



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Empleo de megasonido y uso de carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva virgen extra

Miguel Alejandro Amarillo Marzegan

Tesis de Doctorado

Presentada como uno de los requisitos para el título de

Doctor

Programa de Posgrado en Química

de la Facultad de Química

Universidad de la República

Julio, 2023

Empleo de megasonido y uso de carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva virgen extra

Tribunal:

Dr. Ignacio Vieitez

Dr. Iván Jachmanián

Dra. Beatriz Sánchez Calvo

Tutores:

Dra. Adriana Gámbaro

Dr. Pablo Juliano

Empleo de megasonido y uso de carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva virgen extra

Miguel Amarillo, Dr.

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de
Química
Universidad de la República
2023

Directores:

Dra Adriana Gámbaro (Facultad de Química, Udelar, Uruguay)

Dr. Pablo Juliano (Septiembre 2017 – presente, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Australia)

Dra. María Antonia Grompone + (Junio 2015- Agosto 2017, Facultad de Química, Udelar, Uruguay)

Application of megasonics and calcium carbonate in the extraction of extra virgin olive oil

Miguel Amarillo, Dr.

Programa de Posgrado en Química de la facultad de

Química

Universidad de la República

2023

Directores:

Dra Adriana Gámbaro (Facultad de Química, Udelar,
Uruguay)

Dr. Pablo Juliano (Commonwealth Scientific and Industrial
Research Organisation, Australia)

Agradecimientos

Primero quiero expresar mi agradecimiento a Adriana por permitirme formar parte del mundo académico, guiarme, formarme y aconsejarme buscando siempre mi mejor fortuna. Antonia (Q.E.P.D), gracias a tu ejemplo aprendí el rigor y disciplina, aprendiendo del regocijo del trabajo logrado. Pablo, gracias por iluminar mi camino con consejos, darme el coraje para creer que se puede hacer mejor y que todo va a salir bien. El apoyo recibido fue increíble y el orgullo que siento de haber podido formar parte de tantos grupos diversos de trabajo, aprendiendo de tantas disciplinas diferentes permitiendo que el conocimiento adquirido no solo sea científico, sino también emocional y profundo.

Esta tesis no comenzó con la inscripción al programa de doctorado, sino con el trabajo experimental de fin de carrera, dando mis primeros pasos en el mundo del aceite de oliva. Valga la redundancia el mundo también lo conocí gracias al aceite de oliva. Las actividades de intercambio fueron muy provechosas, no solo en lo académico sino en lo espiritual, permitiéndome conocer personas que han dejado una huella enorme en mi corazón. No existen palabras para expresar mi amor, pasión y agradecimiento por ese árbol noble, milenario y majestuoso al que llamamos olivo. Los conocimientos aportados por esta tesis no solo han permitido la profundización en el conocimiento del olivar, sino también la vinculación obtenida en la temática, desde mi desempeño en el panel cata de aceite de oliva como también compartir el conocimiento en la docencia en diversos cursos y la charlas en escuelas divulgando las virtudes el aceite de oliva.

Agradecer a mi familia. A mis padres por el estímulo, motivación y amor. A mi hermana por su constante apoyo incondicional. A mis amigos por ser mi soporte. A mis pares de la familia de Sensorial, quienes hacen de mi día a día una experiencia única. A mis compañeros de Grasas y Aceites, donde durante un tiempo fue mi segundo hogar en FQ. A mis compañeros de CYTAL por siempre tener una sonrisa o un abrazo para alegrar mi día. También expresar mi agradecimiento al Panel de aceite de oliva, con quienes semana a semana velamos con compromiso por la calidad sensorial de los aceites de oliva comercializados en Uruguay. Agradecer a ANII, COI, CSIC y PEDECIBA por los apoyos percibidos. A José, Jorge, Paula, INIA y los emprendimientos Paso del

Empedrado, Santa Laura, Tuperçi y El Morrito ya que sin vuestra colaboración no podría haber conseguido los resultados obtenidos.

Deseando que no se me escape nadie, expreso mi agradecimiento a todos quienes me han acompañado en esta tesis, ya sea desde el involucramiento hasta una mera sonrisa haciendo que se aliviane el peso del trabajo, incluso en los momentos más difíciles. ¡Gracias!

Financiamientos

El presente trabajo fue financiado por los siguientes proyectos:

- *“Aplicación de técnicas de megasonido en la elaboración de aceite de oliva virgen”*. Proyecto de investigación Aplicada, Fondo Maria Viñas-2014. Responsable: Dra. M^a Antonia Grompone. Categoría de participación: Participante de los ensayos y analista de los aceites obtenidos, finalizado en 2018.
- *“Scale up of megasonic technology to increase olive oil recovery”*, Julius Career Award, CSIRO. Responsable: Dr. Pablo Juliano. Categoría de participación: Investigador, finalizado en 2019.
- *“Influencia del Agregado de Carbonato de calcio sobre el rendimiento de extracción y la calidad de Aceite de Oliva Virgen Extra de producción nacional”*. Proyecto de investigación CSIC, Modalidad 1. Responsables: Dra. Adriana Gámbaro y Dra. Ana Claudia Ellis. Categoría de participación: Investigador, finalizado en 2020.

La movilidad internacional fue financiada por las siguientes agencias:

- Miguel Alejandro Amarillo Marzegan recibió apoyo económico con becas de Maestría en ANNI (FMV_1_2014_1_103755) y beca de Doctorado en ANII POS_NAC_2018_1_152327)) de Uruguay.
- La movilidad internacional fue financiada por el proyecto FMV_1_2014_1_103755 de ANII y MIA 2019 (PAS+CONG) de CSIC.

Lista de Publicaciones

Las investigaciones de esta Tesis de Doctorado dieron como resultado las siguientes publicaciones:

Artículos de Investigación:

- Amarillo, M.; Gámbaro, A.; Ellis, A.C.; Irigaray, B.; Lázaro, J.; Tamborrino, A.; Romaniello, R.; Leone, A.; Juliano, P. (2021) Shelf life of extra virgin olive oil manufactured with combined microwaves and megasonic waves at industrial scale. *LWT - Food Science and Technology*, 146,111345.
- Amarillo, M.; Pérez, N.; Blasina, F.; Gámbaro, A.; Leone, A.; Romaniello, R.; Xu, X-Q.; Juliano, P. (2019). Impact of sound attenuation on ultrasound-driven yield improvements during olive oil extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 53, 142–151.
- Leone, A.; Romaniello, R.; Tamborrino, A.; Urbani, S.; Servili, M.; Amarillo, M.; Grompone, M.A.; Gámbaro, A.; Juliano, P. (2018). Application of microwaves and megasound to olive paste in an industrial olive oil extraction plant: impact on virgin olive oil quality and composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120: 1-8.

Otras publicaciones relacionadas con esta tesis incluyen:

- Martínez, N.; Segura, N.; Amarillo, M.; Grompone, M.A. (2018) Improvement in the extraction of Hass avocado virgin oil by ultrasound application. *Journal of Food Research*, Vol. 7, No. 2: 106-113.
- Amarillo, M.; Martínez, N.; Segura, N.; Grompone, M.A. (2017) Extraction of virgin avocado oil (*Persea americana* Mill.) in an Abencor pilot plant. *Grasas y Aceites*, e110: 114-121.
- Segura, N.; Martínez, N.; Amarillo, M.; Irigaray, B.; Grompone, M.A. Extracción de aceite virgen de palta (*Persea americana* Mill.) en una planta piloto Abencor: Influencia del grado de madurez post cosecha (2017). *A&G. Oleaginosas y Aceites Especiales, Gourmet y Exóticos*, e108: 48-53.
- Irigaray, B.; Martinez, N.; Feller, C.; Amarillo, M.; Grompone, M. (2016) Shelf Life of Monovarietal Extra Virgin Olive Oils Cv. Arbequina and Coratina.

Journal of Food Research, 5(5), 2016: 88-94.

- Grompone, M. A.; Callejas, N.; Martínez, N.; Feller, C.; Amarillo, M.; Irigaray, B. A. (2016) Variation of the content of ethyl esters in extra virgin olive oils during their shelf life. *Journal of Food Science and Engineering*, 6, 21-25.

Presentación de pósters

- Amarillo, M.; Ellis, A.C.; Lázaro, J.; Juliano, P.; Gámbaro, A. Influencia del agregado de carbonato de calcio en la calidad de aceite de oliva virgen extra de variedad arbequina extraídos en almazara. Foro de la Industria, Tecnología y Calidad Oleícola del XXI Symposium Científico - Técnico - Expoliva 2023. 10 al 13 de mayo de 2023, Jaén, España.
- Amarillo, M.; Pérez, N.; Blasina, F.; Gámbaro, A.; Leone, A.; Romaniello, R.; Xu, X-Q.; Juliano, P. Impact of sound attenuation on ultrasound-driven yield improvements during olive oil extraction. 13th International Congresss on Engineering and Food (ICEF13), 23-26 de Septiembre de 2019, Melbourne, Australia.
- Amarillo, M.; Ellis A.C.; Gámbaro, Grompone, M.A.; A.; Leone, A.; Romaniello, R.; Tamborrino, A.; Juliano, P. Influence of microwave application on the sensory profile of virgin olive oil. 12th Pangborn Sensory Science Symposium 2017, 20 – 24 August 2017, Providence, Rhode Island, USA.
- Amarillo, M.; Gámbaro, A.; Grompone, M.A.; Juliano, P. Extracción de aceite de oliva virgen asistida por aplicación de ultrasonido de alta frecuencia. XVII Congreso Latinoamericano y Exposición sobre Grasas, Aceites y Lípidos de AOCS, 11 al 14 de septiembre de 2017, Cancún, México.
- Amarillo, M.; Gámbaro, Grompone, M.A.; Juliano, P. Vida Útil de aceite de oliva virgen, obtenido por aplicación de ultrasonido de alta frecuencia. XVII Congreso Latinoamericano y Exposición sobre Grasas, Aceites y Lípidos de AOCS, 11 al 14 de septiembre de 2017, Cancún, México.

Presentación oral

- Empleo de megasonido en la extracción de aceite de oliva virgen extra, Resultados Experimentales en olivos, INIA, Montevideo, 7 de noviembre de 2022.

Conferencia

- Utilización de carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva virgen extra. Primer Congreso Latinoamericano de Aceite de Oliva, formato virtual, 19 de abril al 30 de abril de 2021.

Actividades de intercambio científico

- Beca otorgada por el Consejo Oleícola Internacional (COI) para el Curso TÍTULO UNIVERSITARIO DE EXPERTO EN CATA DE ACEITE DE ACEITES DE OLIVA VÍRGENES. Dictado por Universidad de Jaén. Octubre a diciembre de 2014. Universidad de Jaén, Jaén, España.

Pasantías en el exterior

- Estancia pre doctoral en la Universidad de Jaén, Grupo de Investigación "Bioprocesos TEP-I38, Junta de Andalucía", bajo la dirección del Dr. Sebastián Sánchez. Tema de investigación: "Extracción y caracterización de aceite de oliva virgen de la variedad 'Picual', utilizando microtálco natural". Noviembre-diciembre 2013.
- Estancia de posgrado en la Universidad de Foggia, Departamento de Ciencia de la Agrícola, Alimentos y Medio ambiente (SAFE), bajo la dirección del Professor Alessandro Leone. Tema de investigación: Extracción de aceite de oliva por demostración de la habilidad de la intervención de microondas (MW) y megasonido (MS) para reducir el tiempo de malaxado en el porceso de extracción de aceite de oliva a escala semi-piloto (pruebas de 350 kg/h) manteniendo el rendimiento de extracción. Evaluación la recuperación de aceite de oliva a escala laboratorio luego del tratamiento con seleccionadas frecuencias de megasonido (400 kHz y 2 MHz) y determinación de los efectos sobre la calidad de los aceites obtenidos con estas novedosas intervenciones de porcesos (MS o MW). Noviembre- Diciembre 2016.

- Estancia de posgrado en el Food Innovation Centre (CSIRO) en Melbourne, Australia con motivo de la escritura de la tesis de doctorado y artículos científicos generados como resultado de la tesis. Octubre 2019.

Contenido

<i>Agradecimientos</i>	5
Financiamientos	7
Abreviaciones	16
Resumen ingles	17
Resumen español	20
Introducción	23
1. Introducción General	23
1.2. Historia de la olivicultura en el Uruguay	24
1.3. Condiciones de suelo ideales para el crecimiento del olivo	25
1.4. Condiciones de Uruguay para el desarrollo del olivo.....	26
1.5. Estacionalidad del olivo.....	27
1.6. Situación actual del sector olivícola en el Uruguay.....	28
Regiones de producción olivícola.....	29
1.7. La producción actual de aceite de oliva virgen en el Uruguay.....	31
1.8. Normativa vigente y definición de aceite de oliva virgen	33
1.9. Procesamiento de la aceituna.....	37
1.9.1. Limitantes del proceso	39
1.9.2. Coadyuvantes tecnológicos.....	43
1.9.2.1. Coadyuvantes Físicos.....	44
Agua.....	44
Cloruro de Sodio.....	44
Talco	44
Carbonato de Calcio	45
1.9.2.2. Coadyuvantes químicos.....	45
Enzimas.....	45
1.9.3. Nuevas tecnologías	45
Intercambiadores de calor	46
Ultrasonido	46
Ultrasonido de baja frecuencia	46
Ultrasonido de alta frecuencia (Megasonido).....	46
Microondas	47
Alta Presiones.....	47

Campos de pulsos eléctricos (PEF).....	48
1.9.4. Estado del arte de tecnologías físicas empleadas para mejorar le recuperación de aceite 48	
2. Conclusiones.....	49
Objetivos	50
Capítulo 1	51
1.1. Introducción	52
1.2. Materiales y Métodos	55
1.2.1. Muestreo de aceitunas.....	55
1.2.2. Método de extracción de aceite de oliva	55
1.2.3. Reactor de ultrasonido.....	56
1.2.4. Diseño experimental	57
1.2.5. Caracterización del reactor de ultrasonido	61
Tratamiento estadístico	66
1.3. Resultados y discusión	66
1.3.2. Caracterización del reactor de megasonido.....	67
1.3.3. Efectos de atenuación sobre la extractabilidad de aceite de oliva	71
1.3.3.1. Efecto de la adición de agua.....	76
1.3.3.2. Efectos de la frecuencia	77
1.3.3.3. Reducción del tiempo de batido	77
1.3.3.4. Reducción de la energía de ultrasonido.....	78
1.4. Conclusiones.....	79
1.5. Agradecimientos	79
Capítulo 2	80
2.1. Introducción	82
2.2. Materiales y métodos	84
2.2.1. Prototipos de Megasonido y Microondas empleado en los experimentos	84
2.2.2.1. Programación de las pruebas.....	87
2.2.2.2. Muestreo	88
2.2.3. Parámetros legales de calidad del aceite de oliva virgen extra	88
Compuestos fenólicos en los aceites recolectados.....	89
Compuestos volátiles en aceites recolectados	89
Evaluación Sensorial.....	91
Tratamiento Estadístico	91
2.3. Resultados y discusión	92

2.3.1.	Impacto del novedoso acondicionamiento de pasta de aceituna en los parámetros comerciales del aceite virgen extra	92
2.3.2.	Efecto de la combinación de los tratamientos microondas-megasonido sobre los compuestos fenólicos.....	93
2.3.3.	Impacto del tratamiento combinado de microondas-megasonido sobre los compuestos volátiles.....	94
2.3.4.	Impacto del tratamiento combinado de microondas-mega sonido en el análisis sensorial	96
2.4.	Conclusiones.....	97
2.5.	Agradecimientos	97
Capítulo 3		99
3.1.	Introducción	100
3.2.	Materiales y Métodos	102
3.2.1.	Metodo de acondicionamiento de aceite de oliva.....	102
3.2.2.	Muestreo de aceite de oliva para el estudio de estabilidad	102
Figura 3.2. Metodología de muestreo para el almacenamiento de muestras de aceite de oliva.		103
3.2.3.	Estudio de estabilidad de aceite de oliva	103
3.2.3.1.	Evaluación Sensorial.....	103
3.2.3.2.	Determinación de la calidad química	106
	Análisis de datos.....	109
3.3.	Resultados y Discusión	110
3.3.1.	Efectos los condicionamientos de la pasta en la extractabilidad de aceite de oliva	110
3.3.2.	Caracterización de los aceites de oliva virgenes de las muestras con y sin tratamientos a tiempo cero	110
3.3.2.1.	Perfil Sensorial.....	110
3.3.2.2.	Calidad Química	112
3.3.3.	Estudio de estabilidad de las muestras con y sin tratamiento almacenado durante 12 meses.....	115
3.4.	Conclusiones.....	122
3.5.	Agradecimientos	122
Capitulo 4		124
4.1.	Introducción	125
4.2.	Materiales & métodos.....	127
4.2.1.	Ensayos de recuperación de aceite de oliva a escala de laboratorio Abencor	127
	Análisis a la pasta de aceitunas	130
	Análisis de calidad químicos en los aceites de oliva	130

Análisis estadístico	131
4.2.2. Ensayos de recuperación de aceite en almazara industrial	131
Análisis estadístico	134
Análisis estadístico	134
4.3. Resultados y discusión	135
4.3.1. Resultados de las pruebas en el Abencor	135
4.3.1.1. Caracterización de la calidad de los productos obtenidos.....	138
4.3.2. Resultados de recuperación a escala Industrial	142
4.3.3. Resultado del Estudio de estabilidad:	145
4.4. Conclusiones.....	147
Agradecimientos	147
Conclusiones	148
Bibliografía	151

Abreviaciones

AOV	Aceite de oliva virgen
CC	Carbonato de Calcio
COI	Consejo oleícola Internacional
E	Extractabilidad
FFT	Fast Fourier Transform
MI	Índice de Madurez
MS	Megasonido
MTN	Micro talco natural
MW	Microondas
MW+MS	Microondas y megasonido combinados
NE	Extractabilidad neta de Carbonato
NUE	Extractabilidad neta de ultrasonido
PCL	Controlador lógico programable
PEF	Campos electricos pulsantes
SPL	Niveles de presion de sonido
UE	Unión europea

Resumen ingles

Olive oil extraction process is inefficient. It is a physical process that includes crushing, malaxing and centrifugation for the recovery of virgin and extra virgin quality oil. However, the process is subject to limitations and will only recover 70 to 85% of success with traditional methods, resulting in pomace losses at the end of the process. In the last ten years, physical techniques may be developed to improve the recovery of virgin and extra virgin quality steel. This includes the use of technologies such as heat exchangers, MW, high frequency ultrasonic (megasonic) MS and PEF as well as addition of coadjuvants (eg talc, calcium carbonate, enzymes) to the olive paste. However, some of these techniques are under development or work being evaluated for their industrial application.

In particular, this thesis focuses on advancing in the application of megasonic, including combinations with microwaves, and calcium carbonate in olive paste to improve the recovery of extra virgin olive oil. Until the moment of this thesis, the application of megasonic in whipped pasta has been studied at the laboratory level, demonstrating additional recovery of extra virgin olive oil up to 2%. Likewise, there is little published information on the application of calcium carbonate at an industrial level.

With this frame of reference, the objective of this doctoral thesis was to evaluate the effect of intervening in the olive oil extraction process with megasound and calcium carbonate application techniques. The possibility of increasing the extractability of oil in the process (applying megasonic at the end of malaxing step for a certain time or adding calcium carbonate at the beginning of the malaxing, according to the study) as well as the possibility of optimizing the process by reducing malaxing time was evaluated.

In the first place, the mechanisms by which megasonic has its effect on extractability were studied at the laboratory level, as well as the sound attenuation coefficients for olive paste, finding that the mechanism by which megasonics acts is not by standing wave resonance due to the attenuation of the olive paste, so one of the mechanisms that would explain the action is the

cavitation phenomena of liquid bubbles. The study was accompanied by possible optimizations of the process such as reduction of the malaxing time, reduction of the megasonic application time, reduction of the megasonic application power and the reduction of the distance between the megasonic transducer and the opposite wall.

On the other hand, the application of high frequency ultrasound at 350 kg/h was evaluated at an industrial level. The process was intervened by applying megasonic at the end of the shake. These experiences were carried out in Italy, where the application of microwaves was also studied, as an opportunity to replace the shake. The combination of megasonic with microwaves was also studied. The olives with which the extractions were made were of the Coratina variety. It was found that it was possible to replace the malaxing step by applying microwaves and obtain the same oil recovery. It was also possible to increase the extractability by applying megasonic and combining the application of microwaves and megasonic (86% and 86.9% respectively) compared to a control (84.7%). The quality of the oils obtained was verified with sensory analysis, acidity, peroxide index, K232 and K270 coefficients, ethyl esters and wax content, and the content of polyphenols and tocopherols was also measured. It was found that the interventions do not impact the quality of the oils obtained, but it was possible to increase the content of polyphenols in the oils obtained.

Subsequently, the stability of these oils was monitored throughout a year of storage. It was observed that the application of microwaves, megasonic and the combination of both technologies does not impact the useful life of the extracted oils.

Finally, the application of calcium carbonate in the extraction of olive oils from Arbequina variety olives was investigated. It was studied at the laboratory level at the Abencor plant and the application of calcium carbonate at the 2% and 4% incorporation levels was confirmed at an industrial level of 500 kg/h in two oil mills. The possibility of reducing the mixing time from 40 minutes to 30 minutes was also studied. The results indicated that calcium carbonate as coadjuvant

allows an extra oil recovery of around 8% of olive oil, and that it is possible at an industrial level to reduce the malaxing time from 40 to 30 minutes with the addition of calcium carbonate. The oils extracted at an industrial level were analysed for 6 months with quality measurements through sensory analysis, acidity, peroxide index and K232 and K2 coefficients.

Resumen español

El proceso de extracción del aceite de oliva es ineficiente. Es un proceso físico que incluye la molienda, batido y centrifugado para la recuperación del aceite de calidad virgen y extra virgen. Sin embargo, el proceso tiene sus limitaciones ya que solo recupera en 70 al 85% del aceite con los métodos tradicionales, generando pérdidas en el orujo al final de proceso. En las últimas décadas se han desarrollado técnicas físicas para mejorar la recuperación del aceite con calidad virgen y extra virgen. Estas incluyen el uso de tecnologías como intercambiadores de calor, MW, ultrasonido de alta frecuencia (megasonido) MS, y PEF así como el agregado de coadyuvantes (ej. talco, carbonato de calcio, enzimas) a la pasta de la oliva. Sin embargo, algunas de estas técnicas están en desarrollo o continúan siendo evaluadas para su aplicación industrial.

En particular, esta tesis se focaliza en avanzar en la aplicación de megasonido, incluyendo combinaciones con microondas, y carbonato de calcio en pasta de oliva para mejorar la recuperación de aceite de olive extra virgen. Hasta el momento de esta tesis, la aplicación de megasonido en la pasta batida ha sido estudiada a nivel de laboratorio, demostrando recuperación adicional de aceite de oliva extra virgen hasta el 2%. Asimismo, hay poca información publicada sobre la aplicación de carbonato de calcio a nivel industrial.

Con este marco de referencia, el objetivo de la presente tesis doctoral fue evaluar el efecto de intervenir el proceso de extracción de aceite de oliva con técnicas de aplicación de megasonido y carbonato de calcio. Se evaluó tanto la posibilidad de aumentar la extractabilidad de aceite en el proceso (aplicando megasonido al final de batido por un tiempo determinado o agregando carbonato de calcio al comienzo del batido, según el estudio) como también la posibilidad de optimizar el proceso mediante reducción del tiempo de batido.

En primer lugar, se estudió a nivel de laboratorio los mecanismos por los cuáles el megasonido tiene su efecto en la extractabilidad, así como los coeficientes de atenuación de sonido para pasta de aceituna, encontrándose que el mecanismo

por el cual el megasonido actúa no es por resonancia de ondas estacionarias debido a la atenuación de la pasta de aceitunas, por lo que uno de los mecanismos que explicarían la acción son los fenómenos de cavitación de burbujas de líquido. Se acompañó el estudio con posibles optimizaciones del proceso como reducción de tiempo de batido, reducción del tiempo de aplicación de megasonido, disminución de la potencia de aplicación de megasonido y la reducción de la distancia transductor de megasonido – pared opuesta.

Por otro lado, se evaluó a nivel industrial la aplicación de ultrasonido de alta frecuencia a 350 kg/h. Se intervino el proceso aplicando megasonido al final de batido. Estas experiencias se llevaron a cabo en Italia, donde también se estudió la aplicación de microondas, como oportunidad de sustitución del batido. También se estudió la combinación de megasonido con microondas. Las aceitunas con las que se realizaron las extracciones eran de variedad Coratina. Se encontró que fue posible sustituir el batido aplicando microondas y obtener la misma recuperación de aceite. También fue posible aumentar la extractabilidad aplicando megasonido y combinando la aplicación de microondas y megasonido (86% y 86.9% respectivamente) frente a un control (84.7%). La calidad de los aceites obtenidos se verificó con análisis sensorial, acidez, índice de peróxidos, coeficientes K232 y K270, contenido de etil ésteres y de ceras, y también se midió el contenido de polifenoles y tocoferoles. Se encontró que las intervenciones no impactan en la calidad de los aceites obtenidos, pero si se logró aumentar el contenido de polifenoles en los aceites obtenidos.

Posteriormente se realizó un seguimiento de la estabilidad de estos aceites a lo largo de un año de almacenamiento. Se observó que la aplicación de microondas, megasonido y la combinación de ambas tecnologías no impacta en la vida útil de los aceites extraídos.

Por último, se investigó la aplicación de carbonato de calcio en la extracción de aceites de oliva proveniente de aceitunas de variedad Arbequina. Se estudió a nivel de laboratorio en la planta Abencor y se corroboró a nivel industrial de 500 kg/h en dos almazaras la aplicación de carbonato de calcio en los niveles de incorporación 2% y 4%. También se estudió la posibilidad de reducir el tiempo

de batido de 40 minutos a 30 minutos. Los resultados indicaron que el carbonato de calcio como coadyuvante permite una recuperación extra de aceite de alrededor de 8% de aceite de oliva, y que es posible a nivel industrial reducir el tiempo de batido de 40 a 30 minutos con incorporación de carbonato de calcio. Los aceites extraídos a nivel industrial fueron analizados durante 6 meses con las mediciones de calidad por medio del análisis sensorial, acidez, índice de peróxidos y coeficientes K232 y K270. Se encontró que la aplicación de carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva no tiene impacto sobre su vida útil.

En conclusión, la presente tesis doctoral confirmó el potencial la aplicación de megasonido en la extracción de aceite de oliva (solo o en combinación con microondas) y la incorporación de carbonato como posibles auxiliares del proceso, tanto a nivel de laboratorio como a nivel industrial. Estos no solo logran mejora la eficiencia del proceso por una mayor recuperación de aceite, sino también por reducción del tiempo del proceso, resultados que son muy beneficiosos para el sector olivícola.

Introducción

1. *Introducción General*

El aceite de oliva ha sido un alimento muy importante en la historia de la humanidad y ha estado presente en la cotidianidad como lo demuestran vestigios arqueológicos, documentos de época e ilustraciones donde se evidencia el empleo tanto del olivo como de sus productos (olivas, aceite de oliva y hojas de olivo) (Fernandez Gutierrez & Segura Carretero, 2010). Los métodos para la obtención de aceite de oliva han sido acompañados de los avances del hombre en el conocimiento de las artes agrícolas como el diseño de elementos para la molienda de las olivas.

Boskou (1996) señala que el olivo como lo conocemos hoy en día, procede de las regiones que corresponden a Siria, Persia y Mesopotamia. Otros documentos encontrados indican que los territorios dónde el olivo fue originalmente cultivado fueron Siria, Líbano, Palestina, Chipre y Creta (Hartmann & Bougas, 1970; Loukas & Krimbas, 1983). Cada civilización le daba un empleo diferente. Los Palestinos y Sirios empleaban las olivas como alimento, además del aceite. Los egipcios lo empleaban en la cosmética, con mezcla con otros ingredientes, incluso ofrecían las aceitunas como alimento para que acompañe al difunto en el viaje a la otra vida. Los griegos atribuían al olivo trascendencia religiosa, médica y social (Martinez et al., 2005). Empleaban el aceite como alimento e iluminación, también como ungüento para las peleas cuerpo a cuerpo. Era el alimento principal tanto del pueblo como de soldados. A cada territorio que conquistaban, le transferían sus conocimientos sobre el olivo.

