **Optimización de respuesta múltiple**

Este procedimiento combinó factores experimentales que de manera simultánea optimizó las 3 variables respuesta, que mediante una función de conveniencia, maximizó el contenido de polifenoles totales y la aceptabilidad sensorial, y minimizó el contenido de aceite (Figura 7 y Figura 8).

En la Figura 7, se muestra gráficamente la superficie respuesta para la optimización de respuesta múltiple.

Superficie de Respuesta Estimada

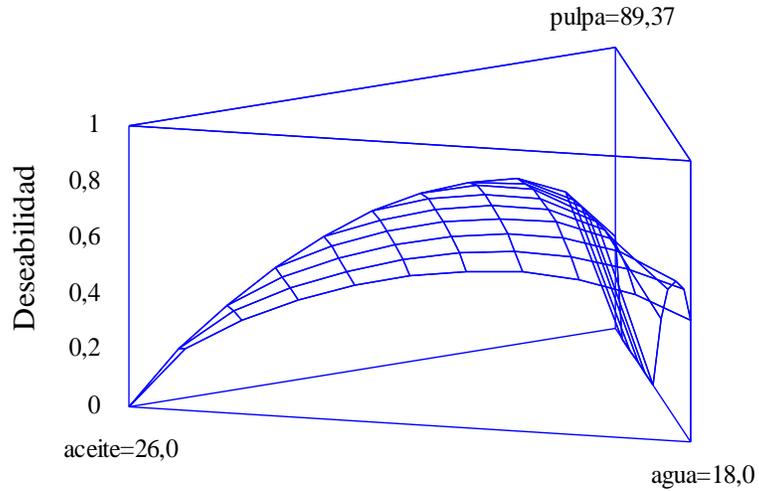


Figura 7. Superficie de respuesta para de la optimización de respuesta múltiple

El gráfico de contorno para la optimización de respuesta múltiple (Figura 8), muestra que los valores óptimos de los ingredientes se encuentran en la zona media, indicada por la flecha.

Superficie de Respuesta Estimada

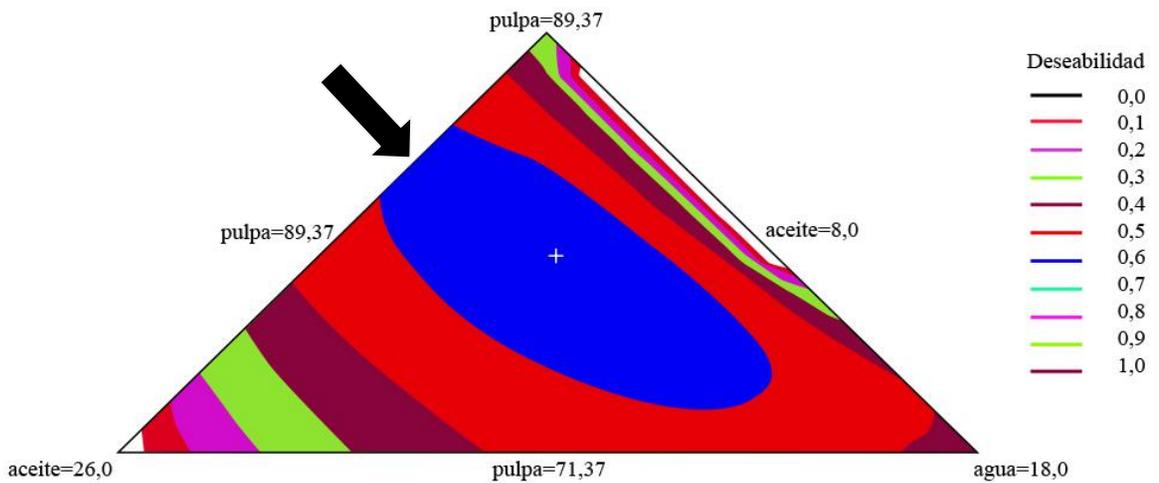


Figura 8. Gráfico de contorno para la optimización de respuesta múltiple. La flecha indica la zona óptima.

El resultado obtenido, arrojó la formulación óptima de la pasta de alperujo, tal y como se señala en el Cuadro 17, el cual señala el porcentaje de pulpa, aceite y agua que se debe añadir en la formulación para obtener la pasta óptima de alperujo.

Cuadro 17. Componentes optimizados de la matriz variable.

| <b>Factor</b>         | <b>Óptimo</b> |
|-----------------------|---------------|
| Pulpa de alperujo (%) | 79,25         |
| Aceite añadido (%)    | 12,6          |
| Agua destilada (%)    | 5,52          |

De acuerdo al modelo de optimización, los valores óptimos esperados de las variables respuesta son las que se señalan en el Cuadro 18.

Cuadro 18. Valores óptimos esperados para las 3 variables respuesta: aceptabilidad, contenido de aceite y polifenoles totales

| <b>Variable Respuesta</b>      | <b>Valor óptimo esperado</b> |
|--------------------------------|------------------------------|
| Aceptabilidad (cm)             | 9,99                         |
| Contenido de Aceite (%)        | 20,49                        |
| Polifenoles totales (EAG mg/g) | 2,72                         |

#### **Etapa 4. Caracterizaciones de la pasta de alperujo optimizada y comparación con una pasta de alperujo control**

Se realizaron las formulaciones de la pasta de alperujo control y la pasta de alperujo óptima (Cuadro 19) de acuerdo a los valores de la matriz variable obtenidos mediante la optimización.

Cuadro 19. Formulación de la pasta de alperujo óptima y la pasta control

| <b>Ingredientes</b>                                       | <b>(g/100g)</b> |
|---|-----------------|
| Pulpa sin tratamiento y pulpa tratada (T <sub>1:1</sub> ) | 79,25           |
| Aceite de oliva   | 12,6            |
| Agua destilada  | 5,52            |
| Sal reducida en sodio en un 50%                           | 1,6             |
| Lecitina de soya  | 0,7             |
| Benzoato de sodio   | 0,1             |
| Sorbato de potasio  | 0,2             |
| Ácido láctico   | 0,03            |

Se realizaron las caracterizaciones físicas, químicas, funcionales y sensoriales de la pasta de alperujo final optimizada y la pasta de alperujo control.

En la caracterización física y química de ambas pastas (Cuadro 20), el porcentaje de humedad y proteínas, no tuvieron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, si se encontraron diferencias en la caracterización química, en el contenido de lípidos y cenizas, donde en ambos casos, la pasta de alperujo control tuvo los mayores valores. El extracto no nitrogenado, tuvo diferencias significativas, donde la pasta optimizada, tuvo un mayor valor respecto a la pasta control.