Los romanos, en cambio, transportaban consigo olivos y los cultivaban en cada territorio conquistado. Para estos, el aceite de oliva era considerado de alto valor agregado, lo empleaban para el cuidado de la piel en las clases altas de la sociedad (Espejo, 2005; Fernández, 2010). Siglos antes del nacimiento de Cristo, los romanos ya empleaban su propio sistema de clasificación de aceite de oliva en función de la calidad de las olivas de las que provenían (“óleum viride”, de aceitunas casi maduras y “óleum caducum”, de olivas caídas del

árbol), si bien el empleo del aceite era más bien cosmético (Janick, 2011). En el caso de España fue a fines del siglo XX el auge de su producción, luego de la reconquista por la ocupación árabe (722-1492 d.c.). La cultura árabe quedó tan arraigada a la cultura española que la misma palabra aceite proviene del árabe (al-zait, que significa jugo de aceituna). De manera similar, el nombre almazara viene de la palabra al-má'sara, nombre que se le daba antiguamente a la prensa de aceitunas (Fernandez Gutierrez & Segura Carretero, 2010). Con el descubrimiento de América en el año 1492 se introdujo el olivo en el continente suramericano, entrando por las Antillas (Caballero, 2013).

1.2. Historia de la olivicultura en el Uruguay

En el año 1780 se establecieron las primeras plantaciones de olivo en Uruguay como intento de impulsar el sector olivícola; estas plantaciones se ubicaron en las costas del arroyo Miguelete, en el departamento de Montevideo (Pereira et al., 2018). Según el libro “Observaciones sobre la agricultura” se cuenta que las primeras plantas de olivo llegaron desde Buenos Aires y las últimas vinieron bajo forma de estacas en 1810, siendo “más de 250 las que brotaron en septiembre en las cosas de Miguelete (Muñoz, 1992). Luego de la independencia de la provincia, los montes del Miguelete se multiplicaron en número y las especies plantadas alcanzaron su máximo esplendor en las postrimerías del siglo XIX (Comisión de Vecinos del Barrio Atahualpa, 2007). La Cartilla del Cultivo del Olivo fue acompañada por la Ley para el Fomento para el Comercio de la aceituna y sus derivados. De esta manera se le otorgaba beneficios y estímulos (como exoneración de impuestos), incluso hasta el Banco República ofrecía planes de créditos a los cultivadores (Historia del Barrio Manga, 2011).

Como resultado se impulsó el establecimiento de otras explotaciones más importantes, en un contexto productivo mixto agrícola-ganadero en los departamentos de Paysandú, Salto y Río Negro. Dicho movimiento dio nacimiento a los primeros emprendimientos locales de producción de aceite. El Mercado Olivarero del Uruguay gestionó sobre los años 1948-1949, por medio de la embajada de Uruguay localizada en Buenos Aires, la importación de las siguientes variedades de olivos: Arbequina, Picudila, Arauco, Manzanilla, Misión y Leccino (Mercado Olivarero, 1950). Luego hay un período de abandono de esta

actividad y de los olivos hasta que cerca de 1994 se retomó la actividad. En el año 2000 comienza una significativa expansión del número de hectáreas de olivar, con particular expansión en los años 2002-2003, iniciando el actual desarrollo olivarero en el Uruguay. Esto logra que el aceite de oliva se consolide en el 2009 como producto nacional buscando ofrecer aceites reconocidos por su alta calidad, alcanzando para el año 2021 unas 5.024 hectáreas de producción (DIEA, 2021).

1.3. Condiciones de suelo ideales para el crecimiento del olivo

El olivo es un árbol muy adaptable a diferentes tipos de suelos, pero prefiere los suelos de texturas francas, entendiéndose como “suelos sueltos que favorecen el desarrollo y crecimiento de raíces y percolación del agua en profundidad”, dando como resultado una aireación y permeabilidad adecuadas para el desarrollo del árbol. El sistema radicular de este árbol es superficial y abundante, por lo que suelos de 1.2 metros o más de profundidad efectiva (se recomienda superar 0.8 metros) son los que dan mejores resultados para su desarrollo (Bueno, 2014). El olivo (*Olea europaeae*) es una especie perenne, subtropical, que exige climas templados-cálidos, con inviernos suaves y veranos largos. Prefiere temperaturas moderadas entre 10 y 30 °C (Bueno, 2014). Es un árbol muy longevo que puede permanecer vivo y productivo durante cientos de años (Rapoport, 2008). Puede alcanzar hasta 15 metros de altura, con una copa ancha y tronco grueso, retorcido y a menudo muy corto.

Caracteres como la densidad de la copa, el porte, el color de la madera, etc. Varían según el cultivar. El hábitat del olivo se concentra entre las latitudes 30° y 45°, tanto en el hemisferio norte como en el sur, en regiones climáticas del tipo Mediterráneo, caracterizadas por veranos secos y calurosos e inviernos con temperaturas suaves (Trujillo & Barranco, 2004).

El cultivo es sensible al frío comparado a otros frutales, pero experimenta un endurecimiento de los tejidos vegetales provocado por la acción de los progresivos fríos del otoño y entra en período de reposo, haciéndose resistente a temperaturas inferiores a 0 °C. Durante el período de crecimiento y maduración del fruto en el árbol, es dañado por condiciones de temperaturas inferiores a 0

°C, afectando negativamente la producción y disminuyendo la calidad del aceite (Bueno, 2014),

En el hemisferio sur, el olivar está presente en latitudes más tropicales con clima modificado por la altitud. El crecimiento y desarrollo del olivo es lento. El olivo durante su vida presenta dos fases, la fase juvenil y la fase adulta. La fase juvenil se compone desde la germinación de la semilla hasta que florece, la cual puede llevar hasta 12-13 años (García-Limones et al., 2007). La fase adulta se diferencia por cambios morfológicos que se manifiestan en la capacidad reproductiva y diferencias morfológicas en hojas y ramas (Rapoport, 2008). Suele dar fruto al cabo de 5 a 10 años desde su plantación y no alcanza su pleno desarrollo hasta los 10 a 15 años. Desde los 35 a los 100-150 años se encuentra en su período de madurez y plena producción. Posteriormente envejece y sus rendimientos son desiguales (Civantos, 2008; Navarro y Parra, 2008; Rapoport, 2008; ASOLIVA, 2009).

1.4. Condiciones de Uruguay para el desarrollo del olivo

Uruguay se localiza dentro de la zona templada del sudeste del continente, ubicado entre los 30° y 35° de latitud sur y los 53° y 58° de longitud oeste. Posee más de 670 km de costas sobre el Río de la Plata (río más ancho del mundo) y el Océano Atlántico, como consecuencia el clima tiene una fuerte influencia en la masa oceánica. Las alturas son menores a 513 m sobre el nivel del mar siendo la pradera el bioma que predomina. El clima en el Uruguay es templado húmedo con una alta variabilidad intra e interanual tanto en el régimen pluviométrico como en el térmico. Las precipitaciones anuales varían entre 1100 y 1600 mm y como consecuencia de una distribución no uniforme es frecuente la ocurrencia de períodos de exceso y déficit hídrico (Leoni et al., 2018). La humedad relativa es alta, normalmente cercana a 70 %, lo que determina condiciones predisponentes al desarrollo de enfermedades durante todo el año, como es el caso de *Colletotrichum*, hongo que se conoce comúnmente como Jabonosa (Moreira & Alaniz, 2021). Esta enfermedad se propaga atacando el fruto e incluso flores del olivo, y transfiriendo al aceite un defecto sensorial que se percibe como “jabón”. En los países europeos de tradición olivarera como España e Italia no sufren el

desarrollo de esta enfermedad por la baja humedad, comparados con Uruguay (Leoni et al., 2018).

La temperatura promedio anual es de 17 °C, con inviernos suaves, ocurriendo años de muy baja oferta de frío y veranos con medias máximas promedios menores a 30 °C. La temperatura ambiente es muy variable y dicha variabilidad térmica interanual afecta tanto el inicio como el fin de los diferentes estados fenológicos lo que determina un amplio periodo de probabilidad de ocurrencia de cada uno de ellos. La brotación típicamente comienza en el mes de agosto y la floración ocurre desde mediados de octubre hasta mediados de noviembre, anticipándose 15 días en el norte del país. La temperatura promedio en la primavera es menor a 18 °C, pudiendo ocasionar períodos de floración extendidos en el tiempo, causando como consecuencia desincronización entre cultivares. Se han registrado años con adecuados porcentajes de cuajado a pesar que pueden ocurrir eventos de lluvia que pueden lavar el polen del aire.

De acuerdo a Arias et al. (2021), la producción agropecuaria se dedica en un 90% de la superficie del país. Las densidades de plantación son entre 300 y 400 plantas por hectáreas caracterizando el sistema productivo olivícola como intensivo y en secano el cual se clasifica como sistema S5 (Olivar intensivo de secano) de acuerdo al COI (COI, 2015). Esta clasificación considera el nivel de producción como las condiciones de irrigación desde S1 (olivar tradicional en alta pendiente de secano hasta S7 (olivar superintensivo de regadío). Menos de un 5% de la producción se clasifican como S6 (olivar intensivo de regadío) (Rallo et al., 2013).

1.5. Estacionalidad del olivo

La oliva al desarrollarse en el árbol, tiene un comportamiento sigmoideo y se caracteriza por las siguientes 2 fases, las cuales son muy dependientes a la restricción de agua:

- La fase inicial, durante la división celular y fase de expansión, desde el florecimiento hasta el cuajado de la fruta.
- Segunda fase, durante la expansión celular del fruto y fase de lipogénesis, que abarca desde el endurecimiento del fruto hasta la cosecha.

En la segunda fase, el crecimiento de la fruta aumenta bruscamente a medida que las células del mesocarpio se expanden (Conde et al., 2022). Un déficit de riego en este período puede reducir el peso del fruto y el contenido de aceite, lo que también puede afectar la composición del aceite, como el contenido de polifenoles (Tovar et al., 2002, Artajo et al., 2006, Ahumada-Orellana et al., 2018).

El mencionado endurecimiento de hueso tiene lugar a principios de enero y aproximadamente en marzo comienza el envero dependiendo del año y del cultivar. Los efectos negativos como consecuencia del déficit hídrico que ocurre durante el verano se agravan en sistemas de producción en secano y en suelos con baja capacidad de almacenaje de agua. Sin embargo, frente a la posibilidad de ocurrencia de veranos y otoños lluviosos la alerta se centra en cosechas anticipadas para evitar la pérdida de rendimiento por enfermedades que derivan de la permanencia de frutos mojados o humedecidos en presencia de alta humedad ambiente (Arias et al., 2021).

El olivo presenta una particularidad en su producción. Un año puede desarrollar una gran cantidad de frutas y al año siguiente esta puede ser significativamente menor. Una baja producción de la zafra respecto al año anterior responde a diversos factores, entre los que la “vecería” también conocida como alternancia del cultivo fue señalada como la razón principal por la que obtuvo esta producción (Lavee, 2007). Este fenómeno de vecería además de tener efecto sobre montes enteros, también afectó la producción de muchos olivicultores que si produjeron dando como resultado una baja producción en la zafra 2020. También se suele clasificar la productividad de los olivos en función de su edad. La mitad de la superficie de olivos se encuentra en la fase de plena producción (entre 11 y 20 años) estando el 48 % restante en edad de inicio de la producción comercial (6 a 10 años) y de formación (menos de 6 años) (MGAP, 2020).

1.6. Situación actual del sector olivícola en el Uruguay

Un total de 162 explotaciones productivas de olivos fueron censadas sumando una superficie total de 46.881 ha y 5.916 hectáreas efectivas de olivos que

equivale al 13% de la superficie explotada. Esto indica que otras actividades agropecuarias se asocian al rubro, en particular en las zonas centro y litoral oeste donde esta proporción se reduce a 6 y 7% del total. (Gorga et al., 2021). Además de aceite de oliva, un 1 % de la producción del 2021 se destinó a la elaboración de aceituna de mesa. (DIEA, 2021). La figura 1 muestra la evolución de la producción de aceite de oliva de los últimos 9 años.

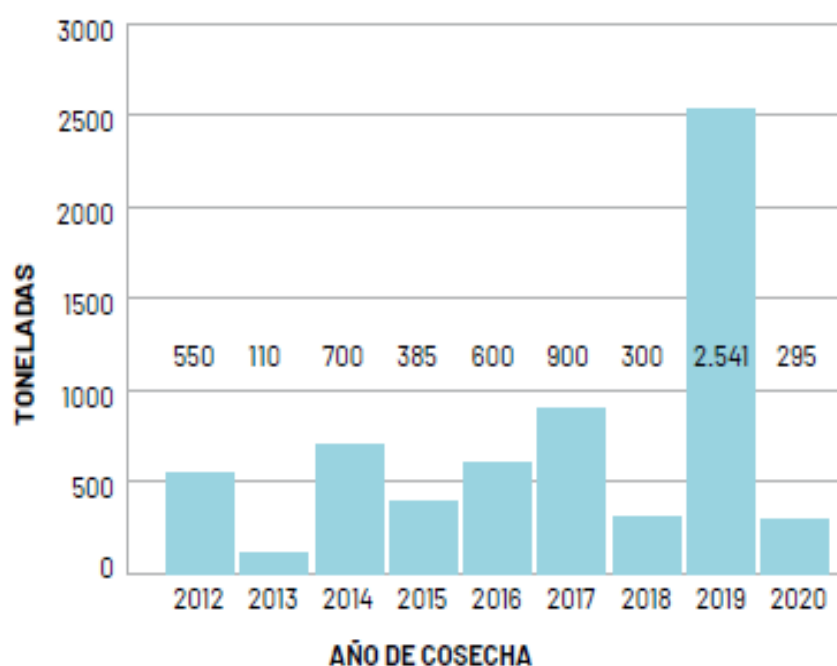


Figura 1. MGAP-DIEA basado en información del sector privado y Censo productores de Olivos 2020.

A primera vista se destacan dos cosas: la variabilidad en la producción causada por la alternancia mencionada anteriormente, y el récord de producción alcanzado en el año 2019.

Regiones de producción olivícola

La figura 2 ilustra la distribución de las explotaciones de producción de aceite de oliva. Destaca en el mapa la mayor concentración de explotaciones en la zona Este del territorio uruguayo.

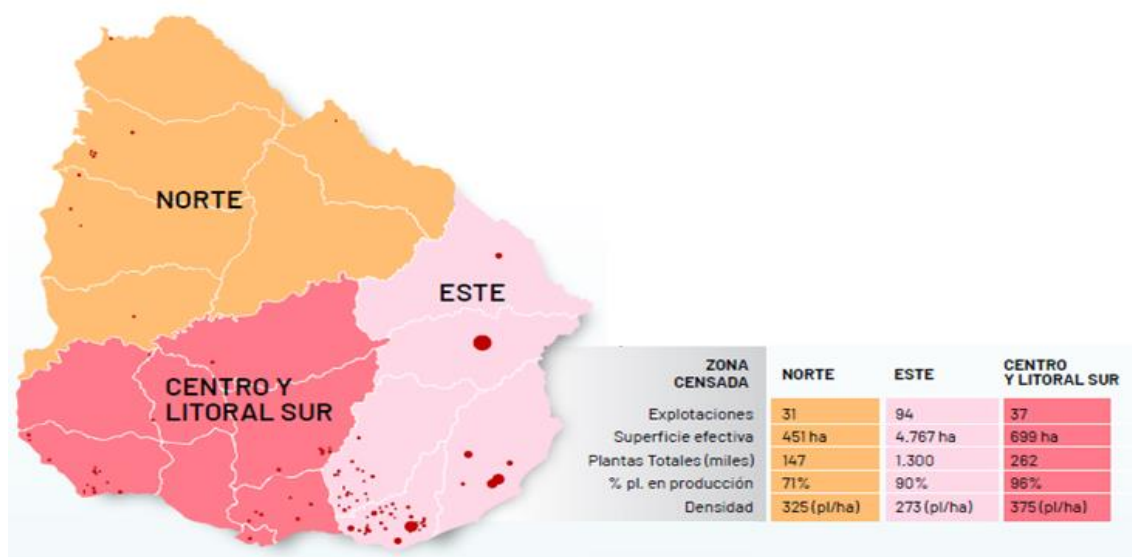


Figura 2. Distribución de las explotaciones, superficie efectiva y plantas totales de olivos según zona. Fuente: MGAP-DIEA, Censo de Productores de olivos 2020.

Del total de las explotaciones productivas, el 58% se localizan en la zona Este del país siendo el 81 % del área efectiva de olivos, la cual abarca a los departamentos de Maldonado, Rocha, Treinta y Tres, Lavalleja y Cerro Largo. Cuentan con el 93 % de las plantas totales en producción y presentan una densidad promedio de plantas por hectárea superior al promedio nacional y de la zona (MGAP, 2020). Alrededor del 93% de los kilos producidos en la zafra fueron aportados por la zona Este, con un 90% del volumen de cosecha proveniente de explotaciones que manejan 50 y más hectáreas. De la misma forma que a nivel nacional, la producción cosechada se destinó en un 99% a la producción de aceite de oliva. Se reportó en el año 2021 una producción de fruta de 16.714.00 kg, que comparado al año 2020, y similar al récord histórico del año 2019. Solo un 1% del total de la fruta se destinó para la elaboración de aceituna de mesa (DIEIA, 2021).

En el Uruguay se han plantado variedades tradicionales de países como España (Arbequina, Picual), Grecia (Koroneiki) e Italia (Coratina, Leccino). La tabla 1 muestra las variedades más plantadas. Estas variedades fueron plantadas empleando variedades certificadas de los países mencionados (Tous et al., 2005).

Tabla 1. Variedades plantadas según superficie activa. Fuente: MGAP – DIEA, Censo de Productores de Olivos 2020.

Variedades	Superficie Efectiva	%
Total	5.916	100
Arbequina	2.788	47
Coratina	1.259	21
Picual	652	11
Frantoio	613	10
Otras (*)	604	10

Cuatro son las variedades que acumulan el 90% de la superficie cultivada, siendo Arbequina la de mayor presencia con un 47% de la superficie, seguida por Coratina con el 21% y Picual junto con Frantoio con el 11% respectivamente (Conde et al., 2019). El 90% del volumen cosechado en la zafra 2019/2020, provino de las cuatro variedades más sembradas (1.850.373 kg), siendo Arbequina la de mayor producción, con el 58% de la producción total (MGAP, 2020). Según los resultados de estudios realizados por el INIA, los cultivares con mejor comportamiento productivo son Arbequina, Picual, Frantoio, Coratina y Koroneiki. Los rendimientos promedios registrados superan las 8 toneladas/ha de fruta, con rendimientos en aceite (base fresca) entre 12 y 18 % según el cultivar. Si bien en condiciones comerciales de secano la productividad alcanzada es menor y muy dependiente de la vecería, los cultivares más plantados actualmente en el país coinciden con los recomendados (Arias et al., 2021).

1.7. La producción actual de aceite de oliva virgen en el Uruguay

De acuerdo a la información publicada por IndexMundi (<https://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=olive-oil&graph=production>), la producción de la Unión Europea (UE) fue el 90% de la producción mundial con 1900 millones de toneladas. Lejos está la producción uruguaya de alcanzar esos niveles de producción. La última información publicada oficialmente sobre la producción uruguaya de aceite de oliva ronda los 1.926.562 kg sobre la producción cosechada 1.931.746 kg. De acuerdo a la información publicada, en el año 2001 las exportaciones de aceite de oliva fueron 3.989 kg, los que aumentaron a 1.013.000 kg para el año 2019, evidenciando la

importancia que están ganando los aceites de oliva uruguayo en el mercado internacional (MGAP (2020)).

La figura 3 muestra la evolución de las importaciones de aceite de oliva virgen extra y los demás aceites de oliva. Para el año 2021 solo se consideraron las importaciones entre enero y junio. Como puede observarse la importación de aceites de oliva ha ido disminuyendo. Esto significa que hay una demanda y consumo interno que está haciendo que estas importaciones bajen.

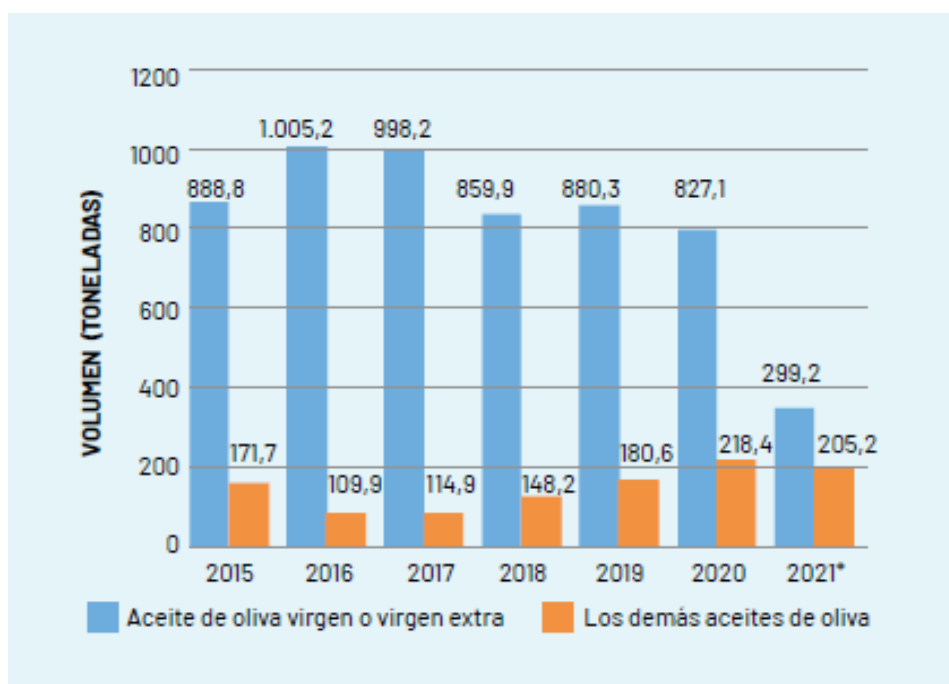


Figura 3. Importaciones de aceite de oliva de Uruguay. Fuente: OPYPA/MGAP con base en Urunet.

Si bien el consumo de aceite de oliva ha ido en aumento en el Uruguay, en los últimos tres años el consumo interno promedió alrededor de 1.700 toneladas, lo que equivaldría a unos 500 gramos per cápita. Lejos se está del consumo que tienen países como Grecia, donde el consumo per cápita ronda los 21.4 L al año. Representan los aceites de oliva el 2% del total de aceites consumidos en el país siendo el de girasol el más consumido y empleando el aceite de oliva principalmente como aderezo de ensaladas u otros platos (Gorga et al., 2021).

A diferencia de otros países como España e Italia, Uruguay exporta únicamente aceite de oliva virgen extra. La figura 4 muestra el comportamiento de las exportaciones y los principales países destino de las mismas.

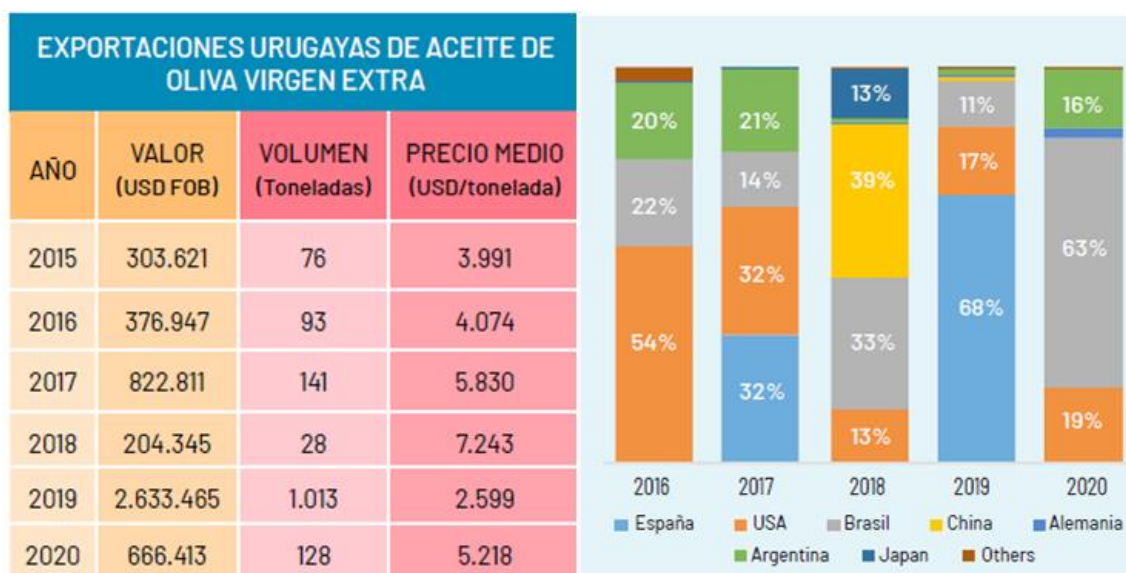


Figura 4. Exportaciones de aceite de oliva de Uruguay y participación del valor exportado por destino. Fuente: OPYPA con base en Urunet.

El volumen exportado varía año a año por factores como la alternancia, como se mencionó anteriormente. En el año 2019 se alcanzó el mencionado récord en la producción nacional, las exportaciones alcanzaron un máximo histórico de 1.023 toneladas. En el año 2020 se exportaron 128 toneladas a un precio aproximado de USD 5.218 por toneladas (Gorga et al., 2021). A partir de lo mencionado se entiende que el Uruguay aún no se encuentra totalmente consolidado en el mercado internacional ya que los destinos de las ventas al exterior no presentan una tendencia clara. Aun así, es de destacar que en los últimos cinco años destinos como Estados Unidos y Brasil han sido países compradores de aceites nacionales. También España y Argentina se incluyen dentro de los principales países a los que se exportan nuestros aceites. Además, se han realizado exportaciones a otros países como China, Japón, Alemania, entre otros (Gorga et al., 2021).

1.8. Normativa vigente y definición de aceite de oliva virgen

La calidad sensorial y nutricional de los aceites de oliva virgen extra ha sido el motor del crecimiento global de su consumo durante las últimas décadas. La

calidad se puede definir como “El conjunto de propiedades o atributos que él posee y que determina el grado de aceptación del consumidor respecto a un determinado uso” (Guillaume 2016). Otro enfoque de la calidad es el que se le da desde el punto de vista comercial, y se entiende como el grado de concordancia entre las características del alimento y las que una norma ha fijado para que se considere como prototipo, padrón o estándar (Gámbaro, 2013). Las normas de calidad son constantemente analizadas y discutidas año a año, con las consecuentes modificaciones que se realizan. Los aceites de oliva vírgenes, según la norma establecida por el Consejo Oleícola Internacional (COI), son aceites que se obtienen del fruto del olivo (*Olea europaea L.*) únicamente por medios mecánicos u otros medios físicos en condiciones, en particular térmicas, que no provocan alteraciones en el aceite y que no han sufrido cualquier tratamiento distinto al lavado, decantación, centrifugación y filtración (COI, 2019a).

La normativa actual establece que “los criterios de pureza y calidad de los aceites de oliva y de orujo de oliva incluidos en el artículo 17.3.13 deben cumplir con de la última versión de la Norma Comercial aplicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva, tal como los establece en el documento COI/T.15/NC No 3/Rev. 13, junio 2019. (COI, 2019a). El COI es la organización intergubernamental internacional responsable de la administración del Acuerdo Internacional sobre aceite de oliva y aceitunas de mesa, negociado en las conferencias sobre productos alimenticios de las Naciones Unidas, creado en el año 1959. El aceite de oliva es el único producto en el sector de grasas y aceites que posee su propio acuerdo internacional. Dicho convenio internacional establece las políticas que los países miembros integrantes deben de seguir en la normalización del mercado del aceite de oliva. Entre otras cuestiones, implica la adopción de medidas internacionales para determinar la calidad de los productos en venta y para vigilar el comercio internacional (COI, 2019a). Analizando la definición de aceite de oliva virgen que establece el COI, categóricamente deja por fuera a los aceites de oliva obtenidos por la acción de enzimas, ya que se les atribuye a estas una acción química y también biológica. Desde el punto de vista comercial, esto sería una barrera, ya que si bien, aceites obtenidos por el uso de enzimas, cumpliendo con los criterios de calidad

establecidos en la normativa COI (COI, 2919b), no podrían venderse bajo la categoría de aceite virgen. Esto trae dificultades para la comercialización con países como Australia (número 11 como productor de aceite de oliva) y Estados Unidos, donde esta práctica se realiza. La normativa COI clasifica a los aceites de oliva vírgenes (AOVs) en cuatro categorías, de acuerdo a ciertos requisitos o parámetros químicos y sensoriales que debe de cumplir. Las cuatro categorías son:

- Aceite de oliva virgen extra
- Aceite de oliva virgen
- Aceite de oliva virgen corriente
- Aceite de oliva virgen lampante

La tabla 2 resume la información de la norma. Cabe aclarar que un aceite de oliva es virgen extra cuando cumple con todos los criterios de calidad, sensorial y químico.

Tabla 2. Límites de calidad para los distintos análisis químicos categorizados para las 4 calidades de aceite de oliva virgen. Fuente (COI, 2019b)

	Virgen extra	Virgen	Virgen corriente	Virgen lampante	refinado	oliva	Orujo crudo	Orujo refinado	Orujo
Acidez libre (%)	≤ 0.8	≤ 2.0	≤ 3.3	> 3.3	≤ 0.3	≤ 1.0	No limitado	≤ 0.3	≤ 1.0
Índice de peróxidos (meq O ₂ /kg aceite)	≤ 20	≤ 20	≤ 20	No limitado	≤ 5	≤ 15	No limitado	≤ 5	≤ 15
K232	≤ 2.50	≤ 2.60							
K270	≤ 0.22	≤ 0.25	≤ 0.30		≤ 1.10	≤ 0.90		≤ 2.00	≤ 1.70
ΔK	≤ 0.01	≤ 0.01	≤ 0.01		≤ 0.16	≤ 0.01	≤ 0.01	≤ 0.01	≤ 0.01
Contenido en agua y volátiles (%)	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.2	≤ 0.3	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 1.5	≤ 0.1	≤ 0.1
Impurezas insolubles en éter de petróleo (%)	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.2	≤ 0.05	≤ 0.05		≤ 0.05	≤ 0.05
Punto de inflamación (°C)							≥ 120		
Hierro (mg/kg)	≤ 3.0	≤ 3.0	≤ 3.0	≤ 3.0	≤ 3.0	≤ 3.0		≤ 3.0	≤ 3.0
Cobre (mg/kg)	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1	≤ 0.1		≤ 0.1	≤ 0.1
Ésteres etílicos de ácidos grasos (mg/kg)	≤ 35 (2014-2016) ≤ 30 (2016-2017)								
Fenoles									

Es decir, cuando en un AOV uno de los parámetros físico-químicos o sensoriales definidos en la Norma anteriormente citada no se cumple, el aceite de oliva pasa a la categoría siguiente, de menor calidad. Otra normativa que regula el comercio

del aceite de oliva es la normativa de la Unión europea (UE), la que presenta similitudes con la normativa COI, pero a diferencia, las categorías son:

- Aceite de oliva virgen extra
- Aceite de oliva virgen
- Aceite de oliva virgen lampante

Esto trae aparejadas dificultades para el comercio de países dentro de la Unión Europea, pero que no son miembros COI, por lo que dependiendo del país destino, las reglas de comercialización a las que deberá someterse, pudiendo ser toda una la misma, ya que la calidad, cumpliendo los requisitos es la misma.

A partir de julio de 2013 Uruguay pasó a ser miembro pleno derecho del COI, por lo tanto, tiene la obligación de regirse por las normas que establece dicho organismo, para todo lo concerniente al AOV y su comercialización (ASOLUR, 2021). Esto implica que para poder garantizar que los aceites elaborados en Uruguay puedan ser categorizados y certificados como de calidad virgen, deben de ser elaborados bajo las condiciones de proceso que establece la normativa COI.

Para poder acompañar esta certificación de aceites y poder dar sostén y acompañar con conocimiento al sector olivícola es que desde el año 2009 surge en la Facultad de Química de la Universidad de la República (UdelaR), el proyecto OLIVIA: Olivas, Investigación y asesoramientos con el objetivo de crear un servicio uruguayo integral de asesoría a los productores en la obtención de aceites de oliva de calidad. El otro objetivo fue proveer servicios de certificación y control de calidad de aceite de oliva. Como resultado de este proyecto es que Uruguay cuenta con un Laboratorio de Evaluación Sensorial de aceite de oliva y un panel de cata de aceite de oliva homologado por el COI desde el año 2012 de manera interrumpida, un Laboratorio de Aceite de Oliva reconocido por el COI desde el año 2018 y una Planta Piloto Abencor. En esta institución es dónde se desarrollará la tesis que se presenta a continuación.

1.9. *Procesamiento de la aceituna*

El desarrollo tecnológico se puede rastrear a lo largo de la historia, desde la rotura de las olivas en piedras, pasando por la prensa mecánica que supuso un hito en la producción olivícola aceitera, hasta los procesos industriales a gran escala que hoy en día operan. Antiguamente, el proceso de extracción constaba de la molienda de las aceitunas, batido de la pasta y separación del mosto oleoso del orujo por medio de una prensa, acción que se conoce como prensado. Posteriormente el aceite decantaba en piletas y se separaba del resto de las fases. Todas las etapas mencionadas se basaban en procesos físico-mecánicos, por lo que el aceite obtenido de la aplicación de estas técnicas recibe la denominación de “virgen” (Boskou, 1998). El prensado mencionado permitía la máxima utilización de la fuerza ejercida que se traducía en un mayor aprovechamiento de la extracción de aceite. La frase “aceite de primera extracción” o “primera prensada” hace referencia a esta etapa del proceso, destacando este aceite obtenido de los obtenidos por los sucesivos prensados. La fricción que sufre la pasta como consecuencia del prensado aumenta la temperatura de la pasta comprometiendo la calidad del aceite extraído (Ranalli, 1999).

Luego se migró a los procesos semi continuos, constituyendo las partes del proceso continuo la molienda de las aceitunas, y separación del aceite de las demás fases por centrifugación, siendo el batido de la pasta la única etapa ocurriendo de manera discontinua o en “batch”. Esto permitió aumentar el rendimiento productivo disminuyendo la mano de obra requerida. Se comenzó trabajando con los sistemas en tres fases, en el cual se obtenía a la salida de la centrífuga orujo, agua y aceite virgen. Luego se pasó al sistema de dos fases en el cual se obtienen a la salida del decanter, aceite de oliva virgen y alperujo (agua de vegetación + orujo). La figura 5 muestra las similitudes y diferencias entre estos sistemas de extracción.

El proceso de extracción del aceite consiste en preparar la pasta de aceituna con molinos mecánicos continuos, trasvasar la pasta a una batidora para el batido y acondicionamiento térmico. Los molinos industriales pueden ser el molino de martillos que trabaja por impacto, molino de discos y cilindros lo hacen por

rozamiento (Leone, 2015). Posteriormente se separa la fase líquida de la pasta (aceite de oliva y agua) de su fase sólida (orujo) mediante decantadora centrífuga, y finalmente separar el aceite del agua con una centrífuga vertical de disco de alta velocidad (Leone et al., 2015; Squeo et al., 2016; Tamborrino et al., 2015).

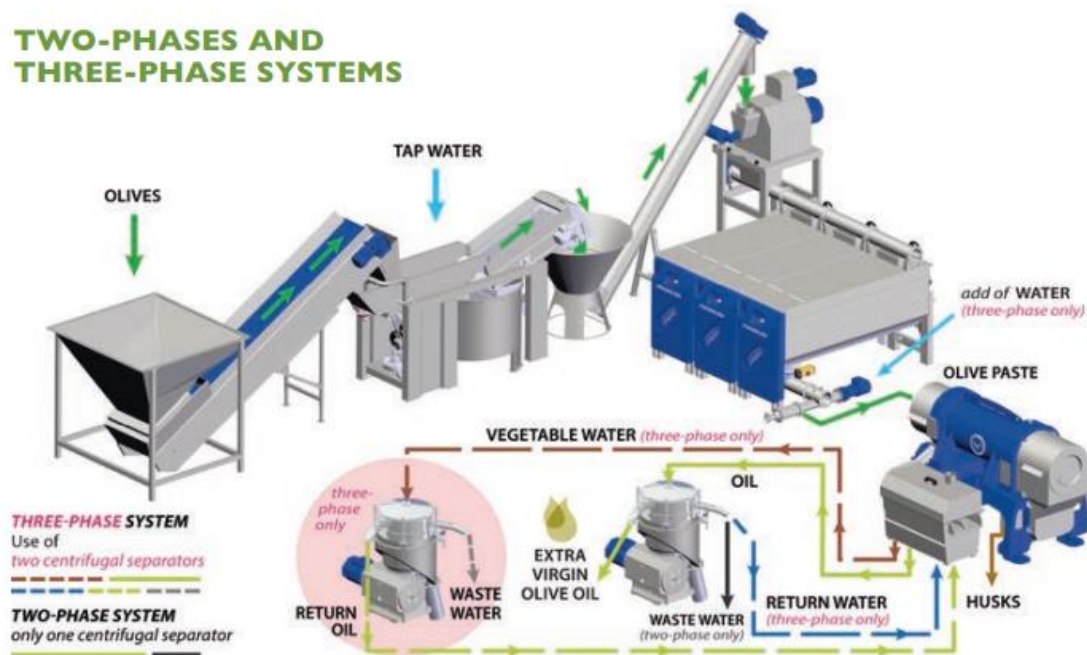


Figura 5. Sistema de centrifugación de 2 y 3 fases en continuo. PIERALISI, Olive oil ripening, Olives to the heart (<https://pdf.directindustry.com/pdf/pieralisi-olive-oil-division/olives-to-heart/34305-664296.html>)

La diferencia entre los sistemas es que en el de dos fases no se adiciona el agua para ayudar a la separación. Si bien el orujo en el sistema de 3 fases sale con un 50% de humedad, en el de dos fases sale con aproximadamente un 65% de humedad, dificultando su manipulación. Para sortear esta dificultad, se han desarrollado sistemas de dos fases y media, ya que a la salida salen cada fase separada como en 3 fases, empleando un contenido de agua similar al sistema de dos fases (Fernandez-Gutierrez, 2010). Aun así, a pesar de los avances en el procesamiento de las aceitunas, se han encontrado dificultades para la separación del aceite del resto de las fases, encontrándose cantidades significativas (5 % del total de aceite) en el orujo (Di Giovacchino et al., 2002).

Una alternativa sería volver a pasar ese orujo por todas las etapas del proceso de extracción (repaso, actividad que no se realiza en Uruguay), pero no sería satisfactorio ya que se incrementan los costos productivos e induce un efecto positivo solo en el rendimiento, sin mejorar la calidad del aceite de oliva (Chichareini et al., 2007). Otra opción sería extraer el aceite de orujo con solventes (como el hexano), en cuyo caso el aceite obtenido no sería comestible y deberá ser refinado perdiendo todas las características que destacan al aceite de oliva virgen (no se aplica esta práctica en Uruguay). Por lo tanto, el proceso de extracción de un aceite de oliva virgen tiene su propia limitante en el rendimiento de extracción, y es que nunca se va a poder extraer completamente el aceite de la pasta, por lo que resulta de capital importancia maximizar la cantidad de aceite a extraer. Generalmente una cantidad entre el 80% y el 90% del aceite presente en el fruto es liberada fácilmente por el proceso de extracción. Sin embargo, parte de la fracción lipídica no puede ser extraída y permanece dentro de las células intactas, o en el sistema coloidal de la pasta de oliva, o están unidas en una emulsión con el agua vegetal. La dificultad para liberar el aceite unido se debe a la acción de una membrana lipoproteica que rodea las gotitas de aceite dispersadas o emulsionadas y que las estabiliza. Otro factor importante que afecta la extractabilidad del aceite es la presencia de sustancias poliméricas de gran masa molar derivadas de polisacáridos de pared celular. (Boskou, 1996; Peturson et al., 2004).

1.9.1. Limitantes del proceso

Cuan eficiente o no es la extracción se ha relacionado con la variedad de aceituna y condiciones de cosecha como lo son el nivel de irrigación, tiempo de cosecha, tipo y cantidad de fertilizador empleado, la cantidad de aceitunas por árbol o la incidencia de frutos con pestes (por ejemplo, debido a *Bractocera oleae*). Antiguamente el envero era el momento de recolección de las olivas. Con el avance de los conocimientos y la ciencia, se puede conocer el contenido de aceite de la fruta previo a la extracción para saber si conviene comenzar la producción o es conveniente esperar. La figura 6 muestra el proceso de extracción actual de aceite de oliva con sus sucesivas etapas.

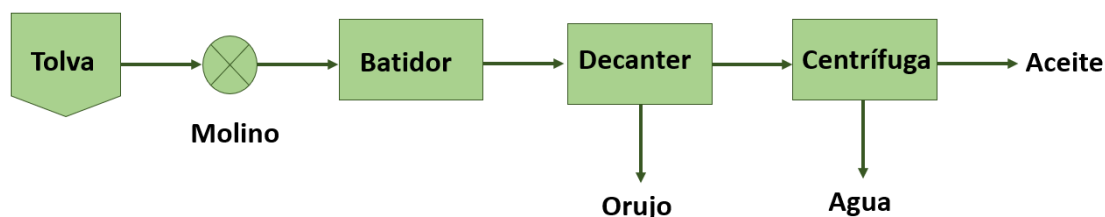


Figura 6. Diagrama de flujo de las sucesivas etapas que componen al proceso de extracción de aceite de oliva.

Este sistema es el más ampliamente usado, se observa cada etapa tiene sus variables y también sus limitantes. La tabla 3 resume alguna de las posibles variables que afectan a las etapas de operación del proceso. Si bien, la humedad y el Índice de Madurez (MI) están relacionados, cada uno tiene su efecto en la extracción. Por ejemplo, a medida que aumenta el MI, es de esperar que aumente la recuperación de aceite como lo han demostrado en la literatura (Ellis & Gámbaro, 2008). Las olivas traen naturalmente consigo elementos que complican la extracción de aceite, como por ejemplo las pectinas. Es con este tipo de compuesto que interacciona el agua en exceso de aceitunas con humedad elevada.

Tabla 3. Variables que afectan las etapas de operación del proceso de extracción de aceite de oliva.

Operación	Factor
Separación de la oliva y lavado	Índice de Madurez
	Contenido de aceite
	Humedad de la aceituna
Molienda	Humedad de la pasta
	Tipo de molino
	Tamaño de criba
	Velocidad de molturación
Batido	Temperatura
	Tiempo
	MI
	Humedad

Decanter	Velocidad
	Humedad
Centrifuga	Velocidad
	Aceite recuperado

La consistencia de la pared de celulosa de la pared del mesocarpio y consecuentemente el contenido de pectina tanto como el nivel de humedad, parecen ser las bases de la formación de emulsiones, haciendo más difícil que el aceite de oliva sea separado (Cruz et al., 2007). Estas pastas de aceitunas emulsionadas se comportan como “pastas difíciles”. La aparición de estas pastas difíciles depende tanto del contenido de humedad como de la cantidad de compuestos interferentes (coloides y tensoactivos), que están relacionados con el grado de maduración del fruto, las condiciones de cultivo y la variedad de aceitunas (Cruz et al., 2007). Estas pastas se caracterizan por un bajo rendimiento de extracción, y un gran contenido de aceite remanente en la pulpa luego del centrifugado, ocasionando pérdidas al productor. En general, pastas de aceituna con contenido de humedad mayores al 50% son clasificadas como pastas difíciles (Di Giovacchino, 1991).

La operación de batido de la pasta de aceitunas es la única operación discontinua o “batch” en el proceso de extracción de aceite de oliva virgen, operando los demás pasos en forma continua e insumiendo este paso aproximadamente la mitad del tiempo total de extracción (Difonzo, 2020). La operación de batido se realiza en una cámara de acero inoxidable equipada con un eje horizontal provisto de cuchillas de acero inoxidable. La pasta de aceitunas tradicionalmente se carga para calentar a 27-29 ° C durante 30-45 min para la producción a escala mediana y pequeña y hasta 90 min cuando los batidores están conectados en serie para simular un proceso continuo para el procesamiento industrial a gran escala y luego descargado al decantador (Leone et al., 2017). Durante el batido, las enzimas naturales rompen las paredes de las células vegetales, liberando más aceite y promoviendo la coalescencia de las gotas de aceite y la reducción de la viscosidad de la pasta para facilitar una mayor separación del aceite en el decantador (Esposto et al., 2013; Ranalli et al., 2003; Tamborrino et al., 2014).

El batido discontinuo de pasta de aceitunas requiere operaciones manuales, lo que genera retrasos debido al cambio manual de la cinta transportadora, las bombas de cavidad y / o las válvulas de flujo en los otros pasos continuos del proceso. Además, el flujo interrumpido crea variaciones en los niveles de llenado del batidor y afecta la reproducibilidad de los perfiles de tiempo-temperatura en la pasta. A menudo, una capa de pasta permanece adherida a la pared interna de la máquina durante muchos ciclos posteriores, la que experimenta reacciones degradantes que producen defectos químicos y sensoriales en el aceite. El batido discontinuo y la posterior alimentación discontinua del decantador provocan un desequilibrio en el flujo dentro del recipiente, lo que puede afectar la capacidad de rendimiento (Leone et al., 2014). Además, la exposición al aire de las pastas de aceituna al batidor puede impartir varias modificaciones a las propiedades químicas y sensoriales del aceite de oliva (Leone et al., 2013; Taticchi et al., 2013).

El calentamiento no uniforme a lo largo del recipiente, resulta en pasta sobrecalentada en algunas partes del reactor. Esto puede afectar la calidad del aceite de oliva como su estabilidad luego del primer paso de la extracción.

Las investigaciones industriales y académicas se han centrado en mejorar el proceso de batidora alterando componentes específicos del batidor para mejorar los procesos de amasado y calentamiento de la pasta de aceituna y reducir el tiempo de proceso (Catania et al., 2013; Esposto et al., 2013; Leone et al., 2016; Selvaggini et al., 2014; Tamborrino et al., 2014b). Sin embargo, solo recientemente ha sido posible el concepto de batido continuo, resultado del desarrollo de un método de procesamiento de microondas para el acondicionamiento térmico continuo de pasta de aceituna triturada previo al decanter (Leone et al., 2015; Tamborrino et al., 2014a).

Durante estos últimos años, muchos investigadores han estudiado la manera de sortear las limitantes del proceso de extracción de aceite de oliva. Ya sea mediante la aplicación de coadyuvantes tecnológicos como el desarrollo y empleado de nuevas tecnologías en el rendimiento de extracción y calidad de aceite de oliva virgen (Caponio et al., 2014; Carrapiso et al., 2013; Koprivnjak et

al., 2016; Squeo et al., 2016). Estos mejoradores de proceso (“process aids”) tienen como objetivo optimizar el proceso, ya sea mediante el aumento del rendimiento de extracción como la reducción de las etapas del proceso. La figura 7 ilustra los posibles puntos de intervención en el proceso de extracción. Son los posibles puntos en los cuales una intervención podría tener un efecto en la recuperación de aceite ya sea mediante el empleo de los coayuvantes o tecnologías que se discutirán a continuación.

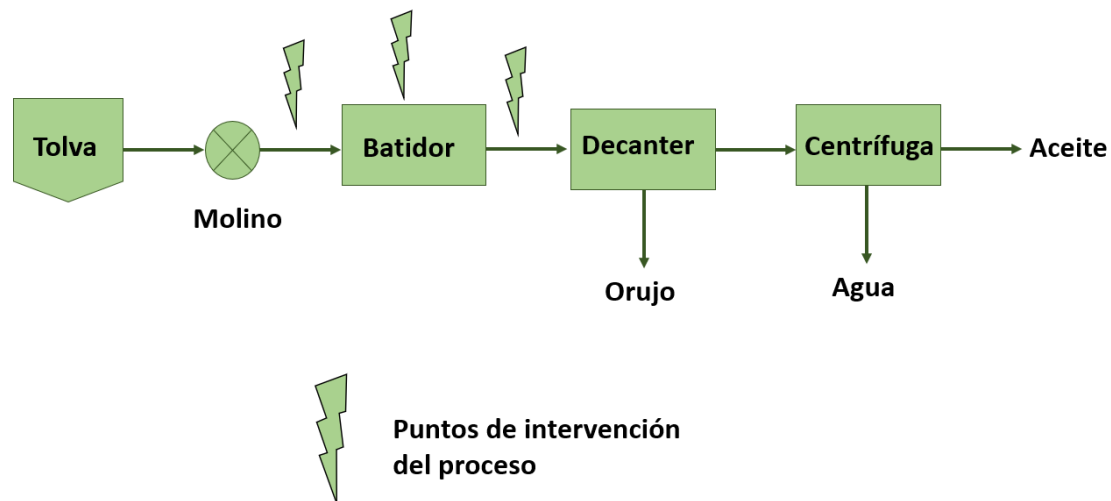


Figura 7. Puntos posibles de intervención del proceso de extracción de aceite de oliva virgen.

1.9.2. Coadyuvantes tecnológicos

Se entiende como coadyuvante tecnológico a todo elemento o sustancia que, al aplicarlo en un proceso, este tiene una acción de mejora en el mismo (Clodoveo, 2021). Los coadyuvantes pueden tener acción física o química y se detallan a continuación. Entre los coadyuvantes se encuentran el agregado de agua, el empleo de enzimas, el agregado de talco y el agregado de carbonato de calcio (Fernández et al., 2008). Debido a su acción estos pueden clasificarse en coadyuvantes físicos, químicos y biológicos.

1.9.2.1. Coadyuvantes Físicos

Agua

El agua fue de los primeros coadyuvantes tecnológicos sugerido y empleado décadas atrás por Martinez et al. (1975). Para aceitunas con baja humedad, el agregado de agua ayuda a la performance de la extracción. Se puede agregar tanto en el batidor o en el decanter, si bien se ha visto que el mejor efecto lo tiene aplicándola en el decanter, ya que en el batidor se deben manejar máyores volúmenes. Se ha reportado el uso de alrededor de 50-70 L de agua para 100 kg de pasta de aceitunas (Clodoveo, 2021). El empleo de agua como coadyuvante, además de los volúmenes mencionados, tiene como efecto la disminución del contenido de polifenoles en el aceite final (Fernandez et al., 2008).

Cloruro de Sodio

La sal (Cloruro de Sodio) por su carga iónica, tiene la propiedad de actuar como rompedor de emulsiones debido a la repulsión que genera entre el aceite y las fases hidrofílicas por acción de la densidad decarga como de la fuerza iónica (Clodoveo, 2021). Es por ello que su acción es considerada como física. Muy útil para extraer aceite de las denominadas “pastas difíciles” (Cruz et al., 2017). Se ha empleado a nivel de laboratorio, si bien se evidencia que la utilización de sal en la extracción de aceite de oliva no impacta sobre la calidad química de los aceites, no se ha encontrado información respecto a la calidad sensorial.

Talco

Talco natural, también conocido como talco micronizado está compuesto por sílices de magnesio hidratado. Además de coadyuvante, es un aditivo alimenticio (E553b)(CE Directive 30/2001). Numerosos autores han empleado el talco como coadyuvante en la extracción de aceite de oliva demostrando que se puede aumentar el rendimiento y que este no afecta la calidad de los aceites obtenidos (Espinola 2009; Fernandez et al., 2008). Se realizaron estudios a nivel de laboratorio como a nivel industrial (Cert et al., 1996).

Carbonato de Calcio

De estructura y acción similar al talco, el carbonato de calcio tiene estructura cristalina (calcita) y carga eléctrica negativa, y no reacciona químicamente con las gotas de aceite o hidrocoloides hidrofóbicos (Hutchison and Healy, 1990; Nemerow and Dasgupta, 1991; Dentel, 1991; Swiderska-Bróz, 1991; Zotter and Licskó, 1992). Al igual que el talco, el carbonato arrastra las gotas de aceite al exterior de las células rotas ayudando a que se formen gotas de mayor tamaño aceite a partir de pequeñas gotitas de aceite. Para el mismo tamaño de partícula, Moya et al. (2010) encontró que con carbonato de calcio se obtiene una mayor recuperación respecto al talco. Este coadyuvante fue estudiado a nivel de laboratorio (Espinola et al., 2009) como a nivel industrial (Squeo et al., 2016). Sobre este coadyuvante se ampliará en el capítulo 4 de esta tesis brindando información sobre su empleo a nivel industrial.

1.9.2.2. Coadyuvantes químicos

Enzimas

El empleo de enzimas en la extracción de aceite de oliva tiene como objetivo degradar la pared celular de las olivas. Son preparados enzimáticos con actividad específica, que degradan la pared de las células contenedoras de aceite, las gotas son fácilmente liberadas al medio (Chiacchierini et al., 2007). El empleo de enzimas se ha estudiado a nivel industrial y se ha encontrado que no impacta sobre la calidad sensorial de los aceites de oliva obtenidos (Tamborrino et al., 2019). De acuerdo con el COI, el empleo de enzimas no está permitido, ya que su acción se produce por vías químicas, mientras que el carbonato de calcio y talco no tienen prohibida su aplicación.

1.9.3. Nuevas tecnologías

Como oportunidad de intervenciones en el proceso de extracción de aceite de oliva nuevas tecnologías se han desarrollado y estudia para evaluar su efecto en la recuperación de aceite de oliva. Estas tecnologías buscan suplantar alguna operación del proceso (como el batido mediante el empleo de microondas) como también mejorar la eficiencia del batido de la pasta de aceitunas para hacerlo

más uniforme (intercambiadores de calor). A continuación, se presentan en detalle las diferentes tecnologías.

Intercambiadores de calor

Una manera de mejorar la performance del batido es con el empleo de intercambiadores de calor. El calentamiento rápido de la pasta de aceitunas previo al batido resulta en una temperatura de procesamiento de pasta óptima y por ende aumenta el rendimiento de extracción. Se logra de esta manera aceites con un buen perfil aromático trabajando con un menor tiempo de batido. (Amirante et al., 2006; Esposto et al., 2013). Esta tecnología ha sido estudiada a nivel industrial alimentando batidores de 700 L de capacidad (Tamborrino et al., 2019).

Ultrasonido

El ultrasonido consiste en la separación acústica de las gotitas de aceite debido a los fenómenos acústicos generados por la aplicación del mismo a una frecuencia determinada. Estos fenómenos ayudan a la separación de las gotitas de aceite del agua y de sólidos presentes (Amarillo, 2019). Dentro de la aplicación de ultrasonido se encuentra el ultrasonido de baja frecuencia (alta potencia) y el ultrasonido de alta frecuencia (baja potencia).

Ultrasonido de baja frecuencia

El ultrasonido de baja frecuencia tiene su empleo en la extracción de aceite de materiales contenedores de grasa por acción de la cavitación de burbujas en un medio líquido. Las vibraciones del ultrasonido de baja frecuencia generan presión de sonido en el medio, lo que desencadena la cavitación de burbujas que rompen tejidos y liberan material al exterior. Esta tecnología se ha aplicado a escala de laboratorio (Clodoveo, 2014) como a nivel industrial (Romaniello, et al., 2019).

Ultrasonido de alta frecuencia (Megasonido)

La aplicación de ondas estacionarias de ultrasonido de alta frecuencia o megasonido (MS), a la pasta de aceituna después del batido también ha sido

estudiada industrialmente como una intervención de proceso para mejorar la recuperación del aceite de oliva. (Juliano et al., 2016; Juliano et al., 2017). La aplicación de megasonido a la pasta batida demostró que se producen aceites vírgenes de calidad química y sensorial aceptables (Leone et al., 2018). Su mecanismo de acción a diferencia del ultrasonido de baja potencia radica en que la cavitación de burbujas es estable y suave, es por eso que esta tecnología se utiliza en la limpieza de utensilios médicos (Chang & Chen, 2002). Esta tecnología se ha empleado a nivel de laboratorio (Leone et al., 2015; Juliano 2017) como a nivel industrial (Leone et al., 2018). Sobre esta tecnología se ampliará en los capítulos 1 2 y 3 de esta tesis siendo el eje principal de la misma. Se detallará el conocimiento adquirido sobre los que yace detrás de los mecanismos que gobiernan la transmisión de energía por ondas de megasonido.

Microondas

El microondas es una tecnología que surge como oportunidad de intervención en el proceso de batido para cambiar esta modalidad de trabajo “en batch” a un proceso continuo. El mecanismo de acción es a través de la fricción que genera un material sometido al microondas, el cuerpo absorbe el microondas y convierte esa energía en calor (Leone et al., 2014). En el caso de la pasta de aceituna sirve como acondicionamiento de la pasta”, término que en ingles se lo conoce como “paste conditioning”. Esta tecnología ha sido probada escala industrial a 350 kg/h y a 2000 kg/h. Sobre esta nueva tecnología se abordará en los capítulos 2 y 3 de esta tesis brindando información sobre su empleo a nivel industrial y el efecto sobre la estabilidad de los aceites obtenidos.