Cuadro 20. Caracterización física y química de la pasta de alperujo optimizada y pasta control

|                     | <b>Pasta de alperujo optimizada</b> | <b>Pasta de alperujo control</b> |
|---------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| Humedad (g/100 g)   | 67,72 ± 0,96 a                      | 68,67 ± 0,33 a                   |
| Lípidos (g/100 g)   | 17,54 ± 0,31 b                      | 19,53 ± 0,33 a                   |
| Proteínas (g/100 g) | 1,04 ± 0,01 a                       | 1,01 ± 0,01 a                    |
| Cenizas (g/100 g)   | 2,23 ± 0,13 b                       | 2,88 ± 0,03 a                    |
| ENN (g/100 g)       | 11,47 ± 0,64 a                      | 7,91 ± 0,55 b                    |

Promedios con letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos según preba de rango múltiple de Tukey (p-valor < 0,05). ENN: Extracto no nitrogenado.

Resultados en base a peso fresco

El menor contenido de lípidos en la pasta optimizada se redujo debido al lavado que se realizó en la pulpa utilizada, la cual al centrifugar y extraer la parte líquida de la muestra, extrajo también material graso en suspensión. El menor contenido de cenizas de la pasta optimizada se puede deber a la solubilización de elementos minerales solubles en agua tales como: NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Zn y Cu (Albuquerque *et al.*, 2004; García de

la Fuente, 2011), que se solubilizaron en el proceso para disminuir el amargor de la pulpa al lavarlo con agua destilada.

Cuadro 21. Caracterización del color

|    | <b>Pasta de alperujo final optimizada</b> |   | <b>Pasta de alperujo control</b> |   |
|----|---|---|----------------------------------|---|
| L  | 41,64 ± 0,24                              | b | 42,04 ± 0,36                     | a |
| a* | 5,67 ± 0,07                               | b | 6,02 ± 0,10                      | a |
| b* | 10,93 ± 0,23                              | b | 12,31 ± 0,23                     | a |
| C* | 12,31 ± 0,22                              | b | 13,70 ± 0,25                     | a |
| h° | 63,95 ± 0,23                              | a | 62,58 ± 0,36                     | b |

Promedios con letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos según prueba de rango múltiple de Tukey ( $p$ -valor < 0,05).

Respecto al color presente en las pastas de alperujo (Cuadro 21), se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas pastas en todos los parámetros evaluados. La pasta control, resultó con un mayor valor en todos los parámetros, debido a que tiene un color más oscuro, dado por los polifenoles que no fueron lavados en este tratamiento, es por ello, que la contribución al color rojo ( $a^*$ ) tiene un mayor valor (Figura 9).

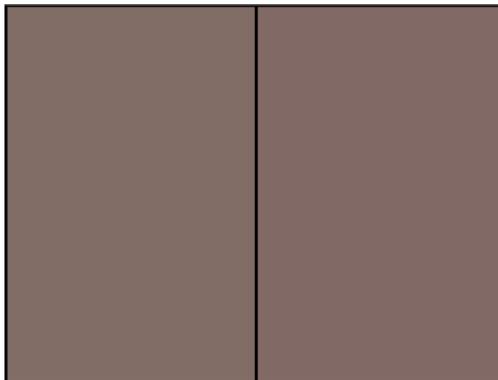


Figura 9. Diferencia de color entre los tratamientos. Pasta de alperujo control a la izquierda y Pasta de alperujo optimizada a la derecha. Imagen del espectrofotómetro HunterLab UltraScan Pro (U.S.A).

Cuadro 22. Actividad de agua y pH de las pastas

|    | <b>Pasta de alperujo optimizada</b> | <b>Pasta de alperujo control</b> |
|----|-------------------------------------|----------------------------------|
| Aw | 0,97 ± 0,07 a                       | 0,98 ± 0,01 a                    |
| pH | 4,84 ± 0,04 a                       | 4,80 ± 0,07 a                    |

Promedios con letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos según prueba de rango múltiple de Tukey (p-valor < 0,05).

La actividad de agua resultó sin diferencias significativas entre ambas pastas, pero con valores altos de 0,97 y 0,98, para la pasta optimizada y la pasta control (Cuadro 22).

La actividad de agua, pH, la temperatura y otros parámetros, tienen un impacto directo en el crecimiento de microorganismos, siendo los parámetros más importantes. El agua libre está disponible para mohos, levaduras y bacterias, siendo responsable de su crecimiento e incluso la producción de toxinas, deteriorando la textura, sabor, color, valor nutricional de un producto, y su estabilidad, disminuyendo el tiempo de vida útil (FAO, 2003). Los microorganismos como bacterias, levaduras y mohos requieren como mínimo una aw de 0,91, 0,88 y 0,80 respectivamente, para crecer y desarrollarse (Herrera *et al.*, 2003); por lo que en este ámbito todos los microorganismos pueden desarrollarse en este tipo de alimento la pasta untada de alperujo, y es por ello, que se deben utilizar un método para estabilizar la pasta de alperujo del desarrollo patógeno durante el almacenamiento. La adición de sorbato de potasio y benzoato de sodio previenen el desarrollo de mohos en alimentos ácidos (Tortora *et al.* 1993, citado por Schwartz *et al.*, 2009). El benzoato de sodio inhibe de mohos y levaduras, siendo menos efectivo contra bacterias, mientras que el sorbato de potasio, es un potente inhibidor del crecimiento de una extensa variedad de hongos, levaduras y bacterias (Turanta *et al.*, 1999, citado por Schwartz, 2009), el cual es más efectivo como conservador de alimentos, cuando existe un pH ≤ 6,5 (Sofos, 1989, citado por García, 2005).

El pH permite controlar el desarrollo microbiano de los alimentos, como es el caso del *Clostridium botulinum*, que puede causar intoxicaciones debido a la toxina botulínica que contiene, originando la enfermedad del botulismo. Sin embargo, esta bacteria no se puede desarrollar en alimentos cuyo pH sea inferior a 4,5 (Mazzobre *et al.*, 2002, citado por Schwartz, 2009).

Las enzimas presentes durante la molienda del fruto de oliva: polifenoloxidasas, lipoxigenasa y peroxidasa (Segura y Fernández, 2009), varían en un rango de pH entre 5-9 para su óptima actividad (Badui, 2006), para lo cual, el pH 4,8 y 4,84 que tienen las pastas le otorgan estabilidad al alimento respecto a las enzimas en conjunto a los conservantes, sin embargo no frente al control de *Clostridium botulinum*.

La aceptabilidad se realizó con un panel de consumidores de 80 personas (Cuadro 23), de los cuales se identificaron 44 mujeres y 36 hombres, quienes en un 84%, tuvieron entre 18 y 25 años de edad. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas, en donde la

pasta óptima tuvo un valor de aceptabilidad mayor dentro de la escala de 0 a 15 cm, con 6,7 cm en promedio versus 3,59 cm de la pasta control. La pasta de alperujo control se ubica en el rango del “no me gusta” o poco aceptable, en cambio la pasta de alperujo optimizada entró al rango de la indiferencia, sin llegar a ser aceptable.

Cuadro 23. Aceptabilidad obtenida con panel de consumidores de 80 personas

|               | <b>Pasta de alperujo optimizada</b> | <b>Pasta de alperujo control</b> |
|---------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| Aceptabilidad | 6,70 ± 2,93 a                       | 3,59 ± 3,21 b                    |

Promedios con letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos según prueba de rango múltiple de Tukey (p-valor < 0,05).

El valor de aceptabilidad, obtenido en la pasta optimizada, fue totalmente diferente al valor esperado en la optimización, valor hipotético de 9,99 (Cuadro 18); lo que se puede atribuir, a que el panel entrenado analiza de manera integral la muestra que evalúa, a diferencia de un panel de consumidores, que puede no estar habituado al consumo de productos amargos, ya que en los comentarios que agregaron al final de cada evaluación de consumidores, señalaban que tenían un sabor fuerte o amargo.

Investigadores señalan acerca del contenido de glucosinolatos en brócoli para combatir el cáncer, que el amargor de los vegetales crucíferos es la vinculación de su baja aceptación por parte de los consumidores, y que el amargor es la principal razón para el rechazo de diversos productos alimenticios (Drewnowski, 1997, citado por Drewnowski y Gómez-Carneros, 2000). El rango de edad de los consumidores, puede ser un factor que influya en la baja tolerancia al amargor, como lo señala Drewnowski y Gómez-Carneros (2000), donde mencionan que el gusto para tolerar algún grado de amargo se va adquiriendo en la vida adulta, y el umbral para lo que es o no es aceptable puede variar de una persona a otra, debido a la respuesta individual, factores gustativos hereditarios, agravados por el sexo y la edad temprana del consumidor.

El amargor ha sido reportado como una disuasión sensorial negativa para la preferencia de los vegetales y su consumo; siendo los fenoles, flavonoides, isoflavones, terpenos y glucosinolatos los compuestos reponsables del amargor y la astringencia (Dinehart *et al.*, 2006; Drewnowski y Gómez-Carneros, 2000). Según Bianchi *et al.*, 2014, al realizar una encuesta sobre preferencias alimentarias y frecuencia de consumo con especial énfasis en vegetales y otros alimentos amargos con el fin de detectar si existe alguna relación entre el nivel de consumo y la preferencia de alimentos amargos; se evaluaron cuatro alimentos amargos: cerveza sin alcohol, café descafeinado, chocolate sin azúcar y pomelo. Con una población de 144 personas de la Pontificia Universidad Católica de Argentina, se puede concluir que el consumo de los cuatro alimentos amargos evaluados en el atributo amargor, es el mismo independientemente que sean gustadores o no gustadores de amargo. Sin

embargo, los valores promedios de aceptabilidad fueron significativamente menores que los del grupo que habitualmente consumía alimentos amargos.

En el caso de la caracterización funcional (Cuadro 24), se encontraron diferencias estadísticamente significativas sólo en el contenido de polifenoles, con un resultado mayor en la pasta de alperujo control. Los polifenoles totales de la pasta control, no fueron reducidos mediante el lavado con agua destilada, tal como se realizó con la pulpa de la pasta optimizada, siendo por esta razón, que el valor fué significativamente mayor. Para el caso de la fibra dietética total, insoluble y soluble, no hubo diferencias significativas, por lo que la pasta optimizada, mantuvo el contenido de fibra dietética que tenía la pulpa control. En cuanto a la capacidad antioxidante, si bien no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambas pastas, la pasta de alperujo optimizada tiene una alta capacidad antioxidante, pero con un menor contenido de polifenoles.

Cuadro 24. Caracterización funcional

|                                       | <b>Pasta de alperujo optimizada</b> |   | <b>Pasta de alperujo control</b> |   |
|---------------------------------------|-------------------------------------|---|----------------------------------|---|
| Polifenoles totales (EAG mg/g)        | 2,42 ± 0,02                         | b | 3,81 ± 0,08                      | a |
| Capacidad antioxidante DPPH (uM ET/g) | 28,37 ± 5,16                        | a | 25,39 ± 0,82                     | a |
| Fibra dietética total (g/100 g)*      | 6,89 ± 0,23                         | a | 6,45 ± 0,41                      | b |
| FDI (g/100 g)*                        | 6,62 ± 0,15                         | a | 6,15 ± 0,43                      | a |
| FDS (g/100 g)*                        | 0,27 ± 0,11                         | a | 0,29 ± 0,09                      | a |

Promedios con letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos según prueba de rango múltiple de Tukey (p-valor < 0,05). \*análisis en base a peso fresco. EAG (equivalentes de ácido gálico), FDI (fibra dietética insoluble), FDS (fibra dietética soluble).

La diferente naturaleza de los compuestos fenólicos de un elemento, generan diferencias en la capacidad antioxidante obtenida, para lo cual identificarlos mediante un estudio cromatográfico (Oliveras, 2005), podría ser útil para este caso, para poder identificar cual es el componente que hace tener una alta capacidad antioxidante en la pasta optimizada. Sin embargo, la pasta optimizada, a diferencia de la pasta control, utilizó pulpa lavada en una proporción de pulpa de alperujo: agua destilada de 1:1, lo que hidroliza a la oleuropeína presente en la pulpa de alperujo, generando una presencia mayor de hidroxitirosol circundante en la pulpa debido a la hidrólisis del enlace éster en la oleuropeína (Mateos *et al.*, 2001; citado por Gallardo, 2014). Los subproductos de la hidrólisis son menos amargos y tienen actividad antioxidante mayor como el hidroxitirosol, que tiene por lo menos dos veces más actividad antioxidante que su precursor, la oleuropeína (Yuan *et al.*, 2006). Se ha constatado en vivo e in vitro, que el hidroxitirosol ofrece una mayor protección frente a radicales libres en comparación a la oleuropeína y la vitamina E, frente a radicales como las micelas del ácido lonoléico o en la eliminación del anión superóxido (Ferran, 2015). El

EC50 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), que señala Yuan *et al.* (2015), es mucho menor en el hidroxitirosol que en la oleuropeína, con 1.07  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y 4,97  $\mu\text{g}/\text{mL}$  respectivamente, por lo que se señala la mayor capacidad antioxidante presente en el hidroxitirosol y que causa la mayor capacidad antioxidante de la pasta optimizada.

La fibra insoluble es el mayor componente de la oliva y de sus subproductos y, esta característica, puede ser interesante para incluir los subproductos de la producción de aceite de oliva, como ingredientes funcionales o como aditivos de alimentos (Galanakis, 2011).

La fibra dietética corresponden a polisacáridos, provenientes de la pared celular de las plantas, los cuales resisten la hidrólisis de las enzimas del sistema digestivo humano (Trowel, 1974, citado por Galanakis, 2011; Escudero y González, 2006), y su consumo se asocia a características funcionales en el organismo, como es la prevención y reducción de enfermedades como diabetes, enfermedades cardiovasculares, control del peso y enfermedades gastrointestinales (Slavin, 2008). Según lo señalado por el Minsal (2002), la fibra soluble tiene un efecto hipocolesterolémico, es decir, baja el colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad y reduce la glucosa sanguínea. La fibra insoluble, es capaz de retener el agua en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad; produciendo un aumento de la masa fecal que acelera el tránsito intestinal, contribuyendo a disminuir la constipación y disminuir la concentración y el tiempo de contacto de potenciales carcinogénicos con la mucosa del colon (Zacarías y Olivares, 2015; Kin, 2000, citado por Escudero y González, 2006); características que claramente potencian la pasta optimizada, como una buena fuente de fibra insoluble.