Alta Presiones

El empleo de altas presiones puede causar alteraciones en la permeabilidad de las células durante el batido, lo que conduce a una mayor recuperación de aceite. Andreou (2016) estudió a nivel de laboratorio (900 g) el efecto de las altas presiones en el rendimiento de la extracción de aceites de oliva y en la vida de estantería de los mismos. El estudio demostró que es posible aumentar el rendimiento de la extracción sin que este tenga impacto alguno en la vida útil de los aceites.

Campos de pulsos eléctricos (PEF)

Los campos de pulsos eléctricos o pulsantes (PEF) es una tecnología emergente física que se ha propuesto para mejorar la masa procesos de transferencia en la industria alimentaria (Puértolas et al., 2012). El método se basa en la formación de poros en las membranas celulares debido a su exposición a campos eléctricos externos moderados de intensidad adecuada (<10 kV / cm) y microsegundos de duración). Este mecanismo de electroporación aumenta la permeabilidad de las células vegetales, potenciando la difusión de solutos a través de sus membranas (Puértolas et al., 2015). Andreu (2016) estudio el empleo de los campos de pulso eléctricos en la extracción de aceite de oliva, demostrando la posibilidad de empelar esta tecnología para aumentar la recuperación de aceite sin afectar la vida útil de los aceites a nivel de laboratorio.

1.9.4. Estado del arte de tecnologías físicas empleadas para mejorar le recuperación de aceite

La Tabla 4 muestra el estado del arte de las tecnologías físicas y coadyuvantes para la recuperación de aceite.

Para catalogar el estado de comercialización de los equipos se define de la siguiente manera:

- a) uso comercial
- b) evaluación a nivel industrial, pero aún no comercializada
- c) evaluación solamente a nivel laboratorio

Tabla 4. Resumen del estado del arte de tecnologías físicas y coadyuvantes para la recuperación del aceite

Coadyuvante	Proceso Físico	Evaluación a nivel industrial	Comercialización
Agua	Si	Si	c
NaCl	No	No	c
Enzimas	No	Si	a

Talco	Si	Si	a
Carbonato	Si	Si	b
Intercambiadores de calor	Si	Si	a
Microondas	Si	Si	b
Ultrasonido de potencia	Si	Si	a
Megasonido	Si	Si	b
Campos de pulsos eléctricos	Si	Si	c
Altas presiones	Si	Si	c

2. Conclusiones

A partir de toda la información detallada y discutida anteriormente se observa que en los últimos 20 años se han hecho grandes avances y estudios sobre como optimizar, mejorar e incluso acortar el proceso de extracción de aceite de oliva virgen, ya sea optimizando condiciones de proceso (tiempo y temperatura de batido) como las intervenciones tanto tecnológicas como los coadyuvantes, así como las mejoras en cuanto a sustitución del batido discontinuo por un calentamiento continuo por microondas. Las diferentes opciones de coadyuvantes o tecnologías han podido estudiar las posibles intervenciones en cada uno de los pasos del proceso de extracción. Cada una de estas intervenciones tienen sus ventajas y condiciones de empleo, pero todas parten del mismo problema: la dificultad de una temperatura homogénea y limitantes del batido discontinuo. Se están estudiando muchas de las tecnologías mencionadas a escala de 1000 kg/h de producción (megasonido, microondas, entre otras), de manera de obtener información también respecto a aspectos de diseño y escalado.

Objetivos

Objetivo general

Estudiar posibles mejoras en el rendimiento y/o calidad de los aceites de oliva virgen extra por medio de la aplicación de megasonido solo o combinado con microondas y la incorporación de carbonato de calcio a la pasta de aceituna en el proceso de elaboración.

Objetivos específicos

- a)- Determinar posibles mejoras en el proceso de extracción de aceites de oliva virgen extra con aplicación de técnicas de intervención de megasonido y microondas en pasos seleccionados del proceso de elaboración.
- b)- Determinar los mecanismos por los cuales el megasonido ejerce su efecto mediante medidas de atenuación del sonido.
- c) Estudiar la aplicación de Carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva.
- d)- Determinar los cambios en la calidad de los aceites elaborados aplicando megasonido, microondas y agregado de carbonato de calcio, a lo largo de su vida de útil.

Capítulo 1

Impacto de la atenuación del sonido en mejoras de rendimiento por aplicación de ultrasonido durante la extracción de aceite de oliva

Este capítulo brinda información acerca de la forma en que el megasonido actúa, es decir, profundiza en el entendimiento de los mecanismos por los que el sonido de alta frecuencia tiene su efecto sobre la liberación de aceite de oliva y mejoras en el rendimiento de extracción de aceite de oliva virgen. Se realizan mediciones de la atenuación del sonido a altas frecuencia mediante medición de la presión de sonido en el recipiente contenedor de pasta de aceitunas con un hidrófono y también por medio de una técnica “pulso-eco de banda ancha” en una celda de laboratorio obteniendo el coeficiente de atenuación de sonido para la pasta de aceituna como también para diferentes contenidos de pasta de aceituna en agua. La intención de este trabajo era entender la distancia que se necesita entre el transductor y la pared opuesta del reactor para el diseño de reactores de escala industrial de manera de desarrollar equipos con un óptimo funcionamiento. Se estableció que por más que haya atenuación en la pasta de aceituna, el ultrasonido viaja a distancias mayores de lo que se puede medir con un hidrófono. Este estudio se llevó a cabo en la Facultad de Química en Montevideo (Uruguay), así como en La Universidad de Foggia, Foggia (Italia) con la participación también de la Facultad de Ingeniería de Montevideo (Uruguay) sumado el apoyo de CSIRO. Los resultados de este estudio fueron publicados en Amarillo et al., (2019) en la revista Ultrasonics Sonochemistry, 53, 142–151. También los resultados fueron presentados en formato de poster en el congreso ICEFF 13 en Melbourne (2019), y de forma oral en la Jornada de Olivos en el INIA (2022).

1.1. Introducción

Los sistemas tradicionales de extracción asistida por ultrasonido operan en el rango de 20 a 100 kHz. Recientemente, se ha probado en diferentes aplicaciones el uso de un rango de frecuencia extendido, que abarca desde 400 kHz hasta 2 MHz. El funcionamiento en este rango de alta frecuencia también se denomina megasonido en este campo de aplicación. El ultrasonido de alta frecuencia se ha estudiado recientemente como una nueva tecnología para la mejora de la recuperación de aceite y la aceleración del cremado de la grasa de la leche (Juliano et al., 2017, Leong et al., 2013). La exposición de la biomasa que contiene aceite como el aguacate, el coco, el olivo y la palma a ultrasonidos de alta frecuencia (megasonido) ha demostrado generar mejoras en los procesos de separación del aceite (Amirante et al., 2012a, Amirante et al., 2012b, Clodoveo et al., 2014, Misra et al., 2017, Koubaa et al., 2016, Juliano et al., 2017b, Martinez-Padilla et al., 2017, Leone et al., 2017, Tamborrino et al., 2015, Trujillo et al., 2014, Juliano et al., 2013). A escala industrial o semiindustrial, las evaluaciones de la extracción de aceite fueron realizadas por Juliano et al. (2013) para aceite de palma y pasta de aceitunas (Juliano et al., 2017 b, Juliano et al., 2013). Se obtuvieron mejoras en la recuperación de aceite hasta en un 3,2% (g de aceite / 100 g de aceite en pasta) después de aplicar 585 kHz durante hasta 15 min y hasta 220 kJ / kg a la pasta de aceite de oliva, con un 30% de adición de agua a la pasta. Un estudio posterior (Leone et al., 2017) ha corroborado mejoras en escala de planta semiindustrial (350 kg / h) mediante la aplicación de tratamientos de 400 + 600 kHz con un tiempo de residencia de 35 min y 21 kJ / kg.

Según las discusiones reportadas en la literatura, el ultrasonido de alta frecuencia puede afectar la extractabilidad de aceite por varios mecanismos: (a) un efecto de atrapamiento de gotas de aceite por ondas estacionarias, (b) burbujas de cavitación estables o semi-estables que crean efectos de fricción en la matriz que contiene aceite (Leong et al., 2013, Juliano et al., 2013), (c) streaming acústico y (d) calentamiento interno. El mecanismo de onda estacionaria se basa en la acción de fuerzas conocidas como fuerzas de radiación, que promueven la formación de un campo de sonido de onda

estacionaria que hace que las partículas suspendidas en un fluido se muevan a planos de presión de nodos o antinodos. Este campo estacionario de ondas estacionarias se genera por la interferencia constructiva de las ondas sonoras generadas por el transductor y las ondas que se reflejan en una superficie sólida opuesta (por ejemplo, la pared del recipiente, sistema) (Juliano et al., 2017). Estos planos de nodos y antinodos están ubicados en una longitud que es un múltiplo entero de la mitad de la longitud de onda del sonido propagado (Leong et al., 2013, Amirante et al., 2012a, Amirante et al., 2012b, Clodoveo et al., 2014, Misra et al., 2017, Koubaa et al., 2016, Juliano et al., 2017bF, Martinez-Padilla et al., 2017, Leone et al., 2017, Tamborrino et al., 2015, Trujillo et al., 2014, Juliano et al., 2013, Li et al., 2018, Xie et al., 2014 Veillet et al., 2010), y las partículas migran a estos planos del campo de ondas estacionarias dependiendo de las relaciones de compresibilidad y densidad de las partículas en el fluido. La transmisión acústica está permitida por un gradiente en el campo de velocidad y este gradiente surge de varios mecanismos, como la atenuación espacial de la onda sonora en el medio debido a la absorción de la energía, la fricción entre un elemento vibrante y el medio circundante, o debido a la dispersión de ondas sonoras (Juliano et al., 2017a). En otras publicaciones se tratan más detalles de los principios físicos que gobiernan la separación acústica de partículas/gotas y las técnicas de modelado matemático desarrolladas para comprender, predecir y diseñar procesos de separación acústica, con especial énfasis en la transmisión acústica (Juliano et al., 2017 a, Juliano et al., 2013).

Se ha reportado que las frecuencias de ultrasonido más adecuadas para su empleo en aplicaciones de separación oscilan entre 400 kHz y 2 MHz. Los radicales libres también se desarrollan en estas regiones de frecuencia con un máximo de 0,8 MHz. Un aumento adicional en la frecuencia por encima de 0,8 MHz disminuye el rendimiento sonoquímico de tales productos, ya que la energía liberada por el colapso de la burbuja de cavitación se vuelve pequeña (Ashokkumar, 2011). Por encima de 1 MHz se describe que la cavitación es más estable y se produce una cavitación menos transitoria, formándose grandes cantidades de burbujas de cavitación más pequeñas y a 2 MHz la actividad de los radicales libres es indetectable (Chanamai & Clements, 1998). Tal mecanismo de formación de burbujas puede afectar los efectos de la

extractabilidad del aceite durante los procesos de extracción de aceite vegetal de base acuosa. Investigaciones anteriores han demostrado que los parámetros químicos y sensoriales de la calidad del aceite de oliva virgen extra se conservaban después del tratamiento con ultrasonido, al tiempo que aumentaba el contenido de compuestos fenólicos en el aceite (Leone et al., 2017).

Es importante comprender los efectos de atenuación en los materiales que contienen aceite, así como los efectos de la frecuencia de aplicación de ultrasonido sobre la recuperación de aceite. Comprender el fenómeno de atenuación puede ayudar a informar respecto a la selección de la adecuada distancia pared-transductor, la cual es un parámetro clave en el diseño de recipientes de mayores tamaños. Sin embargo, existen muy pocas referencias sobre los efectos de la frecuencia de ultrasonido en la recuperación del aceite de oliva. Chanamai and Mc Clements (1998), describen los efectos de atenuación en los aceites comestibles puros, incluidos el aceite de oliva, el aceite de maíz y el girasol, pero ningún informe anterior ha abordado la atenuación en la pasta de oliva. Cabe mencionar que el proceso de extracción del aceite de oliva implica el triturado de las aceitunas, seguido de un paso de mezcla por batido a temperatura controlada, y un paso de centrifugación para separar el aceite, el agua y los sólidos. La aplicación de ultrasonido estudiada en artículos anteriores se ocupa de los tratamientos previos o posteriores al batido de la pasta de aceitunas para mejorar la separación del aceite (Juliano et al, 2017b, Clodoveo et al., 2013).

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la atenuación del sonido en la extractabilidad del aceite de oliva para comprender mejor los mecanismos de separación de aceite por aplicación de ultrasonido y las implicaciones en el diseño de reactores. Los efectos de la atenuación de alta frecuencia sobre la extractabilidad se comparan sin agua, al aumentar la proporción de agua a pasta o al disminuir la distancia entre la pared y el transductor. Se investigaron los efectos del ultrasonido en las mejoras de procesamiento, incluidos: selección de alta frecuencia, reducción del tiempo de batido, tiempo de sonicación (aplicación de ultrasonido) y entrada de energía del ultrasonido, sin adición de agua y

utilizando el peor de los casos para la atenuación de la pasta a la máxima distancia entre el transductor y la pared.

1.2. Materiales y Métodos

1.2.1. Muestreo de aceitunas

Los frutos de olivos (*Olea europaea* L.) de la variedad Coratina se recolectaron en olivares cerca de Andria, provincia de Apulia, Italia, en la temporada de cosecha de 2016. El cultivar Coratina es uno de los cultivares de olivo más populares en Italia (Camposeo et al., 2012). Las aceitunas se llevaron al laboratorio inmediatamente después de la recolección en cajas de 30 kg. El muestreo se realizó durante el mes de noviembre. El índice de maduración de la aceituna se determinó utilizando una muestra representativa según el método propuesto por el Consejo Oleícola Internacional (COI, 2011), basado en la evaluación del color de la piel y la pulpa. Otros ensayos realizados en Uruguay, utilizaron la variedad de aceituna Arbequina de los departamentos de Canelones y Lavalleja en Uruguay.

1.2.2. Método de extracción de aceite de oliva

La extracción industrial del aceite de oliva se llevó a cabo con una Planta Piloto conocida como Sistema Abencor (Martínez Suárez et al., 1975, Gómez-Rico et al., 2008; Cheruini et al., 2009), en la que se operó de la siguiente manera: (1) trituración de 3 kg de aceitunas en un molino de martillos, (2) batido de la pasta a 30 °C durante 30 minutos, (3) separación del aceite de las otras fases por centrifugación por decantador (Figura 1.1). La intervención con ultrasonido se seleccionó después del batido y antes del paso de centrifugación. Como se informó anteriormente, las gotas de aceite se dispersan mejor en la fase acuosa después del paso de batido y por lo tanto, muestran una mejor separación para la intervención con ultrasonido. Las discusiones sobre los mecanismos de la coalescencia de las gotas de aceite de oliva durante el batido se pueden encontrar fácilmente en la literatura (Clodoveo et al., 2014, Tamborino et al., 2014). El aceite de oliva obtenido mediante el proceso tradicional sin intervención de ultrasonido se utiliza como referencia y se denomina “control” a lo largo del

capítulo. La muestra de control consistió en la pasta esperando 5 min sin sonicación antes de la etapa de centrifugación.

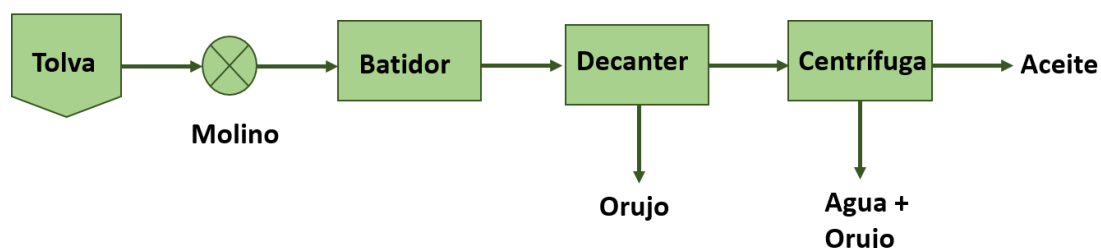


Figura 1.1. Diagrama de flujo del proceso de extracción de aceite de oliva con o sin intervención de megasonido posterior al batido.

1.2.3. Reactor de ultrasonido

El equipo utilizado en este estudio para la aplicación de megasonido se conoce como transductor (Fig. 1.2a), está compuesto por una placa transductora de alta frecuencia y el correspondiente generador de energía eléctrica (SONOSYS Ultraschallsysteme GmbH, NeuenBurg, Germany). Los transductores de placa se colocan verticalmente dentro de un contenedor metálico (Fig. 1.2b). Se utilizaron dos tipos de transductores para las comparaciones, que funcionan a 0.4 y 2 MHz, ambos con un consumo de energía de 280 W cuando se configuran al 100% de potencia. El recipiente de megasonido era un recipiente de acero inoxidable con un volumen de 4 L (aproximadamente 3 kg) con dimensiones internas de 130 x 165 x 190 mm. La distancia entre la placa del transductor y la pared opuesta se puede variar para probar la penetración del campo de ultrasonido dentro del vaso (Fig. 1.2b).



(a)



(b)

Figura 1.2. Equipo de ultrasonido de alta frecuencia: (a) reactor de banda ancha de ultrasonido pulso-eco, adaptado para ser utilizado en modo de transmisión directa para los experimentos de atenuación; (b) reactor de ultrasonido con transductor ajustable a la distancia de la pared.

1.2.4. Diseño experimental

Este trabajo abarca dos tipos de ensayos: (a) caracterización de los perfiles y coeficientes de atenuación en pastas de aceituna molidas, incluyendo huesos triturados y (b) la influencia de varios parámetros del proceso en la extractabilidad a una distancia extendida del transductor a la pared. Se realizaron ensayos de atenuación en el propio reactor de ultrasonido. La Tabla 1.1 muestra el diseño experimental para evaluar los efectos de las opciones de procesamiento de ultrasonido seleccionadas en el proceso de extracción del aceite de oliva y su impacto en la extractabilidad del aceite.

Tabla 1.1. Diseño experimental.

Experimento	Origen del batch	Efecto de tratamiento	Variable	Parámetros fijos	Diseño
1	1-Italia	Efecto de alta frecuencia x adición de agua	(0, 0.4, 2) MHz x (sin adición de agua, % con adición de agua)	30 min de batido 5 min sonicación 3500 rpm centrifugación TWD = 14.5 cm 117 kJ/kg	Comparación de medias (triplicado)
	2- Uruguay				
2	2- Uruguay	Distancia transductor-pared opuesta x frecuencia	(9, 14) cm	sin adición de agua 30 min de batido 5 min sonicación (134, 280) W 117 kJ/kg	Factorial 2 x 3 (triplicado)
			(0, 0.4, 2) MHz		
3	1- Italia	Tiempo de batido	(10, 30) min x (MS OFF, MS ON)	5 min sonicacion 0.4 MHz 280 W 117 kJ/kg sin adición de agua TWD = 14.5 cm	Factorial 2x2 (triplicado)
4	1- Italia	Tiempo de sonicación	(2.5, 5) min x (MS OFF, MS ON)	30 min de batido 0.4 MHz 280 W 117 kJ/kg sin adición de agua TWD = 14.5 cm	Factorial 2x2 (triplicado)

5	1- Italia	Nivel de potencia	(174, 280) W x (MS OFF, MS ON)	30 min de batido 0.4 MHz sin adición de agua TWD = 14.5 cm 5 min sonicación	Factorial 2x2 (triplicado)
	2- Uruguay				

El experimento 1 evalúa los efectos de la frecuencia de ultrasonido sobre la extractabilidad. A frecuencias más bajas, la cavitación es más intensa, sin embargo, se ha demostrado que la atenuación en medios líquidos aumenta con la frecuencia (Trujillo et al., 2014). En el experimento 2, se modifica la distancia transductor-pared cambiando el tamaño del reactor.

Este experimento evalúa la penetración del campo ultrasónico y su efecto sobre la extractabilidad. El experimento 2 se llevó a cabo manteniendo constante la energía específica para que la distancia transductor - pared (TWD) y los efectos de frecuencia pudieran compararse independientemente de las condiciones de masa y energía (cuando la distancia se cambia de 14.5 cm a 9 cm la masa de pasta se modificó de 3 a 1.5 kg). En el experimento 5 se varió la potencia y la energía específica, mientras que el tiempo de sonicación se mantuvo constante. En el experimento 3, el objetivo fue determinar si se puede reducir el tiempo de batido. La reducción del tiempo de batido cuando se aplica el ultrasonido puede ser una mejora del proceso incluso en el caso de una extracción de aceite similar. El tiempo de aplicación de ultrasonido y el nivel de potencia también se evalúan en los experimentos 4 y 5 para determinar su efecto sobre la extractabilidad sin adición de agua. Los parámetros fijos para cada experimento se muestran en detalle en la Tabla 1.1. Para el experimento 1, se compararon las frecuencias de ultrasonido de 0.4 y 2 MHz con y sin la adición de agua durante el batido, destacando el efecto de atenuación para diferentes mezclas. El efecto de atenuación también se evalúa con la distancia entre el transductor y la pared opuesta (experimento 2), para estas dos distancias diferentes del transductor a la pared reflectante, 9 y 14.5 cm. El experimento 3 se llevó a cabo para evaluar si se puede reducir el tiempo de malaxación después de una intervención ecográfica. La eficiencia del proceso del aceite de oliva se puede mejorar si se mantiene la capacidad de extracción del aceite después del tratamiento con ultrasonidos con un tiempo de malaxación reducido. Se evaluó una reducción de 30 min a 10 min de malaxación en el proceso no asistido por ultrasonido y por ultrasonido. El experimento 4 consideró reducir aún más la exposición al ultrasonido de 5 a 2.5 min más allá de los valores estudiados por Juliano et al (2017bF), con aceitunas verdes y sin adición de agua. Los efectos del nivel de potencia usando otras variedades de las estudiadas por Juliano et al. (2017b) se prueban en el experimento 5. Una mayor reducción de la entrada de energía

informará la selección del número de transductores requeridos en un recipiente de ultrasonido a gran escala.

1.2.5. Caracterización del reactor de ultrasonido

La distribución del ultrasonido a lo largo de reactor de megasonido se midió tanto en agua como en pasta de aceitunas con huesos triturados (Fig. 1.3) tal como se describe más adelante. Estas mediciones también informaron los efectos de atenuación. Los efectos de atenuación también se evaluaron mediante el uso de una técnica ultrasónica de banda ancha de pulso-eco en una celda de laboratorio.

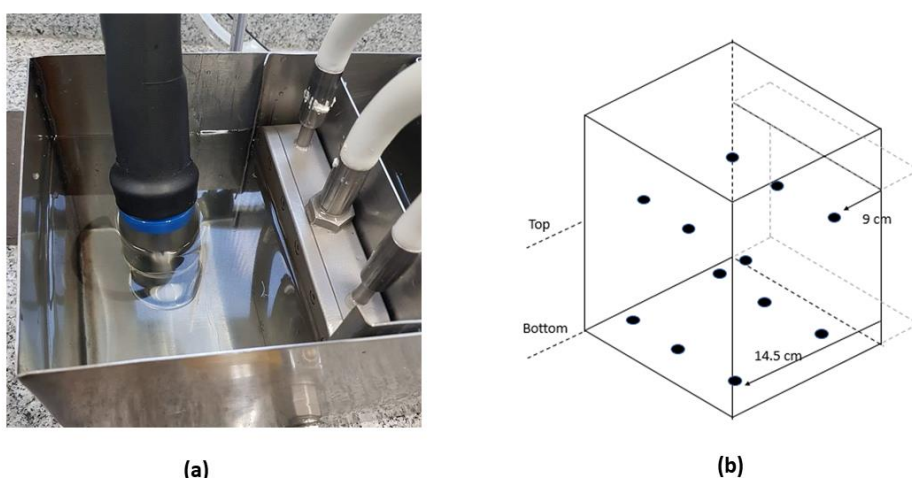


Figura 1.3. Sistema de medición de presión de sonido agua y pasta: (a) dispositivo de hidrófono que incluye una membrana protectora de vidrio para la medición directa en pasta; (b) puntos de medición a través del reactor de ultrasonido.

1.2.5.1. Sistema de medida indirecta con Hidrófono

Los niveles de presión de sonido (SPL) durante el funcionamiento a máxima potencia a una frecuencia de 0,4 y 2 MHz (Fig. 1.3a) se midieron en agua y pasta utilizando un dispositivo de hidrófono (Fig. 3a) que abarcaba un hidrófono de aguja (HNR_1000 S / N: 1761, Onda, Sunnyvale, CA, Estados Unidos de América, amplificador externo Onda AH2010 S / N: 1589; Ganancia nominal: 20 dB) con una membrana de vidrio protectora para medición directa en pasta. Los hidrófonos son muy sensibles a la presencia de aceite y material proteico y, por lo tanto, los fabricantes no recomiendan el contacto directo con materiales alimenticios. Aunque los hidrófonos tienen una respuesta directiva, brindan información cualitativa sobre el campo de presión dentro del reactor.

Las mediciones de sonido se llevaron a cabo en doce puntos específicos del reactor como se muestra en la Fig. 3.3b. En el experimento 2, las mediciones se llevaron a cabo en dos distancias transductor-pared (9 y 14.5 cm) y dos profundidades diferentes en el recipiente (cerca de la parte superior e inferior). Esta información proporciona un mapa de distribución de sonido cualitativo en todo el reactor (Fig 3.3b). Los voltajes pico a pico se registraron tres veces en cada punto de medición con un osciloscopio (TDS 1002, Tektronix, Beaverton, Oregon, Estados Unidos de América) y el valor medio se convirtió en nivel de presión sonora (SPL) usando la ecuación (1). Los ensayos se llevaron a cabo a temperatura ambiente con un tiempo máximo de sonicación de 5 min.

$$\text{SPL [dB]} = 20 \log (V_{\text{rms}}) - \text{EOC} \quad (1)$$

donde V_{rms} es el voltaje cuadrado medio (V) determinado a partir de los valores pico a pico medidos, y EOC (extremo del cable) es la sensibilidad del hidrófono (dBV/ μPa) y se obtuvo de la tabla de calibración de hidrófonos suministrada por el fabricante. Además de medir los niveles de presión sonora, el osciloscopio también puede confirmar la frecuencia del campo ultrasónico. La presión acústica se midió en varios puntos de la pasta utilizando un transductor a distancias de pared de 9 y 14.5 cm, utilizado en el experimento 2.

1.2.5.2. Determinación cuantitativa de los coeficientes de atenuación por bandas de pulso eco

Para determinar el coeficiente de atenuación y su dependencia con la frecuencia, se realiza un experimento con un transductor de banda ancha (frecuencia central de 1 MHz) en una celda de laboratorio. En este experimento, se toma una respuesta de pulso-eco y se usa para estimar la atenuación (Fig. 1.4).



Figura 1.4. Celda de laboratorio de ultrasonido utilizada en la técnica de ultrasonido pulso-eco de banda ancha para los experimentos de atenuación.

Se midieron los espectros de las ondas de ultrasonido que viajan a través de los medios de interés para calcular el coeficiente de atenuación α (f) en las frecuencias en el ancho de banda de los transductores de potencia. Este experimento comienza probando agua destilada. Se añadió gradualmente la pasta de aceitunas y se agitó manualmente para tener concentraciones de aceitunas sólidas que oscilaban entre el 0.0 y el 2.4% m / m de sólidos / líquido total en la pasta. Una técnica ultrasónica de pulso-eco fue impulsada con un transductor ultrasónico de 1MHz.

La señal (Fig. 1.7a) consta de un pulso, generado por el transductor cuando es excitado por un solo pulso de banda ancha. Esta señal viaja a través del fluido y se refleja en el plano de aluminio, deshaciendo el camino para regresar al transductor. Por lo tanto, el espectro de frecuencia se puede calcular utilizando la Transformada Rápida de Fourier (FFT). Este cálculo permite la determinación de la energía retrodispersada para cada frecuencia sobre el ancho de banda del transductor. Finalmente, se calcula el coeficiente de atenuación, utilizando agua destilada como referencia para los cálculos (Fig. 1.7b).

Los resultados se presentan en dos frecuencias representativas, se seleccionan 0.6 y 1.4 MHz, ya que su relación señal / ruido (SNR) fue considerablemente mejor que para las frecuencias de operación de 0.4 y 2 MHz en el reactor de megasonido empleado para los ensayos de extractabilidad.

Para el cálculo del coeficiente de atenuación (α), se asumió una propagación de onda plana ($y(x,t)$) con caída exponencial debido a la atenuación.

$$y(x, t) = A_0 e^{-\alpha(f)x} e^{j\omega t} \quad (2)$$

En la descomposición de Fourier, la señal en forma de pulso puede entenderse como una suma de componentes sinusoidales como en (2). Considerando solo el término espacial en la respuesta de eco de pulso, se obtiene (3).

$$y(x) = R_{12} A_0 e^{-\alpha(f)2L} \quad (3)$$

Donde A_0 es la amplitud inicial, $\alpha(f)$ el coeficiente de atenuación para la frecuencia f , L la longitud de la cámara y R_{12} el coeficiente de reflexión entre el líquido y el plano reflectante (aluminio).

La relación entre las amplitudes de la señal reflejada que viaja a través del fluido (f) y el agua (w) se puede escribir como:

$$\frac{y_w}{y_f} = \frac{R_{w,al} A_0 e^{-\alpha_w(f)2L}}{R_{f,al} A_0 e^{-\alpha_f(f)2L}} \quad (4)$$

Asumiendo que la amplitud inicial y los coeficientes de reflexión son similares, con α en cm^{-1} , la relación se puede aproximar mediante

$$\frac{y_w}{y_f} = e^{(\alpha_f(f) - \alpha_w(f))2L} \quad (5)$$

El coeficiente de atenuación en dB/cm se puede obtener después de alguna manipulación algebraica:

$$\alpha_f(f) = \frac{20}{2L} \log \left(\frac{y_w}{y_f} \right) + \alpha_w(f) \quad (6)$$

De acuerdo con Kino. (1988), el coeficiente de atenuación para el agua destilada se aproxima:

$$\alpha_w(f) = 0.002f^2 \quad (7)$$

Todas las medidas son relativas al agua destilada. El primer paso es medir la respuesta del sistema. La señal reflejada se maximiza alineando el plano reflectante.

La señal a través del fluido se adquiere utilizando la misma escala de tiempo y número de puntos. Por lo tanto, el espectro de frecuencias se puede calcular en los mismos puntos que para la muestra de agua.

Posteriormente, la relación de la ec. (6) se calcula para evaluar el coeficiente de amortiguación. Tenga en cuenta que existe un rango alrededor de la frecuencia de resonancia en el que el transductor tiene una energía apreciable (es decir, hasta el 10% del máximo). La relación debe calcularse a esa frecuencia establecida para evitar errores cuando la respuesta es demasiado baja.

1.2.6. Análisis de composición de la pasta

El contenido total de humedad y aceite en la pasta se determinó en 30 g de muestra. Primero, se calculó la humedad en la muestra deshidratando la muestra a 103 ± 0.5 °C hasta alcanzar un peso constante. Para el análisis de aceite, la muestra se extrajo con hexano en un extractor automático (Randall 148, Velp Scientifica, Milán, Italia) siguiendo la técnica analítica descrita por Cherubini et al. (2009). El recipiente poroso contenedor de muestra se sumergió directamente en el disolvente hirviendo. A continuación, la muestra se sometió a un lavado a 139°C durante 40 min; el recipiente de la muestra se retiró del disolvente y se lavó a reflujo. La parte final del proceso que se llevó a cabo a 139°C durante 30 min fue la recuperación del disolvente. Los resultados se expresaron como porcentaje de aceite sobre materia seca y húmeda.

La extractabilidad (E) es el porcentaje de aceite extraído con respecto al contenido total de aceite determinado de las aceitunas procesadas. La E se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$E = \frac{W_{oil}}{W_{total\ oil}} 100 \quad (8)$$

donde W_{oil} es la masa del aceite extraído (kg) y $W_{total\ oil}$ es la masa de aceite en el lote de aceitunas procesadas (kg).

Para la comparación entre la aplicación y el control de ultrasonido, se calculó la extractabilidad neta por ultrasonido (NUE) a partir de la ecuación (9) evaluar la diferencia con respecto a los sin aplicación de ultrasonido (ultrasonido - control) sobre una base de aceite en pasta.

$$NUE = E (\text{ultrasonido}) - E (\text{control}) \quad (9)$$

Tratamiento estadístico

Se calcularon los promedios y ANOVA para NUE para ver si hay diferencia estadística (usando el HSD de Tukey, calculado con un intervalo de confianza del 95%) y se realizaron usando el software XL-Stat 2012 (Addinsoft, NY, EE.UU).

1.3. Resultados y discusión

1.3.1. Composición de las olivas

Se observó poca variación en el contenido de aceite y agua en los lotes cargados para cada corrida, independientemente del origen del cultivar de la aceituna, lo que indica que el lote seleccionado de aceitunas agrupadas era homogéneo (Fig. 5).

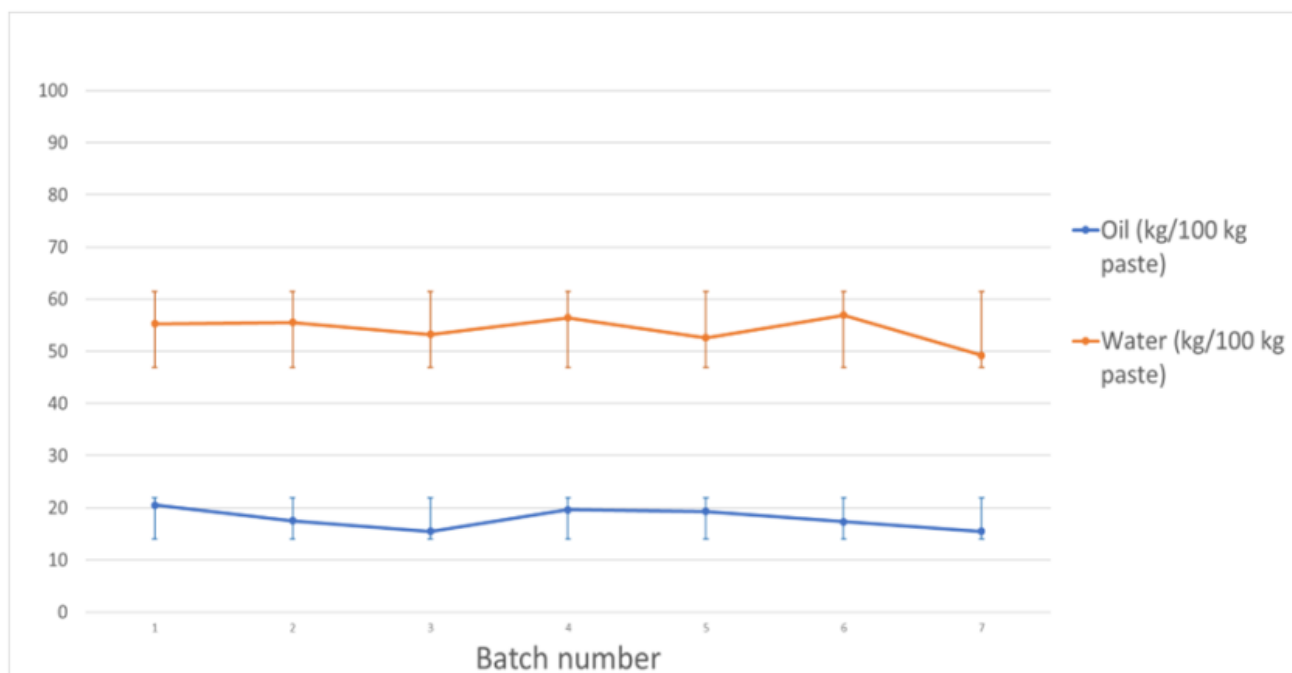


Figura 1.5. Variación del contenido de aceite y agua en todos los lotes de aceitunas analizados. Análisis realizado en pasta muestreada antes del batido.

Se detectaron coeficientes de variación bajos por tratamiento, tanto para el contenido de agua como de aceite, que oscilan entre 2.0% y 2.7% tanto para el contenido de agua como de aceite, respectivamente. Por lo tanto, se espera que la extractabilidad del aceite no se vea afectada debido a las condiciones del lote.

1.3.2. Caracterización del reactor de megasonido

La Figura 1.6 muestra los niveles de presión sonora medidos en las secciones inferior y superior del reactor de megasonido a 9 cm y 14.5 cm, respectivamente, tanto en agua como en pasta de aceituna. Fig. 1.6a y 1.6b muestran resultados a 0.4 y 2 MHz, respectivamente.

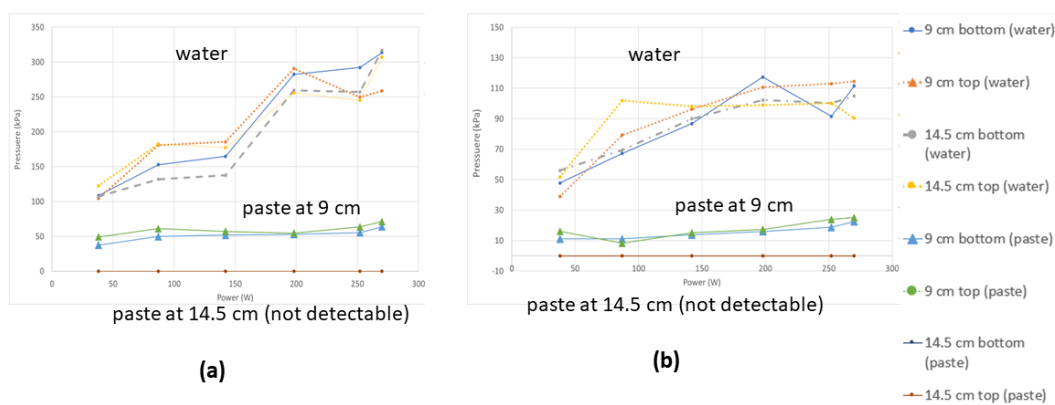


Figura 1.6. Medición del nivel de presión sonora en agua y pasta a una distancia de transductor a pared de 9 cm y 14.5 cm a niveles de potencia seleccionados usando (a) transductores de 0.4 MHz y (b) 2 MHz.

Como era de esperar, en agua pura se detecta presión de sonido través del reactor y los niveles de presión aumentan a mayor potencia del transductor en ambas frecuencias. Este comportamiento no depende de la distancia entre el transductor y la pared. En agua pura, debido a la baja atenuación, se forma un patrón estacionario con las ondas incidentes y reflejadas. La distribución de la presión de sonido depende de la relación entre la longitud de onda y el tamaño del reactor y no del tamaño en sí. Sin embargo, dicho aumento no se observó al medir el sonido en pasta debido a los efectos de atenuación. El nivel medio de

presión de sonido obtenido en agua a 0.4 MHz (100-320 kPa) fue mayor que a 2 MHz (47-120 kPa) al aplicar 117 kJ/kg de potencia eléctrica en ambos casos. Estos resultados dependen de la eficiencia en la emisión de los transductores, pero son consistentes con la suposición habitual de que la atenuación es proporcional al cuadrado de la frecuencia, por ejemplo, los hallazgos informados por Trujillo et. Al (2014).

La presión de sonido medida en la pasta de aceitunas fue detectable a 9 cm, pero no se detectó presión alguna a 14.5 cm de la fuente del transductor en ambas frecuencias. También se observó atenuación a 9 cm donde la pasta proporcionó niveles de presión sonora mucho más bajos que el agua, (30-70) kPa y (10-25) kPa a 0,4 MHz y 2 MHz, respectivamente. La pasta de aceite de oliva tiene una composición muy heterogénea, que incluye piel de aceituna, hueso, gotitas de aceite, y agua, por lo que las ondas de ultrasonido que la atraviesan son absorbidas por los componentes sólidos. Según Chamanai et al. (1998), la atenuación también aumenta con la frecuencia de ultrasonido en el aceite, mientras que el ultrasonido se atenuó más a 2 MHz que a 0.4 MHz. Aunque existen diferencias entre la atenuación del aceite y el agua (Kino, 1988), la principal contribución a la atenuación se debe a los sólidos. Como se explicó anteriormente, en medios viscosos, la atenuación de las ondas acústicas es proporcional al cuadrado de la frecuencia. Sin embargo, cuando el líquido tiene sólidos en suspensión, el fenómeno dominante para producir atenuación es la dispersión.

Además de estos experimentos, se empleó una técnica de medición de banda ancha de pulso-eco en el reactor de megasonido. Este experimento permite evaluar los efectos de los sólidos de la pasta de aceituna sobre la atenuación del sonido en la escala del reactor evitando el patrón estacionario formado en la onda continua. La Figura 1.7 corrobora la disminución de la detección de sonido al aumentar el contenido de sólidos de pasta de oliva en el líquido en el sistema del reactor. Los resultados se expresan de dos formas, primero la detección del sonido a través del decaimiento de la energía de la señal (Fig. 1.7a) y segundo,

a través del alfa (coeficiente de atenuación) (Fig. 1.7b).

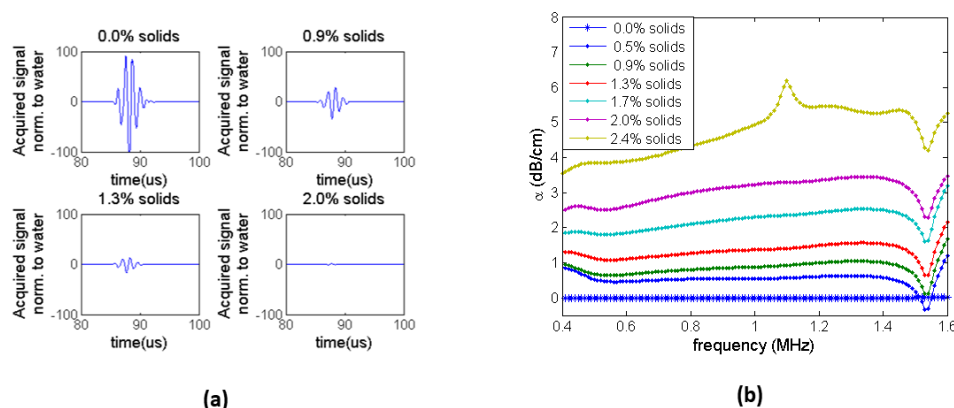


Figura 1.7. Medida pulso-eco: (a) respuesta obtenida al contenido de sólidos seleccionado con el transductor de 1 MHz (b) Coeficiente de atenuación de la respuesta en el rango [0.4 1.4]MHz, al contenido de sólidos de oliva seleccionado (p/p, sólidos/[aceite + agua]).

En el experimento, la relación pasta-agua se incrementa gradualmente para identificar el efecto de la concentración en la atenuación de la señal de ultrasonido. El receptor solo pudo detectar sonido en la pasta hasta un contenido de 2.0% de pasta sólida en líquido a medida que la señal se debilitaba cada vez más con el contenido sólido. Los gráficos del coeficiente de atenuación también verifican la mayor atenuación del sonido al aumentar la frecuencia en los contenidos de sólidos de pasta seleccionados (Fig 7b). Se toman los valores de 0.4 a 1.4 por la caída de señal que tiene cerca de 1.6, lo cual podría llevar a errores en los cálculos como se explicó más arriba. La Tabla 2 muestra los coeficientes de atenuación calculados a partir de la Ec. 8 en las frecuencias de 0.6 y 1.4 MHz.

Tabla 2: Coeficiente de atenuación a varias concentraciones sólidas tanto a 0.6 MHz y 1.4 MHz

Concentración de sólidos en pasta de oliva (total aceite base húmeda, %, p/p)	α at 0.6MHz (dB/cm)	α at 1.4MHz (dB/cm)
0.0	0.00072	0.0039
0.5	0.46	0.58
0.9	0.67	1.01

1.3	1.11	1.54
1.7	1.85	2.50
2.0	2.61	3.42
2.4	3.90	5.28

Los valores de atenuación de la pasta de aceitunas no se han informado anteriormente, mientras que solo hay informes de aceites comestibles (Chanamai & Mc Clements, 1998). Los perfiles de atenuación corroboraron estos hallazgos con coeficientes de atenuación de 3.9 y 5.3 dB/cm, para 0.6 y 1.4 MHz, respectivamente (Tabla 2). La capacidad de extracción del aceite no mejoró mediante la adición de agua durante el tratamiento ni al disminuir el tamaño del reactor.

Como puede observarse a partir de los resultados de la técnica de transmisión directa presentados en la Tabla 1.3 y la Figura 1.8, el coeficiente de atenuación a 0.4 MHz se vuelve alto al aumentar el contenido de sólidos.

Tabla 1.3. Coeficiente de atenuación a varias concentraciones sólidas tanto a 0,4 MHz como a 2 MHz.

Concentración de sólidos en pasta de oliva (total aceite base húmeda, %, p/p)	α_f at 0.4MHz (dB/cm)	α_f at 2.0MHz (dB/cm)
0	0.0003	0.008
1.1	0.58	0.38
2.1	0.93	1.0
2.8	2.19	0.58

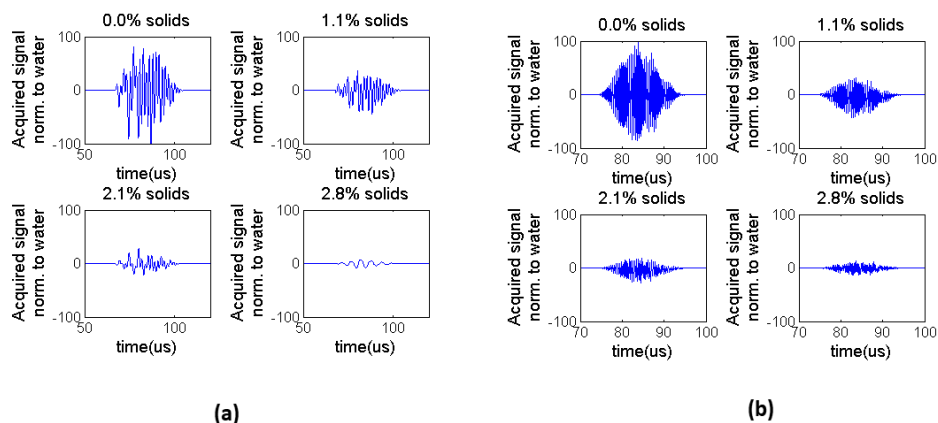


Figura 1.8. Medida de banda ancha por transmisión: respuesta obtenida en contenido sólido seleccionado (a) con el transductor de 0,4 MHz (b) con el transductor de 2 MHz.

Operando a 2 MHz, la señal fue indetectable para una alta concentración de pasta. Teniendo en cuenta la disolución de la pasta en un volumen tan grande (3 L aprox para la distancia del transductor a la pared de 14.5 cm), la sedimentación de los carozos comienza inmediatamente después de que se agregan al sistema, por lo que para cada determinación se homogeneizó el sistema por agitación, agregando variabilidad a este ensayo. Es por esto que la determinación se considera cualitativa, dado que, para una determinación más precisa, sería recomendable emplear un montaje de laboratorio.

1.3.3. Efectos de atenuación sobre la extractabilidad de aceite de oliva

Los efectos de la atenuación del sonido también se estudiaron mediante la obtención de valores sobre la extractabilidad del aceite de oliva a dos distancias transductor-pared de 9 y 14.5 cm, respectivamente, tanto a frecuencia de 0.4 como a 2 MHz. Este experimento se ajustó para que se aplicara la misma potencia y energía específicas ($E_s = 117 \text{ kJ/kg}$, considerando contenido de sólidos) al utilizar masas de pasta mayores de 1.5 kg y 3 kg para que los transductores queden cubiertos por pasta tanto a 9 como a 14.5 cm. Transductor a la distancia de la pared, respectivamente.

En primer lugar, las extractabilidades de aceite de oliva de las muestras de control (sin ultrasonido) a 9 y 14.5 cm fueron significativamente similares ($P >$

0.05, Tabla 4, experimento 2), lo que indica resultados consistentes entre experimentos utilizando la misma materia prima. Cuando se aplicó ultrasonido a 0.4 o 2 MHz, se observó una mejora en la extractabilidad del aceite a ambas distancias como se ve por los valores positivos de NUE (Ec. 10). Sin embargo, la NUE fue significativamente mayor ($P < 0.05$) cuando se usó un transductor a una distancia de pared mayor de 14.5 cm que a 9 cm para el transductor operando a 0.4 MHz.

Los efectos del ultrasonido sobre la NUE pueden explicarse debido a la presencia de una mayor cantidad de burbujas cavitando y distribuidas en un mayor volumen de biomasa. La cavitación a altas frecuencias (0.4 - 2 MHz) ha demostrado ser más estable que a frecuencias más bajas (20-100 kHz), dado que las burbujas no tienen tiempo suficiente para aumentar de tamaño y crear implosiones fuertes e inestables (Leighton., 1995). Como se discutió en artículos anteriores (Juliano et al., 2017, Martinez-Padilla et al., 2018; Leone et al., 2018), se sugirió que los efectos sobre la mejora de la extractabilidad del aceite de oliva por ultrasonidos de alta frecuencia se debían a (a) mecanismos de atrapamiento de gotas de aceite en ondas estacionarias y/o (b) efectos de remoción de aceite por microstreaming debido a la cavitación estable de burbujas que imparten efectos de "roce" del aceite en regiones localizadas a lo largo de la pasta de aceituna, con respecto a la posible presencia de calentamiento localizado, aunque no se observó ningún aumento de temperatura en la mayor parte de la pasta de aceituna. Los resultados anteriores indican que es menos probable que un mecanismo de atrapamiento de aceite por onda estacionaria tenga efecto debido al gran grado de atenuación en este medio heterogéneo. Sin embargo, dado que se observan mayores mejoras en el rendimiento del ultrasonido de aceite cuando se utilizan mayores volúmenes y distancias a la misma potencia específica a 0,4 MHz, se espera que el ultrasonido de 0,4 MHz penetre a través de la biomasa pero el ultrasonido residual no detectado basta para la creación de burbujas de cavitación a través del muestra entera de 3 kg. Los efectos del aumento de la atenuación y la dispersión mencionados anteriormente a 2 MHz también se reflejan en los resultados más bajos (no significativos) observados a 14 cm, en comparación con 9 cm ($P > 0,05$, Tabla 4, experimento 2).

Tabla 4: Extraibilidad del aceite en pastas de aceituna con y sin tratamiento de ultrasonido. Se indican los números de experimento correspondientes y se etiqueta cada lote. Letras diferentes indican diferencias significativas con respecto al control ($P < 0,05$) en lotes seleccionados.

Exp	Batch	País	M. I.	tiempo batido	adición de agua **	Frecuencia (MHz)	tiempo de sonicación (min) α	Potencia (W)	Es(kJ/kg)	Presión de sonido en la pasta (kPa)	distancia transductor-r-pared opuesta (cm)	Extractabilidad (%)*	NUE***	p - valor
1	1	Italia	2.5	30	no	0	5	0	0	N/D	14.5	72.1	10.2 a 2.7 b	0.003
		Italia	2.5	30	no	0.4	5	280	252		14.5	82.3		
		Italia	2.5	30	no	2	5	280	252		14.5	74.8		
	2	Uruguay	1.0	30	yes	0	5	0	0	N/D	14.5	78.5	9.6 a 3.5 b 10.4 a 2.0 b	0.021
		Uruguay	1.0	30	yes	0.4	5	280	252		14.5	88.1		
		Uruguay	1.0	30	yes	2	5	280	252		14.5	82.0		
		Uruguay	1.0	30	no	0	5	0	0		14.5	78.5		
Uruguay		1.0	30	no	0.4	5	280	252	14.5		88.9			
Uruguay	1.0	30	no	2	5	280	252	14.5	80.5					
2	3	Uruguay	1.0	30	no	0	5	0	0	0	9	58.1	2.7 b 2.0 b 6.5 a 1.0 b	0.0076
		Uruguay	1.0	30	no	0.4	5	174	252	70	9	60.8		
		Uruguay	1.0	30	no	2	5	174	252	22	9	60.1		
		Uruguay	1.0	30	no	0	5	0	0	0	14.5	58.7		
		Uruguay	1.0	30	no	0.4	5	280	252	N/D	14.5	65.2		
		Uruguay	1.0	30	no	2	5	280	252	N/D	14.5	59.7		
3	4	Italia	1.5	10	no	0	5	0	0	N/D	14.5	70.9	1.7 b 7.9 a	0.028
		Italia	1.5	10	no	0.4	5	280	252		14.5	72.6		
		Italia	1.5	30	no	0	5	0	0		14.5	81.1		
		Italia	1.5	30	no	0.4	5	280	252		14.5	89.0		
4	5	Italia	1.5	30	no	0	2.5	0	0	N/D	14.5	83.3	2.0 b 5.8 a	0.043
		Italia	1.5	30	no	0.4	2.5	280	252		14.5	85.3		
		Italia	1.5	30	no	0	5	0	0		14.5	85.6		
		Italia	1.5	30	no	0.4	5	280	252		14.5	91.4		
5	6	Italia	1.3	30	no	0	5	0	0	N/D	14.5	81.6	1.4 a 8.1 a	0.173
		Italia	1.3	30	no	0.4	5	174	157		14.5	83.0		
		Italia	1.3	30	no	0	5	0	0		14.5	71.7		
		Italia	1.3	30	no	0.4	5	280	252		14.5	79.8		
	7	Uruguay	3.0	30	no	0	5	0	0	N/D	14.5	71.9	7.5 a 4.6 a	0.46
		Uruguay	3.0	30	no	0.4	5	174	157		14.5	79.4		
		Uruguay	3.0	30	no	0	5	0	0		14.5	77.6		
		Uruguay	3.0	30	no	0.4	5	280	252		14.5	82.2		

* I.M. = Índice de Madurez

** agua añadida en relación agua:pasta (1:3)

*** NUE (diferencia con respecto al control sin aplicación de ultrasonido (ultrasounido - control) en base de aceite en pasta

α el control se refiere a 0 MHz, cuando la pasta no fue tratadada por un tiempo equivalente sin sonicación

Es= Energía específica

N/D = no detectado

1.3.3.1. Efecto de la adición de agua

Se añadió agua a la pasta de aceitunas (relación 1: 3) durante el batido para evaluar si se lograron mejoras de atenuación en la extractabilidad del aceite. La Tabla 4 (experimento 1) muestra que las mejoras en la capacidad de extracción se produjeron tanto con la adición de agua como sin agregado, indistintamente a 0,4 MHz como a 2 MHz, como muestran los valores NUE positivos. Sin embargo, al comparar los valores de NUE con y sin agregado de agua, la mejora del aceite por aplicación de ultrasonido en la extractabilidad del aceite no fue significativa con la adición de agua ni a 0,4 MHz ni a 2 MHz. Aunque las Figuras 6 y 7a mostraron que el contenido de agua adicional disminuye la atenuación, esto no afectó las mejoras de la extractabilidad debido al ultrasonido.

El contenido de sólidos de las aceitunas, sin adición de agua, fue del 12% (m/m, sólidos / (agua + aceite)). Cuando se agregó agua, el porcentaje de sólidos al contenido de líquido fue del 9% (m/m, sólidos / agua + aceite), que es mucho mayor que los valores considerados en los estudios de atenuación (Fig 8). El hecho de que no se observen mejoras en la NUE debido a la adición de agua también puede indicar que el nivel de sólidos alcanzado después de la dilución (9%) seguirá afectando el mecanismo de atrapamiento de aceite de onda estacionaria debido a los efectos de atenuación. Sin embargo, prevalece el mecanismo de burbuja de cavitación y el calentamiento localizado, lo que promueve una mayor liberación de aceite. Por lo tanto, los resultados actuales en el rango de dilución actual no respaldan que una atenuación reducida debido a la dilución pueda permitir que se produzca un mecanismo de atrapamiento de aceite y, por lo tanto, un rendimiento de aceite adicional. Estudios previos (Juliano et al., 2017b) evaluaron los efectos de la mejora del ultrasonido de alta frecuencia con la adición de agua mostrando los beneficios de la tecnología, por lo tanto, evaluaron la potencia del ultrasonido y los efectos del tiempo con un 30% de adición de agua en la pasta. Sin embargo, este estudio anterior no evaluó los efectos de alta frecuencia.