El consumo de entre 20 y 25 g diarios de fibra dietética, es lo recomendado para prevenir enfermedades crónicas (Minsal, 2005; Nishida *et al.*, 2004). La pasta de alperujo optimizada está aportando 2,1g de fibra/porción (porción de 30g), aportando un 11% de la dosis diaria de referencia. Por consiguiente, la pasta de alperujo optimizada, es un alimento catalogado como “Buena fuente de fibra”, ya que posee entre un 10-19% de fibra por porción respecto a la dosis diaria de referencia (Zacarías y Olivares, 2015).

Los compuestos fenólicos en las plantas cuando éstas son consumidas como alimento, contribuyen en el consumo de antioxidantes naturales en la dieta. Subproductos agroindustriales como el alperujo, son una buena fuente de compuestos fenólicos y ha sido explorado como fuente natural de antioxidantes (Balasundram *et al.*, 2006).

Los polifenoles o fenoles totales, son metabolitos secundarios de los vegetales, también conocidas como sustancias fitoquímicas o fitonutrientes, que desde el punto de vista de su actividad biológica, tienen propiedades captadoras de radicales libres, lo que les confiere actividad antioxidante, que podría estar relacionada con la prevención de enfermedades cardiovasculares y de algunos tipos de cáncer (Barberán, 2003). El contenido de polifenoles totales en un alimento, denominado como antioxidantes, tienen la particularidad de potenciar un alimento con la característica de asociar el alimento a una condición de la salud como la prevención del cáncer (Gutiérrez *et al.*, 2007). Aún no existe una ingesta dietética de referencia para los antioxidantes, pero un alimento con alto contenido de

antioxidantes, hace que el consumidor prefiera este producto, por sobre otro de las mismas características, ya que la tendencia actual muestra la preocupación por comer un alimento que sea saludable y es en este punto es donde los alimentos funcionales y nutraceuticos juegan un rol fundamental (Jordán, 2013).

La pasta untable de alperujo optimizada, es una buena opción alimenticia, gracias a las propiedades funcionales que posee. Según la nueva técnica sobre directrices nutricionales acerca de los mensajes que se utilizan para declarar propiedades saludables y funcionales de los alimentos, que asocia un alimento, un nutriente u otra sustancia con una condición de salud, de acuerdo a la resolución exenta N° 24/11 del Ministerio de Salud (Reglamento sanitario de los alimentos, 2015), la pasta de alperujo contiene un bajo contenido de aceite, posicionándola con un “Bajo aporte en grasa total”, que se relaciona a la prevención del cáncer. El alto contenido de fibra que posee la pasta de alperujo, con su catalogación de “Buena fuente de fibra dietética”, lo relaciona con la prevención de enfermedades cardiovasculares. Por otro lado, un alto contenido de polifenoles y una alta capacidad antioxidante, si bien no están en la lista de mensajes declarados, son características que de igual modo lo potencian como una buena opción alimenticia, gracias a su aporte como alimento funcional.

La pasta untable optimizada, finalmente se envasó en un envase de vidrio de 200g (Figura 10).



Figura 10. Pasta untable de alperujo optimizada envasada

## CONCLUSIONES

De acuerdo al procedimiento realizado para disminuir amargor en la pulpa de alperujo, se logró obtener una pasta unttable de alperujo, usando la pulpa de alperujo lavada en una proporción de pulpa y agua de 1:1 y optimizando su formulación con aditivos.

La adición de aceite, sal y ácido a los tratamientos con reducción de amargor en la pulpa de alperujo, evaluada por el panel entrenado, logró aumentar la aceptabilidad de éstos a un rango aceptable.

La pulpa de alperujo formulada con aceite de oliva, sal, ácido, emulsificante y conservantes evaluada sensorialmente por un panel entrenado, sólo y con galleta (forma convencional de consumo) respecto de una pasta de aceitunas negras comercial, logró alcanzar los valores de aceptabilidad de la pasta comercial, alcanzando el valor de referencia.

La caracterización funcional de la pasta final optimizada, determinó que la pasta de alperujo puede ser una opción como alimento saludable y funcional, teniendo una serie de beneficios en el organismo, gracias a sus componentes principales que le otorgan una alta capacidad antioxidante, alto contenido de polifenoles totales y un alto contenido de fibra dietética.

Los consumidores evaluaron sensorialmente la aceptabilidad de la pasta de alperujo optimizada y, ésta sólo se percibió dentro del rango de la indiferencia, con 6,9 puntos, influenciado por el sabor fuerte y amargo que aún posee la pasta de alperujo, tal como lo señalaban en sus comentarios una vez que evaluaban.

## BIBLIOGRAFÍA

- Albuquerque, J., J. González, D. García and J. Cegarra. 2004. Agrochemical characterisation of “alperujo”, a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Bioresource Technology* 91 (2):195-200.
- Albuquerque, J., J. González, D. García and J. Cegarra. 2006. Effects of bulking agent on the composting of “alperujo”, the solid by product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. *Process Biochemistry* 41:127-132.
- Albuquerque, J., J. González, D. García and J. Cegarra. 2007. Effects of a compost made from a solid by-product (“alperujo”) of a two-phase centrifugation system for olive oil extraction and cotton gin waste on growth and nutrients content ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Bioresource Technology* 98: 940-945.
- Araújo, M., F. Pimentel, R. Alvez and M. Olivieira. 2015. Phenolic compounds from olive mill wastes: Health effects, analytical approach and application as food antioxidants. *Trends in Food Science and Technology* 45: 200-211.
- Ávalos, A. y E. Pérez. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Serie Fisiología Vegetal* 2 (3): 119-145.
- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis of the Association Official of Analytical Chemists. 15th. Ed. Washington, DC. 1213p.
- A.O.A.C, (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis of the Association Official of Analytical Chemists. 16th. Ed. Maryland, U.S.A. 1141p.
- A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists). 1996. Official Methods of Analysis of the Association Official of Analytical Chemists. 15th. Ed. Virginia, U.S.A. 1140p.
- Badui, S. 2006. Química de los Alimentos. 4a. Ed. México: Pearson Educación de México. 716 p.
- Balasundram, N., K. Sundram and S. Samman. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99: 191-203.
- Barberán, T. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Instituto Danone*. 10 (2): 41-53.

Beltrán, G., A. Jiménez, M. 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.

Brand-Williams, W., M. Cuvelier and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissens chaft und Technologie* 28: 25-30.