1.3.3.2. Efectos de la frecuencia

Los Experimentos 1 y 2 (Tabla 4) muestran el resultado de ambas experiencias en Italia y Uruguay con tres comparaciones en 0,4 MHz y 2 MHz. Para todos los ensayos, NUE fue significativamente mayor ($P < 0.05$) a 0.4 MHz que a 2 MHz y se obtuvieron diferencias similares entre los valores de NUE con y sin adición de agua. Como se discutió anteriormente, la Fig. 6 también mostró que la atenuación es mayor a 2 MHz, lo que sugiere que el megasonido operando a 0,4 MHz conduce a un mejor rendimiento y una mayor capacidad de extracción de aceite de oliva. Leone et al (2017) demostró la reducción de la viscosidad de la pasta después de tratamientos de 0.4 + 0.6 MHz y 10 kJ / kg. Es bien sabido que existe una relación lineal entre la reducción de la viscosidad y el aumento del rendimiento del aceite de oliva (Baccionni & Peri, 2014). Por lo tanto, con base en los resultados de rendimiento, se puede inferir que la viscosidad de la pasta es menor a 0.4 kHz que a 2 MHz". Las frecuencias más altas, como 2 MHz, crean un mayor número de burbujas más pequeñas que a 0,4 MHz. Un mayor número de burbujas puede tener mejores efectos localizados; sin embargo, el microstreaming podría no ser lo suficientemente potente, dado que los sólidos atenúan más las frecuencias más altas. Debido a un mejor rendimiento en la extractabilidad de aceite de 0,4 MHz en comparación con 2 MHz, las siguientes secciones solo proporcionan comparaciones a 0,4 MHz.

1.3.3.3. Reducción del tiempo de batido

El experimento 3 se llevó a cabo para probar si el ultrasonido ayudaría a reducir el tiempo de batido de 30 min a 10 min sin adición de agua. Los resultados proporcionados en una publicación anterior (Juliano et al., 2017b) solo se demostraron con la adición de agua del 30% del peso de la pasta. En este caso, se obtuvo NUE significativamente mayor con un tiempo de batido más largo ($P < 0.05$). Un tiempo de batido reducido condujo a una menor cantidad de aceite liberado y, por lo tanto, a menos aceite libre para que el ultrasonido lo separara. Debido a la menor cantidad de aceite libre presente en tiempos de malaxación más bajos, es posible que los ultrasonidos de alta frecuencia no ayuden a reducir el tiempo de malaxación. Entre la literatura (Trujillo et al., 2014, Tamborrino et al., 2014, Esposto et al., 2013), se ha demostrado un efecto de reducción de la

viscosidad debido al batido, por lo que el ultrasonido de alta frecuencia puede ser más adecuado para penetrar materiales menos viscosos.

1.3.3.4. Reducción de la energía de ultrasonido

La instalación de reactores de ultrasonido debe considerar no solo los costos de capital sino también los costos operativos en términos de demanda de energía. Además, la reducción de los tiempos de residencia es importante para los grandes caudales que se producen en los procesos de aceite de oliva, que merecen estudiarse como el tiempo mínimo obtenible de aplicación de ultrasonidos.

La Tabla 4, experimento 4, muestra que se podrían lograr mejoras en la extractabilidad incluso en un tiempo de sonicación de 2.5 min (NUE = 5.8%), aunque la aplicación de ultrasonido por 5 min proporcionó una recuperación de aceite significativamente mejor. Los efectos del tiempo también se demostraron en la bibliografía (Juliano et al., 2017b; Leone et al., 2018) mediante la adición de agua con un tratamiento de hasta 5 minutos. Los resultados sugieren reducir el tratamiento con ultrasonido a unos pocos minutos manteniendo una alta energía específica (117 kJ/kg).

El experimento 5 evaluó los efectos de la reducción de potencia específica sin adición de agua. En este caso, no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) en los resultados observados al aplicar 73 kJ/kg o 117 kJ/kg en dos experimentos separados llevados a cabo en Italia y Uruguay. Aunque esto contradice los resultados reportados por Juliano et al. (2017b), después de la adición de agua en la pasta, este efecto puede desaparecer cuando no se agrega agua. La Figura 1.5 muestra que, aunque los niveles de presión de sonido aumentan con la potencia en el agua, no necesariamente aumentan en la pasta. Por lo tanto, se obtienen los mismos efectos cuando se utilizan niveles de potencia específica tanto bajos como altos, lo que sugiere que se requiere una potencia específica menor para la extracción del aceite de oliva. Los datos industriales informados por Leone et al. (2017) a 350 kg/h sin adición de agua utilizan una energía específica de 20 kJ/kg obteniendo valores de NUE de 2.3. Estos valores de NUE son inferiores a los obtenidos en el presente trabajo (2.7 a 10.4). Es importante evaluar la reducción de la potencia del ultrasonido a través de un análisis de

costo-beneficio, ya que los transductores industriales son relativamente costosos; por lo tanto, la disminución de los requisitos de energía reducirá los costos de capital y operativos del reactor industrial

1.4. Conclusiones

Se produjeron mejoras en la capacidad de extracción del aceite a partir de pasta de aceitunas incluso cuando existen altos niveles de atenuación acusados por niveles de presión de sonido indetectables en ciertas áreas del reactor de megasonido. Por lo tanto, el mecanismo de atrapamiento de gotas de aceite de onda estacionaria en la pasta de aceituna no sería el que esté explicando el efecto de la aplicación de megasonido en los resultados. El mecanismo se basa en la formación de un patrón de presión estacionaria a través del recipiente, que es poco probable que ocurra debido a los efectos de dispersión observados. No obstante, pueden producirse otros fenómenos ultrasónicos, como los efectos de microstreaming y la cavitación estable no emulsionante, que contribuyen a una recuperación adicional de aceite. El rendimiento del reactor de megasonido sobre la extractabilidad de aceite fue mejor a 0.4 MHz que, a 2 MHz, donde se reduce la atenuación. La reducción del tiempo de batido de 30 a 10 min mediante la aplicación de un tratamiento con megasonido de 0.4 MHz no se pudo lograr en el sistema actual. El presente trabajo ha aportado conocimientos sobre el mecanismo de aplicación de ultrasonidos en la extracción de aceite de oliva a partir de estudios de atenuación, así como más información sobre el rendimiento del sistema con aplicación de megasonido sin adición de agua, lo que respalda el futuro diseño de reactores de megasonido industriales.

1.5. Agradecimientos

Este estudio fue financiado en parte por la región de Puglia “Guidelines for Research and Experimentation in Agriculture 2012–2014”, proyecto de investigación MICROLIO (Grant number: PRS_011), “Determinazione del dirigente servizio agricoltura” 31 Marzo de 2014, n. 110, por el premio CSIRO Julius Career Award grant (Grant number: WBS R90070) y la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII).

Nos gustaría recordar especialmente a la Dra. María Antonia Grompone por sus invaluable aportes, consejos y motivación. RIP

Capítulo 2

Aplicación de microondas y megasonido a la pasta de aceituna en una planta industrial de extracción de aceite de oliva: impacto en la calidad y composición del aceite de oliva virgen

Este capítulo profundiza sobre las posibilidades de intervenciones con tecnologías físicas sobre el proceso de extracción de aceite de oliva extra virgen a nivel industrial, buscando maneras de optimización del proceso, ya sea por sustitución del batido de la pasta de aceituna, o aumento de la extractabilidad del aceite posterior al batido. Se estudia el efecto de la aplicación de nuevas tecnologías novedosas en la extractabilidad de aceite de oliva extra virgen aplicando megasonido, microondas y la combinación de ambas tecnologías. Para la evaluación del impacto sobre la calidad y composición de antioxidantes, se analizan el perfil sensorial, el perfil de los compuestos volátiles, y el contenido de polifenoles. Los resultados demostraron que se pudo sustituir el batido discontinuo por la aplicación de microondas. Se logró aumentar la recuperación de aceite aplicando megasonido y mediante la combinación de microondas y megasonido. Se comprobó que la aplicación de estas tecnologías no tiene efecto sobre la calidad sensorial y la calidad química del aceite. Esta investigación se realizó a través de un trabajo multidisciplinario de la Universidad de Foggia (Italia), Universidad de Bari (Italia), Universidad de Perugia (Italia), Udelar (Uruguay) y Commonwealth (Australia), con actividades que se desarrollaron en Foggia, Italia. El rol de la Udelar además de participar en parte de los estudios en planta, fue en el análisis sensorial y químico de los aceites obtenidos, y el estudio de la vida útil que se presenta en el capítulo tres. Los resultados obtenidos fueron divulgados en el 12th Pangborn Sensory Science Symposium (2017) en Providence USA y se publicó el siguiente artículo:

- Leone, A.; Romaniello, R.; Tamborrino, A.; Urbani, S.; Servili, M.; Amarillo, M.; Grompone, M.A.; Gambaro, A.; Juliano, P. (2018). Application of microwaves and megasound to olive paste in an industrial olive oil extraction

plant: impact on virgin olive oil quality and composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120: 1-8.

2.1. Introducción

La extracción del aceite a partir de aceitunas consiste en la preparación de la pasta de aceitunas por medio de molinos mecánicos en continuo, transferencia de la pasta a un batidor para el batido y acondicionamiento térmico, separado de fase líquida de la pasta (aceite de oliva y agua) de la fase sólida (orujo) empleando un decanter y finalmente separar el aceite del agua con una centrífuga vertical (Tamborrino et al., 2015). Sin embargo, como se ha mencionado, el batido de la pasta de aceituna continúa siendo el único paso del proceso que opera en batch (discontinuo), trabajando los demás pasos del proceso en forma continua, insumiendo cerca de la mitad del tiempo total del proceso de extracción.

Leone et al. (2014) desarrolló un prototipo de tubo de microondas (MW) de 4 magnetrones (2.45 GHz, 24 kW) el cual permite el acondicionamiento térmico en continuo y rápido para un flujo de pasta de 3000 kg/h. El prototipo proporcionó un flujo ininterrumpido y una mejor uniformidad de calor que en el batidor tradicional, al tiempo que evitaba el sobrecalentamiento de los subproductos. El sistema reduce el acondicionamiento térmico desde 40 min en el batido convencional a unos pocos segundos sin comprometer la capacidad de extracción del aceite, en comparación con el proceso tradicional. Cabe recordar que el calentamiento localizado por microondas provoca la ruptura de los materiales de la pared celular mediante la formación de un flujo de presión de vapor interno facilitando la liberación de los componentes de la pared celular (Aguilera & Stanley, 1999; Jiao et al. 2013). Los aceites obtenidos después del acondicionamiento de MW no cambiaron el perfil del espacio de cabeza ni el contenido fenólico (Leone et al., 2014; Tamborrino et al., 2014).

La aplicación de ondas estacionarias de ultrasonido de alta frecuencia a la pasta de aceituna, también conocidas como megasonido (MS), han sido probadas industrialmente como una intervención del proceso con el fin de mejorar la recuperación del aceite de oliva (Juliano et al., 2017a; Juliano et al., 2016). Se observaron mejoras en la capacidad de extracción de hasta un 1,7% después de probar la tecnología a 300 kg / h. La exposición de gotitas emulsionadas en un campo de ondas estacionarias de ultrasonido promueve el posicionamiento de

gotitas o partículas individuales sobre antinodos o nodos de presión, respectivamente, promoviendo efectos de aglomeración o coalescencia rápidos. Juliano et al. (2017b) informó que no hay ningún impacto en los parámetros de calidad estándar del aceite de oliva para la denominación de aceite de oliva virgen extra según análisis preliminares (es decir, acidez libre, índice de peróxido, K232, K270, ésteres etílicos de ácidos grasos) en el aceite de oliva extraído de pastas batidas tratadas con megasonido.

Las ondas de alta frecuencia más allá de 400 kHz también producen burbujas de cavitación más pequeñas de naturaleza estable, que promueven un microstreaming localizado y efectos de fricción del material. Otros estudios relacionados con la aplicación de ultrasonidos para la separación del aceite de oliva han utilizado frecuencias en el rango de 18-24 kHz con sonotrodos especiales y han demostrado una mejor recuperación de aceite a escala laboratorio (Bejaoui et al., 2016a; Bejaoui et al., 2016b; Hu et al., 2016) o aceites con un contenido fenólico mejorado en sistemas a gran escala probado antes del batido. (Clodoveo et al., 2017; Leighton., 1995) El mecanismo detrás de la aplicación de ultrasonido de baja frecuencia consiste en la rotura de la pared celular vegetal a través de burbujas de cavitación inestables que implosionan a muy altas temperaturas (Leone et al., 2017).

Se evaluó industrialmente a 300 kg/h las tecnologías arriba mencionadas, por separado y en combinación: (a) el acondicionamiento de la pasta de aceituna con MW sin batido; (b) la inclusión de la etapa de post-batido del tratamiento con MS en el proceso tradicional; y (c) el tratamiento combinado de pastas sin batido con MW seguido de MS (Leone et al., 2017). El estudio demostró una nueva oportunidad tecnológica para el desarrollo de un proceso de aceite de oliva continuo que consiste en el acondicionamiento MW+MS, que proporcionó un rendimiento adicional de aceite de oliva.

El presente trabajo examina el impacto de los tratamientos de preacondicionamiento de pastas de aceitunas con MW, MS y la combinación novedosa de estas nuevas tecnologías (MS + MW) sobre los parámetros químicos comerciales y sensoriales de los aceites de oliva obtenidos. Este

trabajo también explora el impacto de cada tecnología y su combinación en el contenido fenólico y el perfil volátil de los aceites. La aplicación de estas tecnologías es un enfoque relativamente nuevo para la extracción de aceite de oliva virgen extra y, proporciona resultados concretos, que pueden ser de gran utilidad para quienes trabajan en este campo específico.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Prototipos de Megasonido y Microondas empleado en los experimentos

Se diseñaron dos prototipos para evaluar por separado las tecnologías de microondas y megasonido en un proceso de extracción industrial. Estos prototipos se ensamblaron posteriormente en serie como una sola unidad para realizar pruebas combinadas de MW + MS. Se utilizaron conexiones específicas para ensamblar los prototipos y colocarlos en la planta de extracción industrial.

El prototipo MW (Fig. 2.1) fue construido para trabajar en un proceso continuo. Está constituido por una cámara reverberante (construida en acero inoxidable AISI 304) con plano de corte pentagonal. En el interior hay un tubo de polipropileno (65,4 mm de diámetro y 2000 mm de longitud).

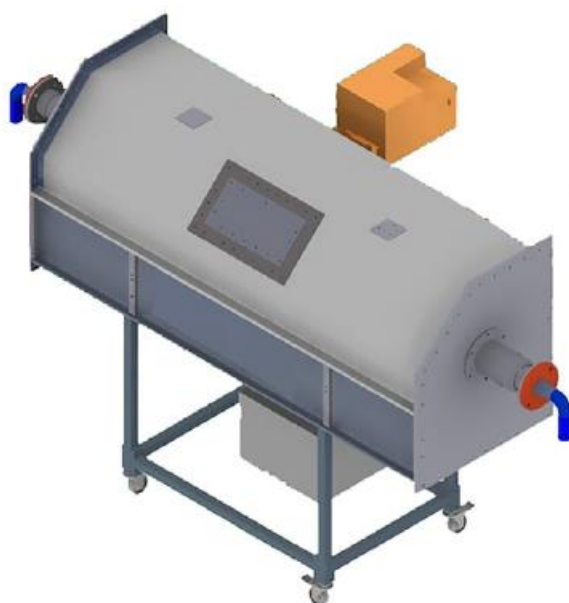


Figura 2.1. Esquema del prototipo de microondas utilizada para las pruebas experimentales.

La cámara reverberante fue equipada con un cabezal generador TM060 (Alter srl, Reggio Emilia - Italia) acoplado a un magnetrón YJ1600C (Alter srl, Reggio Emilia - Italia). Este sistema tiene una potencia máxima de 6,0 kW a 2,45 GHz. El magnetrón se enfría con agua y está equipado con un control de flujo para modular el flujo de agua en función de la temperatura. El cabezal del generador está conectado a una fuente de alimentación SM1180T (Alter srl, Reggio Emilia - Italia). El generador de microondas se montó sobre una placa de aluminio para soportar la estructura y empleó un sistema de seguridad que impedía que el sistema se pusiera en marcha cuando la protección de la tapa estaba abierta. El prototipo MW fue ensamblado por EMITECH s.r.l. (Corato, Italia).

Se desarrolló un reactor rectangular de acero inoxidable para aplicación de megasonido (MS) (200 L) como el primer prototipo para ensayos a gran escala en la extracción de aceite de oliva (Juliano et al., 2017b). El reactor incluía un conjunto de cuatro transductores (Sonosys Ultraschallsysteme GmbH, Alemania) con frecuencias de 400 kHz y 600 kHz, unidos a las paredes del reactor a lo largo de la vasija (Figura 2.2) los cuales consumían 2 kW.

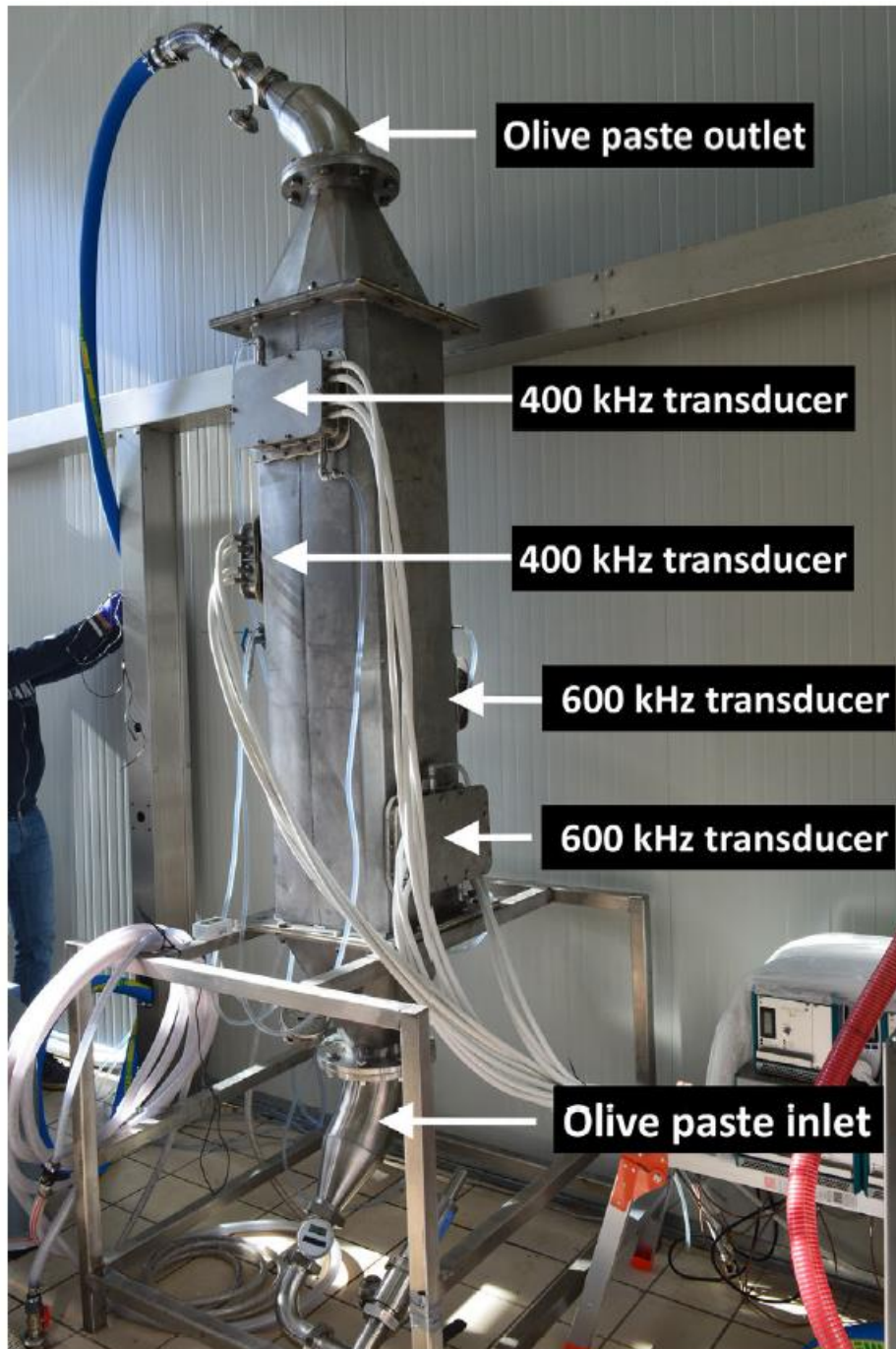


Figura 2.2. Prototipo de megasonido empleado para las pruebas.

Los transductores funcionaban con un conjunto de generadores que transforman la energía eléctrica en ondas de presión sonora de alta frecuencia. Los transductores se enfriaron con una jaula de sistema de enfriamiento para contacto indirecto con el transductor, lo que permitió la sonicación continua del flujo a través de la pasta de aceitunas. El agua de refrigeración fluyó entre cada transductor y una placa de transmisión unida a la pared del recipiente a 7 L/min.

Los transductores se colocaron paralelos a la pared opuesta para crear un campo de ondas sonoras estacionarias dentro del reactor. Se colocaron sensores de temperatura en la entrada y salida del reactor para controlar los cambios durante el procesamiento continuo.

2.2.2. Lay-out de la planta donde se realizaron las pruebas experimentales

Todas las pruebas se llevaron a cabo en AGROLIO s.r.l. Molino ubicado en el campo de Andria (BT), Italia. La planta utilizada fue una línea bifásica, sin agua añadida al decantador y sin centrifugadora vertical. La planta fue construida por MORI-TEM s.r.l., Tavernelle Val di Pesa (FI, Italia).

La almazara estaba constituida por los siguientes equipamientos:

#1 Grupo de deshojadores y lavadoras (modelo DLE SUPER R);

#1 trituradora de cuchillos (modelo FR_350_11_BFP_2);

#2 Batidos vertical (modelo 2GV_300),

#1 Decanter horizontal de dos fases (modelo TL_750).

Las unidades MW y MS se conectaron como se informa en la Figura 2.3 en la planta industrial descrita anteriormente.

2.2.2.1. Programación de las pruebas

Se utilizaron olivas de variedad Coratina (*Olea europaea L.*) con un índice de madurez de 1,5 determinado según el método propuesto por el Consejo Oleícola Internacional (COI, 2001). Se desarrolló un diseño factorial utilizando 7 réplicas del mismo lote de aceitunas por tratamiento para evaluar la extractabilidad del aceite, las propiedades de la pasta y el orujo después de los siguientes tratamientos:

- (a) extracción de aceite mediante el proceso tradicional con batido (Control);
- (b) extracción de aceite mediante el proceso tradicional con batido seguido de tratamiento con MS (Control + MS);
- (c) extracción de aceite con pre-acondicionamiento MW y sin batido (MW)
- (d) extracción de aceite con pre-acondicionamiento MW, sin malaxación, seguido de tratamiento MS (MW + MS)

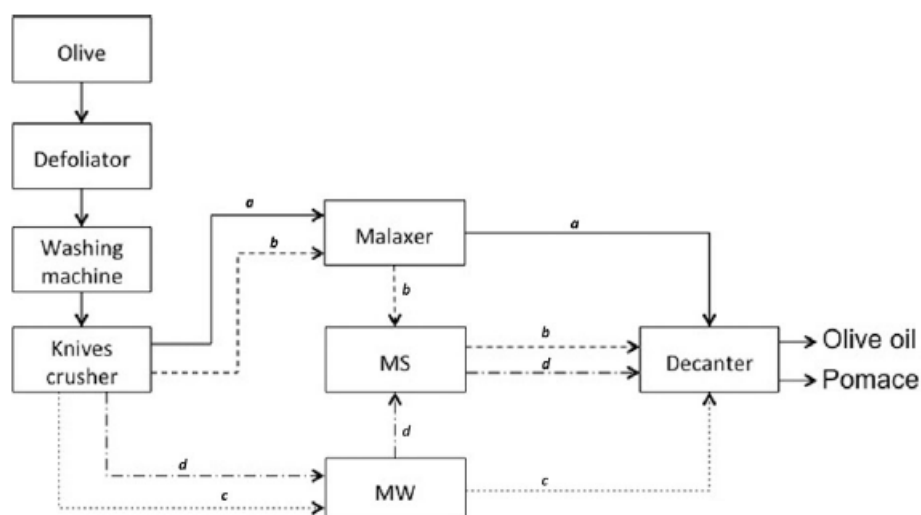


Figura 2.3. Configuración de planta: la línea continua es Control (tratamiento a); la línea discontinua es Control + MS (tratamiento b); la línea de puntos es MW (tratamiento c); la línea discontinua-punteada es MW + MS (tratamiento d).

Los tratamientos se asignaron al azar a lo largo de los días de ejecución. Se realizó un ciclo de limpieza al cambiar al siguiente tratamiento para reemplazar la pasta tratada o sin tratar que queda en los recipientes MW o MS. La temperatura de la pasta en todos los procesos osciló entre 27 y 28 ° C. El caudal se midió mediante el caudal másico a través del decantador durante la operación y los valores promedio en todos los procesos oscilaron entre 317 y 395 kg/h.

2.2.2.2. Muestreo

Durante cada ejecución de prueba, se tomó una muestra de pasta de aceitunas del recipiente batidor al final de la etapa de descarga del triturador para determinar la humedad y el aceite y se almacenaron a 1 ° C hasta el análisis. Se tomaron muestras de orujo del decantador a intervalos de tiempo regulares durante cada prueba y se almacenó a 1 ° C hasta el análisis.

2.2.3. Parámetros legales de calidad del aceite de oliva virgen extra

La acidez libre, los valores de peróxido, los coeficientes de extinción específica a 232 y 268 nm (K232 y K268), están definidos por el Consejo Oleícola Internacional como parámetros clave para la denominación comercial de la

calidad del aceite de oliva virgen extra y se midieron de acuerdo con sus métodos estándar (COI, 2019).

Compuestos fenólicos en los aceites recolectados

La extracción de compuestos fenólicos del AOVE se realizó de acuerdo con Servili et al. 1999, con algunas modificaciones. En este método se mezclaron 22,5 g de AOVE con 10 mL de una solución de metanol/agua (80/20 v/v) y se homogeneizaron en un homogeneizador Ultra-Turrax T 25 (IKA Labortechnik, Staufen, Alemania) a 17000 rpm durante 2 min, se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min, luego se recuperó el sobrenadante. Las operaciones se repitieron dos veces. Los dos sobrenadantes fueron recolectados y concentrados por Rotavapor a 37 °C. El extracto se tomó con 2 mL de metanol y se evaporó a sequedad bajo una corriente de nitrógeno. El análisis del extracto se realizó por HPLC, previa solubilización de la muestra con 1 mL de metanol y filtración sobre un filtro de PVDF de 0,45 mm. Los extractos fenólicos se analizaron por HPLC de fase reversa con un sistema Agilent Technologies Mod. 1100, compuesto por: desgasificador de vacío, bomba cuaternaria, automuestreador, compartimento de columna termostatzado y detectores (DAD y FLD). Se utilizó una columna C18, Spherisorb ODS-1 (250 mm X 4,6 mm), con un tamaño de partícula de 5 mm (Phase Separation Ltd., Deeside, Reino Unido); el volumen de muestra inyectado fue de 20 µL. Las condiciones operativas del análisis cromatográfico fueron las siguientes. La fase móvil estuvo compuesta por ácido acético al 0,2% (pH 3,1) en agua (disolvente A) con metanol (disolvente B). El gradiente se cambió de la siguiente manera: 95 % A/5 % B durante 2 min, 75 % A/25 % B en 8 min, 60 % A/40 % B en 10 min, 50 % A/50 % B en 16 min, 0% A/100% B en 14 min. Esta composición se mantuvo durante 10 min y luego se devolvió a las condiciones iniciales y al equilibrio en 13 min. El tiempo total de ejecución fue de 73 min. El caudal fue de 1 mL/min.

Compuestos volátiles en aceites recolectados

La evaluación y cuantificación de compuestos volátiles en AOVE se realizó mediante microextracción en fase sólida de espacio de cabeza (HS-SPME) seguida de análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masas (HS-SPME-GC / MS) según Selvaggini et al., 2014 con pocas modificaciones. Para

muestrear los compuestos volátiles del espacio de cabeza, se aplicó SPME de la siguiente manera: se colocaron 3 g de AOVE en un vial de 10 ml y se termostató a 35°C, luego la fibra SPME (divinilbenceno / carboxeno / poli (dimetilsiloxano) de 50/30 µm (DVB / CAR / PDMS) con una longitud de 1 cm; StableFlex, Supelco, Inc., Bellefonte, PA, EE. UU.) Se expuso a la fase de vapor durante 30 min para muestrear los compuestos volátiles. Posteriormente, la fibra se insertó en el conjunto de inyectores GC en splitless modo, utilizando un revestimiento de entrada splitless de 0,75 mm de d.i. para la desorción térmica, donde se mantuvo durante 10 min. Todas las operaciones de SPME se automatizaron mediante el uso de un autoinyector Varian CP 8410 (Varian, Walnut Creek, CA, EE. UU.) Análisis GC / MS.