Brozzoli, V., S. Bartocci, S. Terramocia, G. Contó, F. Federici, A. D'Annibale and M. Petruccioli. 2010. Stone olive pomace fermentation with *Pleurotus* species and its evaluation as a possible animal feed. *Enzyme Microbial Technology* 46: 223-228.

Cadaval, A., B. Artiach, U. Garín, C. Pérez y J. Aranceta. 2005. Alimentos funcionales. [En línea]. Disponible en: <<http://docplayer.es/10868407-Mas-saludable-senc-2005-autores-ainara-cadaval-belen-artiach-escauriaza-usoa-garin-barrutia-carmen-perez-rodrigo-javier-aranceta-direccion.html>>. Citado el: 16 de enero de 2016.

Calder, P. 2013. Food enrichment with omega-3 fatty acids. (cap. 1., 26 pp.). En Nutritional benefits of omega-3 fatty acids. 1a. Ed. University of Southampton, UK: Woodhead Publishing Limited. 426p.

Carrera-González, M., M. Ramírez-Expósito, M. Mayas and J. Martínez-Martos. 2013. Protective role of oleuropein and its metabolite hydroxytyrosol on cancer. *Trends in Food Science and Technology* 31: 92-99.

Castro, M. 2002. Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. *Interciencia* 27 (3): 128-136.

Centro de Competitividad del Maule, Chile. 2010. Informe “Aceite de Oliva”. 68p.

Chileoliva. 2014. Informe anual del mercado nacional de aceite de oliva [En línea]. Disponible en: <<http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%202012.pdf>>. Citado el: 14 de Junio del 2015.

Chileoliva. 2015. Boletín comercial 1º semestre 2015. [En línea]. Disponible en: <[http://www.chileoliva.cl/files/BS\\_1\\_2015](http://www.chileoliva.cl/files/BS_1_2015)>. Citado el: 30 de marzo de 2016.

C.O.I. Consejo Oleícola Internacional. 2014. Producción de aceite de oliva, desde los periodos 1990/91 a 2013/14. [En línea]. Disponible en: <[http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures?lang=es\\_ES](http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures?lang=es_ES)>. Citado el: 30 de Junio de 2014.

Congreso FoodInnova2014 = International Conference on Food Innovation (20 al 23 de octubre de 2014, Concordia, Argentina). Relación entre frecuencia de consumo y la preferencia de alimentos amargos. L. Bianchi; G. Burgos y D. Zamora. Concordia, Entre Ríos, Argentina: Universidad Nacional de Entre Ríos. 10p.

Coni, E., R. Di Benedetto, M. Di Pasquale, R. Masella and D. Modesti. 2000. Protective effect of oleuropein, an olive oil biophenol, on low density lipoprotein oxidizability in rabbits. *Lipids* 35 (1): 45-54.

Consejo Nacional de Producción Limpia. 2012. Guía para la Valorización del Alperujo en la Obtención de Energía Calórica para las Operaciones de las Plantas Olivícola. [En línea]. Disponible en: <[http://www.produccionlimpia.cl/medios/guia16\\_alperujo.pdf](http://www.produccionlimpia.cl/medios/guia16_alperujo.pdf)>. Citado el: 14 de Septiembre del 2014.

Cortés, P. y A. Sudy. 2012. Aceite de oliva. Santiago, Chile. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, ODEPA. 23p.

Decreto N° 13. Reglamento Ley 20.606 sobre Composición Nutricional de los Alimentos y su Publicidad. Santiago de Chile: Biblioteca del Congreso Nacional de Chile, 2015. 626p. [Publicada en Diario Oficial el: 26 de Junio de 2015].

De la Fuente, P., P. Chamorro, M. Moreno y M. Poza. 2004. Propiedades antioxidantes del hidroxitirosol procedente de la hoja de olivo (*Olea europaea* L.). *Revista de Fitoterapia* 4 (2): 139-147.

Dermeche, S., M. Nadour, C. Larroche, F. Moulti-Mati and P. Michaud. 2013. Olive mill wastes: Biochemical characterization and valorization strategies. *Process Biochemistry* 48: 1532-1552.

Dinehart, M., J. Hayes, L. Bartoshuk, S. Lanier and V. Duffy. 2006. Bitter taste maker explain variability in vegetables sweetness, bitterness, and intake. *Physiology and Behavior* 87: 304-313.

Drewnowski, A. and Gómez-Carneros. 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *The American Journal Clinical Nutrition* 72:1424-1435.

Escudero, E. y P. González. 2006. La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria* 21 (2): 61-72.

Estrada, J. 2011. La aceituna de mesa: nociones sobre sus características, elaboración y cualidades. 1a. Ed. Diputación de Sevilla, Andalucía. 156p.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 1985. Los subproductos del olivar en la alimentación animal en la cuenca del Mediterráneo: Importancia de la producción oleica y los subproductos del olivar. Roma, Italia. 46p.

FAO (Food and Agricultural Organization). 2003. Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas. [En línea]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y4358E/y4358E00.pdf>. Citado el: 26 de marzo de 2016.

Fernández-Bolaños, J., G. Rodríguez, E. Gómez, R. Guillén, A. Jiménez, A. Heredia et al. Total Recovery of the Waste of Two-Phase Olive Oil Processing: Isolation of Added-Value Compounds. 2004. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 5849–5855.

Fernández-Bolaños, J., Rodríguez, G., Rodríguez, R., Guillén, R. and Jiménez, A. 2006. Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste. *Grasas y Aceites* 57(1): 95-106.

Fernández-Bolaños J., G. Rodríguez, A. Lama, F. Senent, J. Fernández-Bolaños, I. Maya, O. López et al. 2014. Procedimiento para la obtención de extracto de hidroxitirosol, extracto mezcla de hidroxitirosol y 3,4-dihidroxifenilglicol, y extracto de acetato de hidroxitirosilo, a partir de subproductos del olivo, y su purificación. Javier Ungría. WO 2013007850 A1; A23L1/30; A61K36/63. Madrid, España. 11 de febrero de 2013. 5p.

Ferran, M. 2015. Hidroxitirosol, el mejor antioxidante natural y el más desconocido. Estudio comparativo con otros antioxidantes. Tesis de Magíster en Nutrición y Salud. Barcelona, España. Universidad abierta de Cataluña. 48 h.

Ficarra, P., R. Ficarra, A. De Pasquale, M. Monforte and Calabro, M. 1991. HPLC analysis of oleuropein and some flavonoids in leaf and bud of *Olea europaea* L. *II Farmaco* 46:803-815.

Galanakis, C. 2011. Olive fruit dietary fiber: components, recovery and applications. *Trends in Food Science and Technology* 22: 175-184.

Gallardo, E. 2014. Nitrocatecoles derivados de hidroxitirosol. Síntesis, biodisponibilidad y evaluación de su capacidad antioxidante y neuroprotectora. Memoria Doctoral. Málaga, España. Facultad de Medicina, Universidad de Málaga. 276 h.

García, A., C. Romero, P. García, A. Castro, E. Medina y M. Brenes. 2010. Procedimiento y dispositivo para la eliminación del amargor de aceitunas de mesa y producto así obtenido. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. 2,325,296; A23L 1/015, A23L 1/212 . Madrid, España. 29 de febrero de 2008. 14p.

García de la Fuente, R. 2011. Caracterización y uso de compost de alperujo como enmienda orgánica. Evaluación agronómica y medioambiental. Tesis Doctoral. Valencia, España. Departamento de producción vegetal, Universidad Politécnica de Valencia. 488 h.

García, J., K. Yousfi, R. Mateos and M. Olmo. 2001. Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea*) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4231-4235.

- García, R. 2005. Agentes bactericidas/bacteriostáticos a partir de sorbato de potasio, carvacrol y timol. Tesis profesional para obtener el título en Maestría en Ciencias de Alimentos. Escuela de Ingeniería, Universidad de las Américas Puebla. 159 h.
- Gil, M. 2015. Extracción de hidroxitirosol de alperujo de almazaras. Trabajo de fin de grado para obtener el grado en Ingeniería Alimentaria. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid. 175p.
- Gutiérrez, A., L. Ledesma, I. García y O. Grajales. 2007. Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana Salud Pública* 33 (1).
- Haris, S. 2010. Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. *Soudi Pharmaceutical Journal* 18: 111-121.
- Heredia, A. et al. 1991. Elaboración de aceitunas de mesa: Boletín N° 81 FAO. Roma, Italia. 184p.
- Hernández, D., L. Astudillo, M. Gutiérrez, C. Tenreiro, C. Retamal and C. Rojas. 2014. Biodiesel production from an industrial residue: Alperujo. *Industrial Crops and Products* 52: 495-498.
- Herrera, C., N. Bolaños y G. Luiz. 2003. Química de los alimentos: Manual de laboratorio. 1a. ed. San José, Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 149p.
- International Conference on Food Innovation (20 al 23 de octubre de 2014), Argentina. Relación entre la frecuencia de consumo y la preferencia de alimentos amargos. Bianchi, L., D. García y D. Zamora. Concordia, Entre Ríos: Universidad Nacional de Entre Ríos. 47p.
- Jaramillo, S., A. Castro y L. Rejano. 2011. Proceso tradicional de aderezo de aceitunas verdes de mesa. Racionalización del cocido. *Grasas y aceites* 62 (4): 375-382.
- Jaramillo, C. 2012. Evaluación agronómica de un suelo calizo enmendado con compost de alperujo. Tesis para optar a Master en Ciencias Agrarias con énfasis en suelos. Palmira, Colombia: Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. 53 h.
- Jordán, G. 2013. Las oportunidades para las empresas de Chile en los alimentos funcionales y nutraceuticos. [En línea]. Disponible en: <<http://www.agrimundo.cl/wp-content/uploads/Informe-Experto-con-formato-final-con-Indice-DEFINITIVO.pdf>>. Citado el: 20 de mayo de 2016.
- Labuza, T. et al. 1976. Water activity determination: A collaborative study of different methods. *Journal of Food Science* 41: 910-917.

- Lafka, T., A. Lazou, V. Sinanoglou and E. Lazos. 2014. Phenolic and antioxidant potential of olive mil wastes. *Food Chemistry* 125: 92-98.
- Lawless, H. and Heymann, H. 1998. Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices. Springer, New York, U.S.A. 606p.
- Lee, S. and J. De Vries. 1992. Determination of total, soluble and insoluble dietary fiber, in foods. Enzymatic gravimetric method. Mes-Tris Buffer. Collaborative Study. *Journal of AOAC International* 3(75): 395-416.
- Martín, J., I. Sampedro, I. García-Romera, J. García-Garrido and J. Ocampo. 2002. Arbuscular mycorrhizal colonization and growth of soybean (*Glycine max*) and lettuce (*Lactuca sativa*) and phytotoxic effects of olive mil residues. *Soil Biology Biochemistry* 34: 1769-1775.
- Martínez, G. 2004. Evolución temporal del alperujo procedente de la almazara. Tesis para Ingeniero Agrónomo. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y Montes, Universidad de Córdoba. 137p.
- Mataix, J. 2009. (cap. 11, 326-357pp). Aceite de oliva y salud. En: Alimentos funcionales y salud en etapas infantiles y juveniles. Andalucía: Ergon. 2032p.
- Medina, V. 2013. Evaluación del efecto tensoactivo de lecitina natural aplicada en la elaboración de emulsiones farmacéuticas. Tesis de Grado para optar por el Título Profesional de Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias químicas, Universidad Central de Ecuador. 94 h.
- MINSAL (Ministerio de Salud). 2002. Manejo alimentario del adulto con sobrepeso u obesidad. [En línea]. Disponible en: <<http://buenaspracticaps.cl/wp-content/uploads/2014/07/MINSAL-2002-manejo-alimentario-SP-OB.pdf>>. Citado el: 25 de enero de 2016.
- MINSAL (Ministerio de Salud). 2005. Selección de alimentos. Uso del etiquetado nutricional para una alimentación saludable. [En línea]. Disponible en: <[http://www.nutrinform.com/pagina/info/manual\\_etiquetado\\_nutricional.pdf](http://www.nutrinform.com/pagina/info/manual_etiquetado_nutricional.pdf)>. Citado el: 1 de abril de 2016.
- Montaño, A. 2016. Medida de diferentes parámetros físico-químicos de aceitunas y aceites vírgenes de las variedades principales cultivadas en Extremadura y desarrollo de Técnicas Elaiotécnicas para la mejora de comerciabilidad de los Aceites de Oliva Vírgenes. Tesis Doctoral. Badajoz, España: Facultad de Ciencias, Universidad de Extremadura. 654 h.

Mora, M.; Schnettler, B.; Fichet, T.; Silva, C. y Estrada, L. 2013. (cap. 9, 227-264pp). Desarrollo estratégico del mercado del aceite de oliva en Chile. En: Aportes al conocimiento del cultivo del olivo en Chile. Serie Ciencias Agronómicas N°21. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. 265p.

Morales, A. 2011. Influencia de la intensidad de poda en olivos variedad Coratina sobre las características del aceite de oliva. Memoria para optar al título profesional de Ingeniero Agrónomo con mención en Agroindustria. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 52 h.

Nasopoulou, C. and J. Zabetakis. 2013. Agricultural and Aquacultural Potential of Olive Pomace A Review. *Journal of Agricultural Science* 5 (7): 116- 127.

Nishida, C., R. Uauy, S. Kumanyika and P. Shetty. 2004. The Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public Health Nutrition* 7(1A): 245–250.

ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). 2012. Actualización del catastro de la agroindustria hortofrutícola chilena. Chile. 202p.

Oliveras, M. 2005. Calidad del aceite de oliva virgen extra. Antioxidantes y función biológica. Memoria para optar al grado de Doctor en Farmacia. Granada, España: Facultad de Farmacia, Universidad de Granada. 300p.