El análisis del compuesto volátil muestreado con SPME se realizó como se informa en Servili et al. (1999) con unas pocas modificaciones. Se utilizó un Varian 4000 GC / MS equipado con un inyector capilar universal 1079 (Varian). Se empleó una columna capilar de sílice fundida Agilent J&W (DB-WAXetr, 50 m, 0,32 mm de d.i., 1 µm de espesor de película; Agilent). La columna se hizo funcionar con helio a un caudal constante de 1,7 ml / min mantenido con un controlador de flujo electrónico (EFC). El programa de calentamiento del horno de GC comenzó a 35°C. Esta temperatura se mantuvo durante 8 min, luego se aumentó a 45°C a una velocidad de 1,5°C/min, se aumentó a 150°C a una velocidad de 3°C/min, se incrementó a 180°C a una velocidad de 4°C/min, y finalmente se incrementó a 210°C a una velocidad de 3.6°C/min; A continuación, esta temperatura se mantuvo durante 14,5 min. El tiempo total de análisis fue de 80 min. La temperatura del inyector se mantuvo a 250°C; la temperatura de la línea de transferencia se fijó en 170°C. El espectrómetro de masas se hizo funcionar en el modo de ionización electrónica (EI) a una energía de ionización de 70 eV, con escaneo en el rango de masa de m/z 25-350 amu a una velocidad de escaneo de 0.79 s / escaneo y una temperatura de punto de ajuste de la trampa de 150°C. El GC-MS se hizo funcionar con el software de estación de trabajo Varian MS, versión 6.6 (Varian).

Los compuestos volátiles de los aceites obtenidos por los diferentes tratamiento se identificaron mediante la comparación de sus espectros de masas y tiempos

de retención con los de los compuestos de referencia auténticos. La integración de todos los picos cromatográficos se realizó eligiendo las tres masas con las intensidades más altas entre las específicas de cada compuesto, para discriminarlas selectivamente de sus vecinas más cercanas. Los resultados de los compuestos volátiles se calcularon sobre la base de las curvas de calibración para cada compuesto y se expresaron en microgramos por kilogramo de aceite.

Evaluación Sensorial

Las muestras fueron evaluadas por un panel de 9 integrantes capacitados según el COI (2018), complementado con una cata descriptiva que incluyó los siguientes descriptores: hierba / frondoso, notas de hoja de higuera, notas de tomate, notas de manzana, notas de banana, notas de almendra / nuez., dulces, astringentes y otros atributos positivos. La intensidad de los descriptores se evaluó con escalas no estructuradas de 10 cm.

Cada muestra (control, MS, MW y MS + MW) se sirvió (15 ml) en vasos de degustación estandarizados de color azul codificados al azar con una letra y dos números. Cada muestra se evaluó por duplicado. Las muestras se almacenaron durante 30 minutos en una estufa a 28 ± 2 ° C antes de ser presentadas a los jueces en forma monádica. Para minimizar la posibilidad de error sistemático, las cuatro muestras se presentaron de forma aleatoria.

Como limpiadores del paladar, los panelistas recibieron manzanas Granny Smith, agua potable a temperatura ambiente, yogur natural y galletas saladas sin sal magra. Los panelistas pudieron elegir los limpiadores que encontraron más adecuados para usar entre muestras.

Las evaluaciones se realizaron en una sala de degustación equipada con 5 cabinas individuales amuebladas con control de temperatura (22°C a 24°C) y ventilación según COI (2007).

Tratamiento Estadístico

Los promedios, desviaciones estándar y ANOVA (utilizando el HSD de Tukey, calculado con un intervalo de confianza del 95%) se realizaron utilizando la caja de herramientas de estadísticas de MATLAB (The MathWorks, Inc., Natick, MA, EE. UU.).

2.3. Resultados y discusión

La extractabilidad del aceite obtenida después del acondicionamiento de batido tradicional, el acondicionamiento de MW, el batido tradicional seguido de MS y el acondicionamiento de MW+MS combinado, fue de 84,6, 86,8, 84,7 y 87,0 % (g de aceite/100 g de aceite en pasta), respectivamente, como se muestra en Leone et al., (2017). Los datos de extractabilidad están respaldados por la disminución del valor del aceite en el orujo y la reducción de la viscosidad de la pasta después de MW, MS o MS+MS. Si bien un aumento adicional de aceite del 2,5% (aceite en base pasta) proporciona rendimientos adicionales a la planta, es importante evaluar si la calidad de los aceites obtenidos después de cada condición no se vio comprometida.

2.3.1. Impacto del novedoso acondicionamiento de pasta de aceituna en los parámetros comerciales del aceite virgen extra

Los valores de los parámetros legales de calidad acidez libre, índice de peróxido y K232 y K270, encontrados en aceites obtenidos por el proceso de extracción tradicional o por acondicionamiento con tratamientos de un solo MW y MS, o sus combinaciones, se encontraron bajo la especificación obligatoria del COI para aceite de oliva virgen extra (Tabla 2.1). Los valores de peróxido obtenidos en las muestras de MW, MS, MW + MS estaban significativamente por debajo de los valores especificados por el control. En cuanto a los resultados de peróxidos, se podrían explicar por el significativo aumento de compuestos fenólicos que se discutirán en el capítulo 3 acompañado de un estudio de estabilidad durante un año.

Tabla 2.1. Parámetros estándar del aceite de oliva virgen especificados por la EEC (2013)^{EEC}.

Tratamientos	Acidez (%)	Peróxidos (meq O ₂ kg ⁻¹)	K232	K270
Control	0.20 ± 0.01a	6.37 ± 0.14a	1.721 ± 0.005b	0.133 ± 0.006a
MS	0.20 ± 0.02 a,b	4.50 ± 0.12b	1.690 ± 0.003a	0.134 ± 0.004a
MW	0.23 ± 0.01b	4.25 ± 0.10b	1.877 ± 0.003d	0.158 ± 0.001b
MW + MS	0.20 ± 0.00 a,b	4.41 ± 0.05b	1.829 ± 0.002c	0.169 ± 0.001c

Especificaciones calidad virgen extra (COI)	≤ 0.8	≤ 20	≤ 2.50	≤ 0.22
---	------------	-----------	-------------	-------------

Letras diferentes en la misma columna denotan diferencias estadísticas significativas a $p < 0,05$ (prueba de Tuckey). El control se refiere al proceso tradicional del aceite de oliva con 30 min de batido; MS se refiere al proceso tradicional del aceite de oliva con una intervención por megasonido; MW se refiere al acondicionamiento de aceitunas trituradas con microondas en lugar de batido; MW+ MS se refiere al proceso de acondicionamiento de microondas seguido de una intervención de MS.

2.3.2. Efecto de la combinación de los tratamientos microondas-megasonido sobre los compuestos fenólicos

El tratamiento MS muestra un efecto positivo en la realización de los compuestos fenólicos de la pasta de oliva al aceite durante el procesamiento, el impacto principal se encontró para los derivados secoiridoides como 3,4DHPEA-EDA, 3,4DHPEA-EA y p-HPEA. -EDA mientras que se encontraron pequeñas variaciones para las ligninas que incluyen pinoresinol (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Composición de fenoles (mg kg^{-1}) en los aceites de oliva

	C	MW + MS	MW	MS
3,4-DHPEA ^w	$3.8 \pm 0.9a$	$3.4 \pm 0.4a$	$2.0 \pm 0.2b$	$2.5 \pm 0.3b$
p-HPEA	$5.7 \pm 0.8a$	$4.6 \pm 0.2b$	$3.9 \pm 0.2b$	$4.6 \pm 0.4b$
Vanilic acid	$0.8 \pm 0.1a$	$0.7 \pm 0.1a$	$0.5 \pm 0.1b$	$0.7 \pm 0.1ab$
3,4-DHPEA-EDA	$702.2 \pm 103.5a$	$849.8 \pm 13.9a$	$636.6 \pm 89.4a$	$823.5 \pm 71.7a$
p-HPEA-EDA	$134.6 \pm 17.9b$	$171.1 \pm 3.9a$	$180.7 \pm 12.0a$	$166.9 \pm 7.0a$
(b)-1-acetoxypinoresinol	$47.0 \pm 4.9a$	$50.2 \pm 1.9a$	$47.2 \pm 4.0a$	$47.1 \pm 0.8a$
(b)-pinoresinol	$21.4 \pm 1.1c$	$27.5 \pm 2.0b$	$31.9 \pm 2.1a$	$24.8 \pm 0.8bc$
3,4-DHPEA-EA	$281.2 \pm 22.2b$	$359.2 \pm 13.0a$	$319.8 \pm 33.0ab$	$356.6 \pm 33.3a$
Ligstroside aglycone	$25.5 \pm 7.3a$	$28.3 \pm 3.4a$	$22.8 \pm 0.7a$	$27.8 \pm 6.1a$
Fenoles totales	$1222.2 \pm 110.0b$	$1494.8 \pm 23.7a$	$1245.4 \pm 101.7b$	$1454.5 \pm 86.3ab$

*Los datos son el promedio de cuatro experimentos independientes analizados, +- desviación estándar. Letras diferentes seguidas denotan diferencias estadísticas significativas a $p < 0.05$ (prueba de Tuckey). El control se refiere al proceso tradicional del aceite de oliva con 30 min de batido; MS se refiere al proceso tradicional del aceite de oliva con una intervención megasónica; MW se refiere al acondicionamiento de aceitunas trituradas con microondas en lugar de batido;

MW+ MS se refiere al proceso de acondicionamiento de microondas seguido de una intervención de MS.

Estos resultados confirmaron, como se informó en trabajos anteriores (Clodoveo et al. 2016), sobre los efectos sobre la cavitación producidos por los tratamientos de ultrasonido, que promueven la liberación de compuestos fenólicos hidrófilos de la pared celular con la correspondiente transferencia de compuestos fenólicos en el aceite. durante el batido de las pastas de aceitunas. En este caso, el mecanismo de los ultrasonidos de alta frecuencia no se basa en la cavitación disruptiva inestable obtenida en el procesamiento de ultrasonidos tradicional a 20 kHz. El ultrasonido de alta frecuencia crea burbujas no disruptivas estables y más pequeñas distribuidas a través del material vegetal que se abren y cierran como resultado de ondas de presión sonora intermitentes, entregando efectos de microcorriente localizados que mejoran la transferencia de masa de compuestos fenólicos de las células vegetales al aceite (Juliano et al., 2017b). Considerando los fenoles totales no existen diferencias significativas entre MW y control a pesar del corto tiempo de tratamiento con microondas en comparación con la malaxación tradicional y entre MS y control. Finalmente, hay un aumento significativo en los fenoles totales cuando se usa la combinación MW + MS en comparación con los otros tratamientos.

2.3.3. Impacto del tratamiento combinado de microondas-megasonido sobre los compuestos volátiles

Los compuestos volátiles asociados al sabor VOO, reportados en la Tabla 2.3, no mostraron diferencias significativas que puedan estar asociadas a los tratamientos MS y MW realizados en la pasta de aceituna. Estos resultados demuestran que los tratamientos MS y/o MW en pastas de aceituna no inhiben la actividad de la lipoxigenasa (LOX), que es la principal vía responsable de la generación de aroma en el procesamiento del VOO. De hecho, los compuestos volátiles producidos por la vía de la LOX, como los aldehídos y alcoholes C5 y C6, responsables de las notas sensoriales de "hierba cortada" y "verde", respectivamente, no muestran diferencias significativas. Los ésteres como el acetato de hexilo y el acetato de (Z)-3-hexenilo muestran modificaciones significativas asociadas al tratamiento con MS y MW, pero su concentración es

demasiado baja para tener un impacto en el perfil sensorial del AOV. Estos resultados no tienen precedentes y no se han documentado previamente.

Tabla 2.3. Compuestos volátiles (ug kg⁻¹) de los aceites obtenidos

	C	MW ± MS	MW	MS
Aldehidos				
Pentanal	79 ± 37a	80 ± 64a	67 ± 10a	66 ± 16a
(E)-2-pentenal	129 ± 14b	114 ± 7ab	94 ± 10a	116 ± 12ab
Hexanal	842 ± 63a	850 ± 71a	926 ± 120a	754 v 131a
(E)-2-hexenal	41 ± 606 1781ab	44 466 ± 3235ab	46 913 ± 2634a	38 954 v 4552b
2,4-hexadienal, (E,E)	227 ± 18b	291 ± 35b	376 ± 31a	240 ± 23b
2,4-hexadienal, (i)	386 ± 27c	484 ± 46b	614 ± 41a	398 ± 54bc
Sum of C5 and C6 aldehydes	43 269 ± 1783ab	46 285 ± 3237ab	48 990 ± 2637a	40 528 ± 4554b
Alcohols				
1-pentanol	31 ± 11a	22 ± 4a	25 ± 12a	15 ± 4a
1-penten-3-ol	452 ± 38b	536 ± 32a	530 ± 20ab	418 ± 48b
(Z)-2-penten-1-ol	641 ± 42b	758 ± 63ab	872 ± 36a	606 ± 64b
(E)-2-penten-1-ol	54 ± 3a	52 ± 2ab	49 ± 3ab	46 ± 5a
1-hexanol	1044 ± 239a	502 ± 41a	1253 ± 828a	653 ± 159a
(E)-2-hexen-1-ol	1505 ± 792a	446 ± 63a	2325 ± 3535a	495 ± 83a
(Z)-3-Hexen-1-ol	695 ± 140a	332 ± 27b	646 ± 167a	439 ± 90ab
Benzyl alcohol	178 ± 22a	162 ± 31a	93 ± 10b	143 ± 14a
Phenylethyl Alcohol	465 ± 48a	549 ± 63a	500 ± 38a	438 ± 53a
Suma Alcoholes de C5 y C6				
Esters	4421 ± 841a	2647 ± 107a	5700 ± 3635a	2670 ± 216a
Hexyl acetate	20 ± 5b	13 ± 2b	67 ± 20a	16 ± 4b
(Z)-3-hexenyl acetate	88 ± 40b	27 ± 9b	199 ± 37a	37 ± 11b
Sum of C5 esters				
Ketones	108 ± 40b	40 ± 9b	266 ± 42a	52 ± 12b
3-pentanone	134 ± 43a	87 ± 8a	193 ± 217a	70 ± 10a
1-penten-3-one	329 ± 60a	405 ± 32a	453 ± 118a	351 ± 34a
6-methyl-5-hepten- 2-one	6 ± 1a	6 ± 0a	4 ± 1b	5 ± 1ab
Suma de Cetonas C5	468 ± 74b	498 ± 33b	649 ± 247a	425 ± 36b

Los datos son la media de cuatro experimentos independientes analizados dos veces, +- desviación estándar. Letras diferentes seguidas denotan diferencias estadísticas significativas ap p< 0.05 (prueba de Tuckey). El control se refiere al proceso tradicional del aceite de oliva con 30 min de batido; MS se refiere al proceso tradicional del aceite de oliva con una intervención por megasonido; MW se refiere al acondicionamiento de aceitunas trituradas con microondas en

lugar de batido; MW+ MS se refiere al proceso de acondicionamiento de microondas seguido de una intervención de MS.

2.3.4. Impacto del tratamiento combinado de microondas-mega sonido en el análisis sensorial

Las intensidades medias de los descriptores asociados a los aceites estudiados y los resultados del análisis de varianza se muestran en la Tabla 4. Dado que el panel no encontró notas de los descriptores higo, hoja, manzana y dulce en los aceites evaluados, sus valores no se reportan.

Tabla 2.4. Descriptores sensoriales de los aceites evaluados por el panel de cata de aceite de oliva

Muestra	Descriptor Sensorial							
	Frutado	Amargo	Picante	Verde	Tomate	Banana	Fruto Seco	Astringencia
Control	5.80 a	5.27 a	5.60 a	5.29 a	2.86 a	3.96 a	3.21 a	2.5 a
MS	5.61 a	5.50 a	5.60 a	5.00 a	3.77 a	4.03 a	2.86 a	2.21 a
MW	5.23 a	5.06 a	5.16 a	4.97 a	3.36 a	3.71 a	2.69 a	2.50 a
M.W ± M.S	5.71 a	5.13 a	5.61 a	5.14 a	3.00 a	3.96 a	3.14 a	2.43 a
p-valor	0.4550	0.8286	0.5035	0.9129	0.7134	0.9712	0.8853	0.9219

Los valores en una columna con letras diferentes son significativamente diferentes según la prueba de Tuckey ($p < 0,05$). El control se refiere al proceso tradicional del aceite de oliva con 30 min de batido; MS se refiere al proceso tradicional del aceite de oliva con una intervención megasónica; MW se refiere al acondicionamiento de aceitunas trituradas con microondas en lugar de batido; MW+ MS se refiere al proceso de acondicionamiento de microondas seguido de una intervención de MS.

Ninguno de los aceites presentó defectos sensoriales por lo que las cuatro muestras pertenecen a la categoría virgen extra. Los aceites evaluados se caracterizaron por el panel descriptivo como equilibrados, con un frutado verde y notas maduras en intensidad media a alta, intensidad media a alta para picante y amargo, complejidad en aromas y sabores y una ligera astringencia. Según los resultados de ANOVA (Tabla 2.4), no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$) en ningún descriptor sensorial, lo que indica que las tecnologías estudiadas no afectaron el perfil sensorial.

2.4. Conclusiones

El presente trabajo examinó los efectos del acondicionamiento novedoso de la pasta de aceituna mediante microondas, megasonido y su combinación a escala industrial sobre la calidad del aceite de oliva virgen extra y los descriptores químicos y sensoriales relacionados. Los parámetros estándar del Consejo Oleícola Internacional, acidez libre, índice de peróxido, valores de K232 y K270 cumplieron con las especificaciones internacionales para la definición de aceite de oliva virgen extra para todas las nuevas intervenciones de acondicionamiento probadas, así como el control tradicional. Aunque el control y el proceso de MW proporcionaron una composición fenólica similar, una intervención posterior a la MS, después del acondicionamiento tradicional o de MW, aumentó significativamente el contenido fenólico total, lo que puede tener un impacto en el valor comercial del aceite. Las intervenciones de MW y MS no afectaron los perfiles de espacio de cabeza de manera diferente. El panel sensorial capacitado clasificó todo el aceite probado como de calidad sensorial de aceite de oliva virgen extra.

Durante las pruebas experimentales, los dos prototipos se ajustaron adecuadamente al proceso de extracción del aceite de oliva sin interrupción, demostrando ser fiables. Estos resultados corroboran que desde el punto de vista de la calidad y composición del aceite, es posible insertar una tecnología MW, como sistema de pretratamiento de la pasta de aceituna, y un sistema MS en una línea industrial, para garantizar la continuidad del proceso. Por lo tanto, se recomiendan nuevos desarrollos para una tecnología combinada de acondicionamiento continuo por microondas y megasonido, que proporcione un acondicionamiento más rápido del aceite de oliva, mejores rendimientos y aceites con un mayor contenido fenólico total. Otros estudios deberían validar la estabilidad química y sensorial de los aceites durante un almacenamiento prolongado.

2.5. Agradecimientos

Este estudio fue financiado en parte por la region de Puglia Region “Guidelines for Research and Experimentation in Agriculture 2012-2014”, el proyecto de investigación MICROLIO y el financiamiento de CSIRO OCE a través del premio

Julius Career Award.

Los autores agradecen a AGROLIO MILL s.r.l. y al propietario, Sr. Savino Agresti.

Vida útil de aceites de oliva virgen extra extraídos con combinación de microondas y megasonido a escala industrial

Este estudio profundiza sobre los mecanismos de acción del megasonido y los microondas aplicados a nivel industrial, como la combinación de ambos, y el efecto que estas tecnologías tienen sobre la calidad química y sensorial a lo largo de un año de almacenamiento. Los aceites obtenidos de las intervenciones (Control, MS, MW, MW+MS) fueron evaluados siguiendo la norma COI con un panel sensorial entrenado y a través de análisis de calidad acidez, índice de peróxidos, coeficientes de extinción en el ultravioleta K232 y K270, y esteres etílicos y ceras. La información se complementa con un estudio del contenido de polifenoles y tocoferoles para evaluar aspectos de componentes relacionados con salud. Los resultados de este estudio fueron publicados en:

- Amarillo, M., Gámbaro, A., Ellis, A.C., Irigaray, B., Lázaro, J., Tamborrino, A., Romaniello, R., Leone, A., Juliano, P. (2021) Shelf life of extra virgin olive oil manufactured with combined microwaves and megasonic waves at industrial scale. *LWT - Food Science and Technology*, 146,111345.

3.1. Introducción

El proceso de extracción de aceite de oliva requiere métodos físicos para que un aceite sea clasificado comercialmente como “virgen”, lo que implica que no haya intervenciones químicas durante la extracción, en acuerdo a lo establecido por el Consejo Oleícola Internacional (COI, 2019b). El proceso consiste de la molienda de las aceitunas, batido de la pasta y posterior centrifugación. El batido es considerado el paso más importante del proceso, tanto para el rendimiento de la extracción como la calidad del aceite obtenido (Difonzo et al., 2021). Sin embargo, el proceso de batido de la pasta de aceituna es un proceso que opera de manera discontinua en el cual el calentamiento no es uniforme dentro del batidor, lo que resulta en pasta de aceituna sobrecalentada, lo que muchas veces afecta la calidad y estabilidad de los aceites obtenidos.

Por ende, en los años recientes nuevas tecnologías aplicando ultrasonido de baja frecuencia (Clodoveo & Hachicha, 2013), microondas (Jiao et al., 2013) y campos eléctricos pulsados (Puértolas & Martínez, 2015) han demostrado ser capaces de mejorar el batido de la pasta y recuperación de aceite de oliva.

El mecanismo de calentamiento localizado por aplicación de microondas causa la ruptura de material celular a través de la formación de flujos de presión de vapor, facilitando la liberación de componentes como enzimas con actividad de romper tejidos, mientras que permite el acondicionamiento de la pasta (Jiao et al., 2013; Aguilera & Stanley, 1999). Se demostró que el calentamiento por microondas reduce la viscosidad de la pasta, lo que prepara a la pasta para una adecuada separación de aceite durante el centrifugado.

La aplicación ondas estacionarias de ultrasonido de alta frecuencia, megasonido (MS), como paso luego del batido de la pasta de aceitunas ha sido estudiado industrialmente como una intervención en el proceso con el fin de aumentar la recuperación de aceite de oliva (Juliano et al., 2016; Juliano et al., 2017).

Dados los beneficios por separado de los procesos de microondas y megasonido, se ha evaluado su aplicación combinada (MW + MS) hacia el desarrollo de un nuevo proceso continuo de aceite de oliva que proporciona un

mayor rendimiento y no requiere batido de la pasta (Leone et al., 2017). Trabajos previos establecen que el equipo de microondas de preacondicionamiento probado por Leone et al. (2018), en varios entornos no impartió efectos sensoriales negativos sobre la calidad del aceite de oliva virgen. Además, los aceites obtenidos por acondicionamiento con MW no cambiaron el perfil del espacio de cabeza, pero proporcionaron un mayor contenido de compuestos volátiles como aldehídos C6 responsables de las notas sensoriales "verdes" (Leone et al., 2018; Tamborrino et al., 2014).

La aplicación de megasonido en la pasta batida también ha demostrado producir un aceite de oliva con características de calidad de virgen que fueron química y sensorialmente aceptables (Leone et al., 2018). Sin embargo, se sabe poco sobre los efectos del acondicionamiento de la pasta de aceituna solo por MW, batido + MS o MW + MS sobre la estabilidad de la calidad química y sensorial del aceite de oliva obtenido durante el almacenamiento.

También se desconoce si solo MW, batido + MS o MW + MS preacondicionamiento pueden influir en los procesos fermentativos de las bacterias presentes naturalmente en la pasta, que pueden mejorar la formación de etanol y generar ésteres etílicos indeseables, respectivamente (Pérez-Camino et al., 2002; Bendini et al., 2009). Ningún estudio sigue el impacto de los ultrasonidos en la fermentación de aceitunas. Además, los estudios previos no rastrean la formación de ésteres o ceras después de un acondicionamiento con megasonido de la pasta de aceituna batida ni de un acondicionamiento MW + MS.

Por tanto, este trabajo tiene como objetivo evaluar el perfil químico y el perfil sensorial de los aceites de oliva de variedad Coratina, extraídos mediante diferentes procedimientos de acondicionamiento de pasta durante un período de almacenamiento de 12 meses. De particular interés es la evaluación de los compuestos fenólicos y de tocoferol en el aceite y la capacidad de los nuevos métodos de preacondicionamiento para mantener valores de polifenoles más altos que el proceso tradicional de malaxación durante el almacenamiento. Además, este estudio sigue la formación de ésteres etílicos durante el

almacenamiento para establecer la influencia de estas tecnologías de preacondicionamiento en los procesos de fermentación. Este es el primer estudio que considera la estabilidad sensorial y química del aceite de oliva como resultado de la implementación de nuevas intervenciones de procesamiento combinado en la etapa de preacondicionamiento a nivel industrial

3.2. Materiales y Métodos

3.2.1. Método de acondicionamiento de aceite de oliva

Se obtuvieron muestras de aceite de la variedad Coratina (*Olea europaea* L.) para cada tratamiento en la planta descrita en la Fig. 3.1, que muestra el equipo de proceso específico.



Figura 3.1. Instalación de planta de procesamiento industrial que incluye (1) batidora, (2) generador de MW y tubo, (3) equipo de megasonido, incluidos transductores. (4) decanter centrífugo, (5) tanque de equilibrio, como se describe en detalle en Leone et al. (2018).

El reactor de megasonido desarrollado por Juliano et al. (2017), fue el primer prototipo para ensayos a gran escala y está compuesto por un reactor de flujo pasante de acero inoxidable (200 L). Se colocaron cuatro transductores que operaban a 400 y 600 kHz (Sonosys Ultraschallsysteme GmbH, Alemania) a las paredes del reactor a lo largo de la vasija que consumían 2 kW (20 kJ / kg).

3.2.2. Muestreo de aceite de oliva para el estudio de estabilidad

Se tomaron muestras de aceite directamente del decanter después de cada prueba de tratamientos como se explica en el Capítulo 2. Cada triplicado de

aceite obtenido para cada método de preacondicionamiento se mezcló y fraccionó en cinco botellas de vidrio ámbar de 250 ml que aseguraban la protección durante el almacenamiento como se muestra en la Fig. 3.2, para ser evaluado en diferentes puntos de muestreo. Los frascos se llenaron totalmente, sin dejar espacio libre y permanecieron almacenados a temperatura ambiente en ausencia de luz.

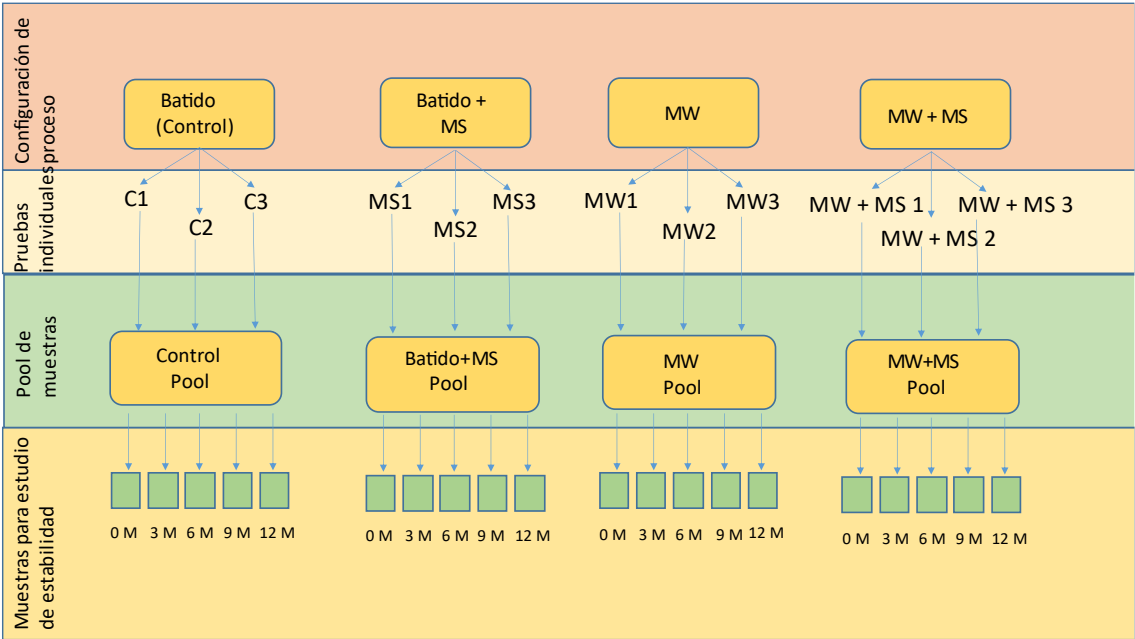


Figura 3.2. Metodología de muestreo para el almacenamiento de muestras de aceite de oliva.