Ozdemir, Y., Guven, E y Ozturk, A. 2014. Understanding the Characteristics of Oleuropein for Table Olive Processing. *Journal Food Process Technology* 5:528.

Parisi, I., I. Casaburi, M. Sinicropi, P. Avena, A. Caruso, F. Givigliano et al. 2014. Most Relevant Polyphenols Present in the Mediterranean Diet and Their Incidence in Cancer Diseases. (Cap. 101, pp. 1341-1351). En: Polyphenol in Human Health and disease. San Diego, Estados Unidos: Editorial Elsevier. 1426p.

Pefaur, J. 2015. [En línea]. El aceite de oliva. Disponible en: <[http://www.odepa.cl/wp-content/files\\_mf/1432733975Aceitedeoliva2015.pdf](http://www.odepa.cl/wp-content/files_mf/1432733975Aceitedeoliva2015.pdf)>. Citado el: 1 de abril de 2016

Polzonetti, V., D. Egidi, A. Vita, S. Vincenzetti and P. Natalini. 2004. Involvement of oleuropein in (some) digestive metabolic pathways. *Food Chemistry* 88: 11-15.

Porrás-Loaiza, A. y A. López-Malo. 2009. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 3 1:121-134.

Ramos, P., S. Santos, A. Guerra, O. Guerreiro, L. Felicio, E. Jerónimo et al. 2013. Valorization of olive mill residues: Antioxidant and breast cancer antiproliferative activities of hydroxytyrosol-rich extracts derived from olive oil by-products. *Industrial Crops and Products* 46: 359-368.

Reglamento Sanitario de los Alimentos. 2015. Ministerio de salud. Chile. 182p.

Rodríguez, G., A. Lama, R. Rodríguez, A. Jiménez, R. Guillén and J. Fernández-Bolaños. 2008. Olive Stone an attractive source of bioactive and valuable compounds. *Bioresource Technology* 99: 5261-5269.

Roig, A., M. Cayuela and M. Sánchez-Monedero. 2006. An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management* 26: 960-969.

Rubio-Senent, F., J. Fernández-Bolaños, G. Rodríguez-Gutiérrez and A. Lama-Muñoz. 2013. Phenolic extract obtained from steam-treated olive oil waste: Characterization and antioxidant activity. *Food Science and Technology* 54: 114-124.

Ruiz-Márquez, D., Partal, P., Franco, J y Gallegos, C. 2010. Emulsiones alimentarias aceite-en-agua estabilizadas con proteínas de atún. *Grasas y Aceites* 61 (4): 352-360.

Ryan, D., H. Lawrence, P. Prenzler, M. Antolovich and K. Robards. 2001. Recovery of phenolic compounds from *Olea europaea*. *Analytica Chimica Acta* 445: 67-77.

Ryan, D., Prenzler, P., Lavee, S., Antolovich, M., Robards, K. 2003. Quantitative changes in phenolic content during physiological development of the olive (*Olea europaea*) cultivar Hardy's Mammoth. *Journal of Agricultural Science* 51: 2532-2538.

Sánchez, A., P. García and L. Rejano. 2006. Elaboration of table olives. *Grasas y aceites* 57(1): 86-94.

Sandulachi, E. 2012. [En línea]. Water activity concept and its role in food preservation. Disponible en: [http://www.utm.md/meridian/2012/MI\\_4\\_2012/8\\_Art\\_Sandulachi\\_E\\_Water.pdf](http://www.utm.md/meridian/2012/MI_4_2012/8_Art_Sandulachi_E_Water.pdf). Citado el: 30 de marzo de 2016.

Savas, E. and V. Uylaser. 2013. Quality Improvement of Green Table Olive cv. 'Domat' (*Olea europaea* L.) Grown in Turkey Using Different De-Bittering Methods. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici* 41 (1): 269-275.

Schwartz, M., V. Quitral, C. Daccarett y J. Callejas. 2009. Desarrollo de pasta untable de aceituna variedad Sevillana. *Grasas y Aceites* 60 (5), 451-457.

Segura, A. y A. Fernández. 2009. El Aceite de Oliva Virgen: Tesoro de Andalucía 13 perspectivas concatenadas. Málaga, España: Fundación Unicaja. 432p.

Singlenton V., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. 1999. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology Journal* 299: 152-178.

- Slavin J. 2008. Position of the American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the American Dietetic Association* 108: 1716-31
- Torrecilla, J. 2000. Secado de orujo en lecho fluidizado- móvil. Memoria para grado Doctor. Madrid. Facultad de Ciencias químicas, Universidad Complutense de Madrid. 62 h.
- Tovar de Dios, M. 2001. Estudio del efecto de la aplicación de diferentes estrategias de riego al olivo (*olea europea L.*) de la variedad arbequina sobre la composición del aceite. Tesis Doctoral. Lleida, España. Escuela técnica Superior de Ingeniería Agraria, Universidad de Lleida. 633 h.
- Unala, K. and C. Nergiz. 2003. The effect of table olive preparing methods and storage on the composition and nutritive value of olives. *Grasas y Aceites* 54 (1): 71-76.
- Uribe, E., R. Lemus-Mondaca, A. Vega-Gálvez, M. Zamorano, I. Quispe-Fuentes, A. Pasten et al. 2014. Influence of process temperatura on drying kinetics, physicochemical properties and antioxidant capacity of the olive-waste cake. *Food Chemistry* 147: 170-176.
- Usaquen, S. 2008. Aprovechamiento y valorización del alperorujó tratado térmicamente como: Fertilizante biológico y fuente de hidroxitirosol. Tesis de grado para optar al título de microbiólogo industrial. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. 73 h.
- Varnero, T., K. Galleguillos, D. Guerrero y J. Suárez. 2014. Producción de Biogás y Enmiendas Orgánicas a partir del residuo olivícola (Alperujo). *Información Tecnológica* 25 (5): 73-78.
- Vidal, L. y C. Díaz. 2009. Desafíos de la industria de alimentos procesados-alimentos funcionales. [En línea]. Disponible en: <[http://cnic.economia.cl/index.php/doc\\_download/47-desafios-de-la-industria-de-alimentos-procesados-alimentos-funcionales.html](http://cnic.economia.cl/index.php/doc_download/47-desafios-de-la-industria-de-alimentos-procesados-alimentos-funcionales.html)>. Citado el: 20 de enero de 2016.
- Yuan, J., C. Wang, J. Ye, R. Tao and Y. Zhang. 2015. Enzymatic hydrolysis of oleuropein from *Olea europea* (olive) leaf extract and antioxidants activities. *Molecules* 20: 2903-2921.
- Zacarías, I. y S. Olivares. 2015. Etiquetado nutricional de los alimentos. [En línea]. Disponible en: <[https://www.inta.cl/material\\_educativo/cd/ Etiquet.pdf](https://www.inta.cl/material_educativo/cd/ Etiquet.pdf)>. Citado el: 30 de marzo de 2016.
- Zheng W and S. Wang. 2001. Antioxidant activity and phenolic composition in selected herbs. *Journal Agricultural Food Chemistry* 49 (11): 5165-5170.
- Zumbe, A. 2007. 1 de noviembre de 2007. Polvo de aceitunas. Nutraceutical s.a. ES2280029 T3; A23L 1/212, A23B 7/02. Valencia, España. 17 de Junio de 2004. 10p.

## APÉNDICE

### Apéndice I. Pasta de aceitunas negras, marca BUKA.



### Apéndice II. Pasta de aceitunas negras, marca Huascoliva.

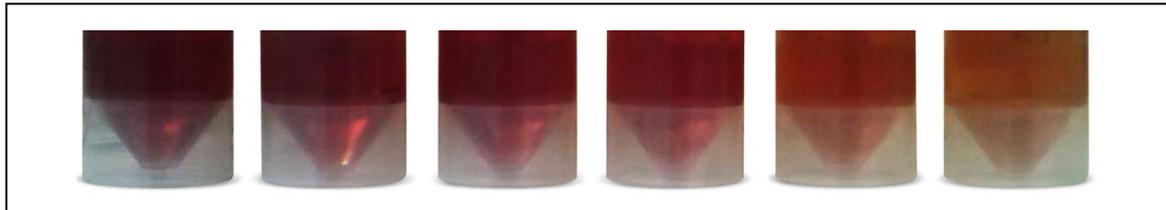


**Apéndice III.** Evaluación de Aceptabilidad con galleta “craker”, para untar.

| <b>Tratamientos evaluados</b>          | <b>Aceptabilidad con galleta</b> |
|--|----------------------------------|
| Pasta de alperujo con aceite de canola | 9,4 a                            |
| Pasta de alperujo con aceite de oliva  | 10,8 a                           |
| Pasta de aceitunas negras              | 10,4 a                           |
| E.E                                    | 0,53                             |

La galleta aumentó mucho más la aceptabilidad de las pastas de alperujo, como era lo esperado, ya que ambas pastas de alperujo, tanto la con aceite de canola y la con aceite de oliva, aumentaron 2 puntos de aceptabilidad (Cuadro 15). Lo que no ocurrió de la misma forma con la pasta de aceitunas negras, que sin galleta tenía la misma puntuación. Esta situación llevó a las pasta de alperujo a entrar a una situación igualitaria en aceptabilidad con respecto a la pasta de aceitunas comercial, las 3 estando en el rango “me gusta”.

**Apéndice IV.** Extracción Metanólica ácida para medir fenoles totales y la disminución de compuestos fenólicos. De izquierda a derecha se encuentra en orden los tratamientos: Pulpa control, (4:1), (2:1), (1:1), (1:2) y (1:4).



**Apéndice V. Pauta de evaluación sensorial, aceptabilidad de los tratamientos**

**EVALUACIÓN DE ACEPTABILIDAD**

|               |              |
|---------------|--------------|
| Nombre: ..... | Fecha: ..... |
|---------------|--------------|

**INSTRUCCIONES**

Por favor, indique con una línea vertical la aceptabilidad para cada muestra.

- N° muestra:



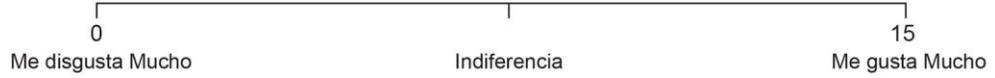
- N° muestra:



- N° muestra:



- N° muestra:



- N° muestra:



- N° muestra:



## Apéndice VI. Pauta evaluación sensorial, calidad de los tratamientos

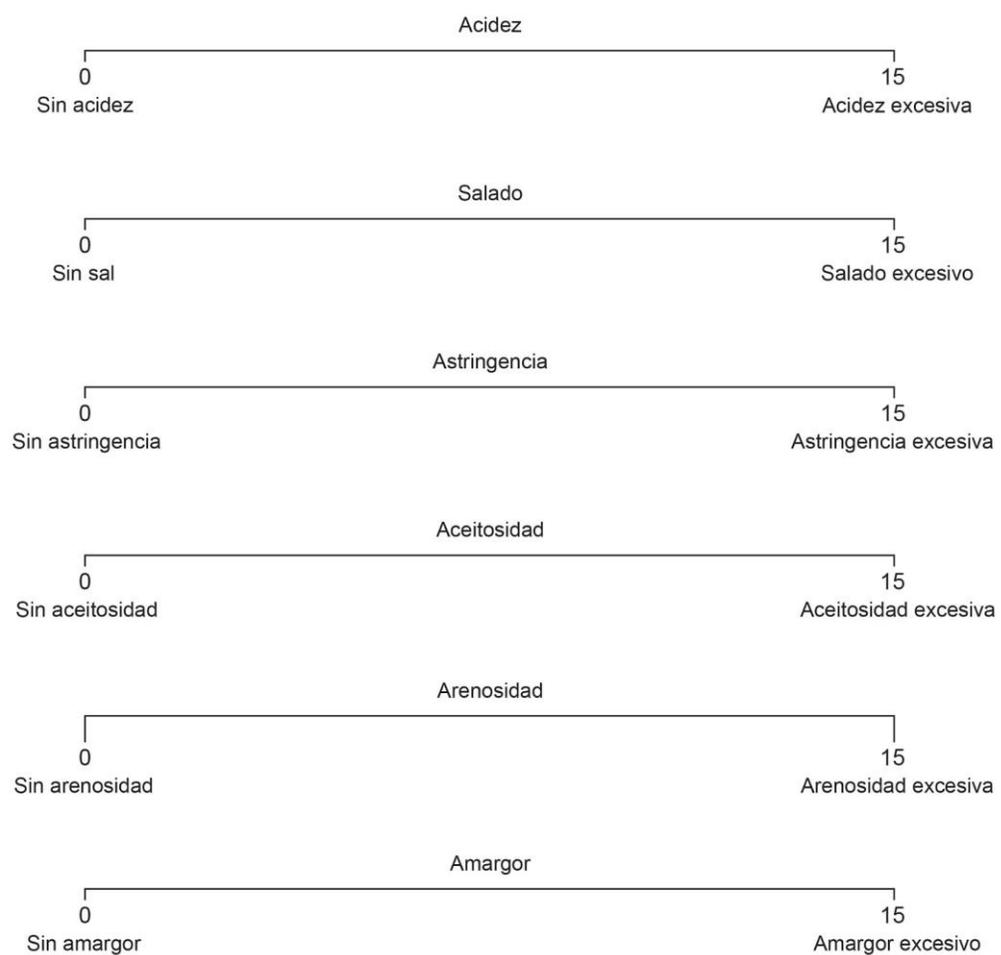
### EVALUACIÓN DE CALIDAD

Nombre: ..... Fecha: .....

#### INSTRUCCIONES

Por favor, indique con una línea vertical la calidad del producto, considerando las siguientes características.

- N° muestra:



**Apéndice VII.** Curva de ácido gálico utilizada para obtener contenido de polifenoles totales.