3.2.3. Estudio de estabilidad de aceite de oliva

Los fabricantes comerciales de aceite de oliva tienen como objetivo una vida útil de al menos un año (Irigaray, Martinez, Feller, Amarillo, & Grompone, 2016). Se tomaron muestras cada tres meses durante un total de 12 meses para evaluar los parámetros químicos y el perfil sensorial siguiendo lo que indica el COI (COI, 2019b) los que se describen a continuación.

3.2.3.1. Evaluación Sensorial

Todos los atributos (positivos o defectos) se calificaron en una escala no estructurada de 10 cm (COI, 2018). La Tabla 3.1 brinda información sobre cada atributo sensorial y sus respectivos descriptores según lo informado por

Fernandez et al., (2018). Cada muestra se presentó en forma monádica en copas de degustación azules (15 mL), estandarizada y codificada con una letra y dos números aleatorios.

Tabla 3.1. Principales atributos sensoriales positivos y negativos del aceite de oliva virgen según norma COI, incluidas las causas de estos atributos, los compuestos químicos y los descriptores sensoriales relacionados.

Atributo sensorial		Causa	Composición química	Ejemplos de descriptor sensorial
Atributos positivos	Frutado	Compuestos volátiles formados durante los pasos de extracción, molienda y batido. Acción de la vía de la lipoxigenasa (LOX) sobre los ácidos grasos insaturados C18	Alcoholes, ésteres, cetonas, aldehídos e hidrocarburos. Principalmente compuestos C5-C6 de la ruta LOX	En la mayoría de los casos vinculados a los descriptores sensoriales Manzana, Astringente, Plátano, Higuera, Verde, Nueces, Dulce y Tomate. El frutado se pueden describir por notas verdes o maduras.
	Amargo	Compuestos fenolicos naturales presente en la solivas	Combinación de tirosol (p-HPEA) e hidroxitirosol (3,4-DHPEA) con la forma dialdehídica del ácido elenólico (EDA), lo que da como resultado p-HPEA-EDA y 3,4-DHPEA-EDA	Gusto básico en comparación con la cafeína o la quinina
	Picante	Compuestos fenolicos naturales presente en la solivas	p-HPEA-EDA y 3,4-DHPEA-EDA	Sensación táctil referida a una sensación picante que se puede percibir en toda la cavidad bucal, especialmente en la garganta.
Defectos	Atrojado/Borras	Fermentación anaeróbica durante el almacenamiento de la aceituna (antes de la extracción), cuando se apilan o durante el almacenamiento prolongado del aceite si la materia orgánica (pequeños fragmentos de frutos y agua) no se elimina completamente del aceite.	Alcoholes ramificados de cinco carbonos, 2-etil-butirato	Aceitunas fermentadas, aceitunas para pizza, costra de queso, pútrido.
	Moho/Humedad/suelo/Tierra	Desarrollo de hongos y levaduras cuando las aceitunas se almacenan en condiciones húmedas durante un período prolongado. Aceitunas recolectadas del suelo.	Alcoholes primarios y secundarios C8 y cetonas C8	Moho, humedad, tierra, suciedad
	Vinagre/avinagrado/acido/agrio	Fermentación producida en la parte superior de las aceitunas desgranadas o incluso en los residuos de pasta que quedan cuando la línea de producción no se limpia adecuadamente.	Etanol, acetato de etilo y ácido acético.	Vinagre, etanol, quitaesmalte, ácido acético.
	Rancio	Proceso de oxidación principalmente durante el almacenamiento de aceites.	Fragmentos de hidroperóxido.	Aceite rancio o manteca
	Aceituna helada/madera húmeda	Sabor característico de los aceites extraídos de aceitunas que han sido dañadas por las heladas o se han congeledo mientras estaban en el árbol.	Butanoato de etilo 2-metilo, propanoato de etilo, pentanal y octanal	Mermelada de membrillo, metálico en boca, gráfico de lápiz, madera de lápiz.

Durante los ensayos, las cuatro muestras de tratamiento se presentaron aleatoriamente a cada panelista junto con un formulario que incluye los defectos (calificados o cualitativos), atributos y descriptores positivos enumerados en la Tabla 3.2. El laboratorio sensorial se equipó con cinco cabinas individuales a temperatura controlada (22 ° C a 24 ° C) y ventilación (COI, 2007).

Tabla 3.2. Lista de defectos, atributos positivos y descriptores positivos (cuantitativos o cualitativos) empleados para describir las muestras de aceite según COI presentadas en la hoja de evaluación.

Defectos cuantitativos	Atrojado7Borras
	Moho/Humedad/Tierra
	Vinagre/Avinagarado/Acido/Agrio
	Aceituna Helada/Madera húmeda
	Rancio
Defectos cualitativos	Metálico
	Heno
	Gusano
	Salmuera
	Quemado
	Alpechín
	Esparto
	Pepino
	Lubricante
Atributos positivos	Basto
	Frutado
	Amargo
Descriptores positivos	Picante
	Verge
	Higuera
	Manzana
	Banana
	Fruto Seco
	Otros
	Dulce
	Astringente

3.2.3.2. **Determinación de la calidad química**

La calidad química de los aceites obtenidos incluyó análisis enumerados y requeridos por la norma COI (COI, 2019b). Los parámetros establecidos bajo la

norma COI estudiada están legalmente y científicamente validados como requisito para la evaluación de la calidad del AOVE para determinar si el aceite de oliva es o no virgen extra. Todos los análisis químicos se realizaron por triplicado. La literatura actual sobre la calidad y la vida útil del aceite de oliva se centra en los aspectos de sabor y aroma sin considerar la apariencia y el color del aceite de oliva (Di Serio, Giansante, Di Loreto, & Di Giacinto, 2018; Irigaray, Martinez, Feller, Amarillo, & Grompone, 2016; Andreou et al., 2016) y la norma del COI establece que los descriptores de sabor y aroma son los parámetros guías para la calidad de vida útil.

Acidez

La determinación de la acidez se realizó de acuerdo con COI (2017b). Las muestras pesadas se disolvieron en ácido acético-cloroformo (3: 2). Se agrega una solución saturada de yoduro de potasio y se deja en la oscuridad durante 1 minuto. Luego, después de agregar 30 mL de agua, la solución se titula con tiosulfato de sodio 0.1 N usando almidón como indicador.

Índice de peróxidos

El índice de peróxidos se determinó de acuerdo con COI (2017c). Las muestras pesadas se disolvieron en ácido acético-cloroformo (3:2). Se agrega una solución saturada de yoduro de potasio y se deja en la oscuridad durante 1 minuto. Luego, después de agregar 30 mL de agua, la solución se titula con tiosulfato de sodio 0.1 N usando almidón como indicador.

Coeficientes K232 y K270

De acuerdo con COI (2019^a), las muestras se pesaron y se disolvieron en isooctano. Luego, se determinó la absorbancia a longitudes de onda de 232 nm y 270 nm en un modelo Shimadzu, Mini-UV 1240.

Contenido de ésters etílicos y ceras

Este análisis se realizó de acuerdo con COI (2017d), “Determinación del contenido de ceras, ésteres metílicos de ácidos grasos y ésteres etílicos de ácidos grasos por cromatografía capilar de gases”. Las muestras se disolvieron en hexano, se añadió una solución de éster metílico heptadecanoico y una

solución de palmitato de palmitilo como patrones internos para la cuantificación de ésteres etílicos y ceras, respectivamente. Los ésteres etílicos se separaron junto con ceras mediante cromatografía en fase sólida (SPE) usando hexano-éter dietílico (99: 1) como disolvente de elución. Los extractos se analizaron en un cromatógrafo de gases (Modelo 2010, Shimadzu, Japón) usando una columna GC (RXI-5MS, Restek, EE. UU.).

Contenido de polifenoles

La extracción se realizó de acuerdo con COI (2017a), “Determinación de biofenoles de aceite de oliva mediante HPLC”. Las muestras se disolvieron en una mezcla de MeOH-agua (80:20) con la adición de ácido siríngico como patrón interno, se sonicaron en un baño de ultrasonidos durante 10 minutos y se centrifugaron durante 25 minutos a 5000 rpm. Luego, se tomó una alícuota del sobrenadante con jeringa de vidrio, se filtró con un filtro de jeringa de PVDF de 0.45 µm y se inyectaron 20 µL en el HPLC (Modelo 20A, Shimadzu, Japón) usando una columna de fase inversa (Phenomenex C18, EE. UU.) Con un tamaño de partícula de 5 µm, 250 mm de largo y 4,6 mm de diámetro. La fase móvil estaba compuesta por ácido fosfórico al 0,2% de agua (disolvente A), metanol (disolvente B) y acetonitrilo (disolvente C). El gradiente se modificó de la siguiente manera: fase móvil inicial 96% A / 2% B / 2% C, 50% A / 25% B / 25% C a los 40 minutos, 40% A / 30% B / 30% c a 45 minutos, 0% A / 50% B / 50% C a los 50 minutos restante en esta concentración durante 10 minutos. Luego volvió a la fase móvil inicial y se dejó eluir durante 10 minutos. El tiempo total de ejecución fue de 82 minutos. El caudal fue de 1 mL/min durante todo el análisis. La detección de polifenoles se realizó utilizando el detector de matriz de diodos (DAD) ajustado a 280 nm. La prueba determina la presencia y concentración de 20 compuestos fenólicos. El valor total de polifenoles incluye la suma de todos los compuestos polifenólicos detectados. Los compuestos fenólicos individuales y totales se expresan como ppm en tirosol. Para ello, se utilizó una solución de calibración externa de tirosol y ácido siríngico.

Contenido de tocoferoles

El contenido de tocoferoles se determinó de acuerdo con el análisis HPLC de Andrikopoulos et al., (1991) de antioxidantes fenólicos, tocoferoles y triglicéridos.

Los aceites se pesaron y disolvieron en isopropanol y los tocoferoles se determinaron por HPLC (Modelo 20A, Shimadzu, Japón) equipada con columna (Phenomenex C18, EE. UU.) Con un tamaño de partícula de 5 μ m, 250 mm de largo y 4,6 mm de diámetro. La fase móvil estaba compuesta por ácido acético al 5% en agua (disolvente A), acetonitrilo (disolvente B), metanol (disolvente B) e isopropanol (disolvente D). El gradiente se modificó de la siguiente manera: fase móvil inicial 69% A / 18% B / 13% C / 0% D, a los 25 minutos 0% A / 58% B / 42% C / 0% D y se mantuvo a 30 minutos, a los 45 minutos 0% A / 23% B, 17% C, 60% D, en el minuto 46 0% A / 0% B / 100% D y se mantuvo a 48 minutos, en el minuto 48,5 69% A / 18% B / 13% A, el tiempo de ejecución total es de 57 minutos. El flujo de disolvente fue de 1 ml / min. La detección de tocoferoles se realizó mediante un detector de fluorescencia (Shimadzu RF-20A XS) a las siguientes longitudes de onda: excitación de 290 nm y emisión de 330 nm. Para la cuantificación de tocoferoles se utilizó una curva de calibración con alfa tocoferol como patrón externo suministrado por Sigma-Aldrich (EE. UU.). Por simplicidad, el método proporcionó tocoferoles individuales y solo los tocoferoles totales fueron informados.

Análisis de datos

Se utilizó el software MATLAB (The MathWorks, Inc., Natick, MA, EE. UU.) para el cálculo de promedios y para realizar Análisis de Varianza (ANOVA) utilizando el HSD de Tukey, calculado con un intervalo de confianza del 95%. Dado que las muestras de aceite se combinaron para cada tratamiento de acondicionamiento después de completar ensayos por triplicado, se evaluaron diferencias significativas en términos de variabilidad del método de prueba. Para los atributos sensoriales, se llevó a cabo una prueba ANOVA utilizando datos de cada atributo de intensidad de cada juez para comparar los valores medios de las cuatro muestras en el tiempo 0, así como puntos de tiempo individuales durante el almacenamiento. También se llevó a cabo un ANOVA de dos vías para determinar los efectos sobre los cambios de polifenoles.

3.3. Resultados y Discusión

3.3.1. Efectos los condicionamientos de la pasta en la extractabilidad de aceite de oliva

Como se informa en el capítulo 2, acompañado por lo publicado en Leone et al., (2014), la introducción de nuevas máquinas en una planta de producción implica nuevas inversiones económicas y nuevos costes de gestión, pero en el caso del uso industrial de las dos tecnologías combinadas estudiadas en este artículo científico esto conduce a un aumento en la extractabilidad del aceite (Leone, Romaniello, Tamborrino, Xu, & Juliano, 2017). Se requiere una mayor validación de la viabilidad económica con nuevos diseños de prototipos que operen a escalas más grandes para una planta de aceite de oliva de tamaño mediano más allá de 1 tonelada por hora en estudios futuros.

3.3.2. Caracterización de los aceites de oliva virgenes de las muestras con y sin tratamientos a tiempo cero

En el Capítulo 2 y tal como se publicó en Leone et al. (2018), se informó sobre las características sensoriales de cuatro aceites de oliva obtenidos después de aplicar los cuatro métodos de acondicionamiento de la pasta, es decir, control, batido+ MS, sin batido+ MW y MW + MS al inicio del estudio de estabilidad. Las secciones siguientes presentan una caracterización más detallada de las muestras de aceite desde una perspectiva tanto sensorial como química.

3.3.2.1. Perfil Sensorial

Como se observa en la Tabla 3.3, al inicio del estudio, ninguno de los aceites presentó defectos sensoriales y, por lo tanto, los cuatro métodos de acondicionamiento produjeron aceites que pertenecían a la categoría virgen extra (COI, 2019b). Nuestro trabajo anterior informó los compuestos volátiles medidos por GC / MS, entre los cuales no se informaron compuestos volátiles asociados con defectos (Leone et al., 2018).

Tabla 3.3. Evolución de los perfiles sensoriales de las muestras de aceite derivadas de las tecnologías de preacondicionamiento probadas durante el estudio de 12 meses. Letras diferentes y valores en negrita para cada fila indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p < 0,05$) entre muestras de aceite en un mes determinado.

Tecnología	Defectos					Atributos Positivos			Descriptorios Positivos							
	Atrojado/Borras	Moho/Humedad/Suelo/Tierra	Vinagre/Avinagrado/Ácido/Agrio	Aceituna Helada/Madera Húmeda	Rancio	Frutado	Amargo	Picante	Manzana	Astringente	Banana	Higuera	Verde	Fruto Seco	Dulce	Tomate
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.8 a	5.2 a	5.7 a	0.8 a	2.6 a	4.0 a	0.6 a	5.3 a	3.4 a	1.3 a	3.0 a
Batido+MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.7 a	5.6 a	5.7 a	0.6 a	1.9 a	4.1 a	0.4 a	5.1 a	3.0 a	1.6 a	3.7 a
MW	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.4 a	5.2 a	5.2 a	1.2 a	2.6 a	3.8 a	0.1 a	5.2 a	2.7 a	0.9 a	3.3 a
MW+MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.8 a	5.3 a	5.7 a	0.0 a	2.4 a	4.0 a	0.4 a	5.3 a	3.1 a	1.6 a	3.1 a
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.2 a	4.7 a	5.1 a	0.0 a	1.8 a	3.8 a	0.3 a	4.5 a	3.2 a	1.4 a	2.8 a
Batido+MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.1 a	5.2 a	4.9 a	0.3 a	1.8 a	3.0 a	0.6 a	4.5 a	1.6 a	1.2 a	2.6 a
MW	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0 a	4.8 a	4.3 a	0.3 a	2.8 a	3.1 a	0.4 a	4.7 a	2.8 a	1.4 a	3.1 a
MW+MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.3 a	5.4 a	5.1 a	0.3 a	2.7 a	2.9 a	0.0 a	4.9 a	2.4 a	0.9 a	2.7 a
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.8 a	4.5 a	5.5 a	0.0 a	1.7 a	2.9 a	1.0 a	4.1 a	3.1 a	0.8 a	2.6 a
Batido+MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.8 a	4.5 a	5.5 a	0.0 a	1.7 a	2.9 a	1.0 a	4.1 a	3.1 a	0.8 a	2.6 a
MW	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.9 a	4.5 a	4.5 a	0.0 a	2.0 a	3.0 a	0.6 a	4.4 a	3.2 a	0.6 a	2.7 a
MW+MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.2 a	5.0 a	5.1 a	0.3 a	2.1 a	3.3 a	0.0 a	4.6 a	3.1 a	0.6 a	3.6 a
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.8 a	4.8 a	5.4 a	0.0 a	1.7 a	2.9 a	1.0 a	4.1 a	3.0 a	0.8 a	2.5 a
Batido+MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.9 a	4.7 a	5.5 a	0.0 a	1.7 a	3.1 a	1.0 a	4.3 a	2.8 a	0.6 a	3.1 a
MW	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.8 a	4.7 a	4.7 a	0.0 a	2.0 a	3.1 a	0.6 a	4.5 a	3.1 a	0.6 a	2.6 a
MW+MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.5 a	5.1 a	5.1 a	0.3 a	2.1 a	3.3 a	0.0 a	4.6 a	3.1 a	0.6 a	3.6 a
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.8 a	4.8 a	4.4 a	0.0 a	1.2 a	2.1 a	0.8 a	3.2 a	2.3 a	0.8 a	2.1 a
Batido+MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.9 a	3.7 a	4.2 a	0.0 a	1.7 a	2.8 a	1.0 a	3.4 a	2.3 a	0.6 a	2.7 a
MW	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.3 a,b	4.4 a	4.4 a	0.0 a	1.8 a	2.8 a	0.6 a	4.1 a	2.7 a	0.6 a	2.3 a
MW+MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.7 b	4.4 a	4.3 a	0.3 a	1.8 a	2.9 a	0.0 a	3.8 a	2.9 a	1.3 a	3.0 a

*Control – traditional malaxation; Malaxation + MS – traditional malaxation followed by a megasonic treatment; MW-only – microwave preconditioning without malaxation; MW+MS – microwave preconditioning followed by megasonic treatment.

Los aceites evaluados se caracterizaron como equilibrados debido a que la diferencia entre los atributos sensoriales evaluados frutado, amargo y picante, fue inferior a 2 puntos en la escala sensorial, como sugiere la norma COI (COI, 2018). Todos los aceites presentaron un sabor frutado verde con notas maduras de intensidad media a alta, mientras mostraban consistentemente sabores amargos y picantes de intensidad media a alta. Nuestro trabajo anterior indicó que los alcoholes y aldehídos C5 y C6, vinculados a la vía LOX desarrollada en la pasta que proporciona sabores frutales verdes en el aceite, no variaron significativamente debido a las tecnologías de acondicionamiento probadas (Leone et al., 2018). Además, todos los aceites presentaron gran complejidad ya que fueron descriptos con más de cuatro descriptores positivos (Tabla 3.3). No se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en ningún descriptor sensorial en este tiempo de muestreo particular, indicando que las tecnologías estudiadas no afectan el perfil sensorial de los aceites obtenidos.

3.3.2.2. Calidad Química

Los resultados analíticos para el índice de peróxido (Fig. 3a), K232 y K270 (Fig. 3b y 3c), ésteres etílicos (Fig. 3.4a), ceras (Fig. 3.4b) y acidez (Fig. 3.4c) en el tiempo cero muestran que el cuatro aceites obtenidos por los métodos de acondicionamiento probados pertenecen a la categoría virgen extra. Todas las cifras mencionadas muestran que sus respectivos valores de tiempo cero están por debajo del límite establecido por la norma COI (COI, 2019b).

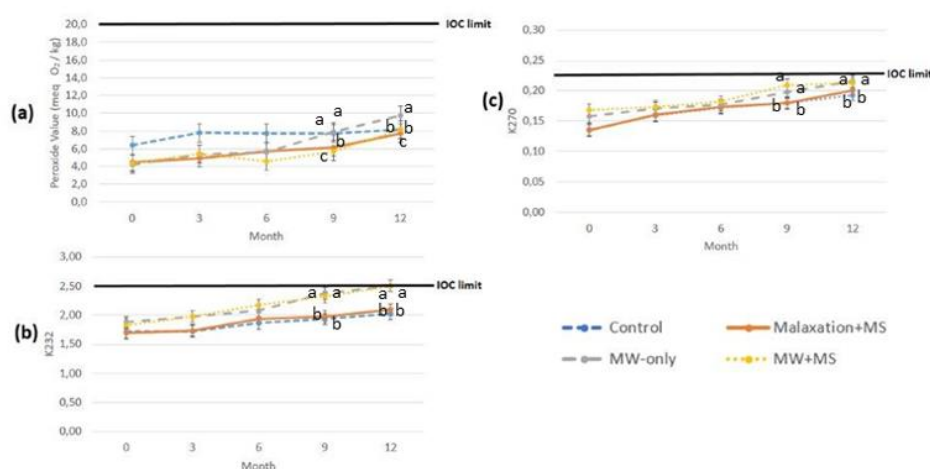


Figura 3.3. Evolución del índice de peróxido, K232 y K270 en los aceites probados durante el estudio de almacenamiento de 12 meses. Las barras de error representan la desviación estándar respectiva para mediciones por triplicado en cada punto de tiempo. Las etiquetas indican, Control – batido tradicional; Batido + MS – batido tradicional seguida de un tratamiento por megasonido; MW: preacondicionamiento de microondas sin batido; MW+MS: preacondicionamiento por microondas seguido de tratamiento por megasonido. Letras diferentes reflejan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tecnologías en momentos específicos en los que se detectaron tales diferencias.

A pesar de que el panel calificó un defecto rancio cero en todos los aceites (Tabla 3.3), vale la pena señalar que el aceite de Control (solo batido) tenía un índice de peróxido significativamente mayor (Fig.3a), en comparación con los aceites obtenidos después de MW y MS tratamientos, aunque no se refleja en los coeficientes de extinción UV K232 y K270 (Fig. 3.3b y 3.3c). Esto podría estar relacionado con el aumento de polifenoles totales detectado en todos los aceites obtenidos con malaxación + MS, solo MW y MW + MS, que tienen propiedades antioxidantes. Sin embargo, los tratamientos de MW y MS acondicionadores de pasta probados no alteraron los valores de tocoferol para ningún aceite.

Este trabajo reporta los polifenoles individuales, tirosol, hidroxitirosol, ácido vainílico, oleuropeína y luteína medidos con los métodos sugeridos por el COI, que difieren de los métodos utilizados por Leone et al., (2018). Ambos métodos indican que todos los polifenoles individuales también mostraron un mayor contenido en los aceites obtenidos después del acondicionamiento de MW y MS, con respecto al control. Los efectos de ruptura del MW y las burbujas localizadas creadas a nivel de tejido por la MS, mejoraron la liberación de oleuropeína, que es un compuesto precursor de los polifenoles tirosol e hidroxitirosol mencionados anteriormente. A pesar de que estos compuestos se mejoran, el panel sensorial no detectó variaciones en las notas amargas y picantes en los aceites obtenidos del acondicionamiento de MW y MS.

Los ésteres etílicos en aceites obtenidos mediante dichas tecnologías se informan por primera vez en este trabajo y se encuentran por debajo de los límites estándar (COI, 2019b). Esto muestra que no se han producido procesos fermentativos durante el acondicionamiento de la pasta con MW o asistido por

MS. La formación de ésteres etílicos está relacionada con la esterificación del etanol libre (posiblemente formado por una fermentación en aceitunas antes o durante la extracción del aceite) dando como resultado productos de acidez (ácidos grasos libres). La ausencia de procesos fermentativos está respaldada por los valores de contenido cero de ceras para todos los aceites, lo que también es indicativo de la ausencia de reacciones entre alcoholes derivados de procesos fermentativos con ésteres (Pérez-Camino et al., 2002). Las ceras se forman por esterificación de alcoholes de alto peso molecular con ácidos grasos (Irigaray, Martinez, Feller, Amarillo, & Grompone, 2016). De acuerdo con Samaniego-Sanchez., (2010), C40, C42, C44 and C46 son las ceras más frecuentemente encontradas en aceites de oliva.

Por lo tanto, los procesos fermentativos aeróbicos que ocurren durante el acondicionamiento de la pasta, que conducen a tonos avinado, avinagrados y agrio no ocurrieron (Tabla 3.3) (Pérez-Camino et al., 2002; Samaniego-Sanchez et al., 2010; Gómez-Coca et al., 2012). Otros procesos de fermentación anaeróbica que pueden iniciarse en la aceituna, no se manifestaron en notas de borras (Cayuela et al., 2015).

El presente estudio ha evaluado compuestos químicos que validan los parámetros sensoriales estudiados según la norma COI (COI, 2019b) que no incluyen la evaluación de compuestos de color como carotenoides o clorofila. Como se mencionó anteriormente, los descriptores sensoriales no incluyen la apariencia y el color, ya que la norma requiere paneles capacitados para evaluar los aceites en una copa de degustación de color para evaluar solo el aroma y el sabor. Además, se ha informado poco o nada en la literatura sobre la correlación entre los compuestos de color y los descriptores sensoriales. Aunque la literatura actual que describe el uso del procesamiento por microondas de la pasta de aceituna como ayuda para el batido no estudió la concentración residual de clorofila y carotenoides en el aceite de oliva, es un área que vale la pena considerar para estudios futuros. También hay evidencia de que la naturaleza del tratamiento suave dado por ondas de megasonido de alta frecuencia y alta energía específica no imparte un efecto de lixiviación adicional de clorofila al

aceite de oliva (Juliano et al., 2017) o compuestos carotenoides en el aceite de palma (Juliano et al., 2013).

3.3.3. Estudio de estabilidad de las muestras con y sin tratamiento almacenado durante 12 meses

Los parámetros de estabilidad química y sensorial de los aceites de oliva obtenidos después de aplicar los cuatro métodos de acondicionamiento de la pasta se describirán en las secciones siguientes en muestras de aceite medidas cada tres meses hasta 12 meses.

3.3.3.1. Estabilidad Sensorial

La Tabla 3.4 muestra que no se encontraron defectos en cualquiera de los aceites a lo largo del estudio de 12 meses. Por lo tanto, todas las muestras de aceite evaluadas por el panel sensorial pertenecían a la categoría virgen extra (COI, 2019b). En este caso, el panel no atribuye ningún defecto relacionado con los procesos fermentativos o los efectos oxidativos de rancidez a los aceites probados durante el período de almacenamiento de 12 meses con valores de descriptor que permanecen en cero.

La evolución de los atributos positivos frutado, amargo y picante de las 4 muestras se muestra en la Tabla 3.3. Aunque hay una disminución significativa de la intensidad de estos atributos de cero a 12 meses, se encontró una diferencia significativa ($p < 0.05$) en 12 meses teniendo MW + MS la mayor intensidad de frutado en comparación con el aceite Control y Malaxation + MS. Estudios previos demuestran la disminución de estos atributos con el tiempo (Di Serio et al., & Di Giacinto, 2018).

Del mismo modo, algunos descriptores positivos, incluidos manzana, higuera y nueces, no cambiaron significativamente en todos los aceites probados durante las pruebas de almacenamiento, principalmente debido a que el panel calificó estas notas en el extremo inferior de la puntuación, lo que dificulta la detección de los cambios. La disminución de las notas de plátano y verde respalda aún más la disminución general del frutado.

3.3.3.2. Resultados de la estabilidad química

Resultados analíticos para índice de peróxido (Fig. 3.3a), K232 y K270 (Fig. 3.3b y 3c), ésteres etílicos (Fig. 3.4a), ceras (Fig. 3.4b) y acidez (Fig. 3.4c) en los meses 3, 6, 9, y 12, también apoyan que los cuatro aceites obtenidos por los métodos de acondicionamiento probados pertenecían a la categoría virgen extra. Todas las cifras mencionadas muestran que sus respectivos valores están por debajo del límite establecido por la norma COI a lo largo del estudio de un año (Di Serio, Giansante, Di Loreto, & Di Giacinto, 2018).

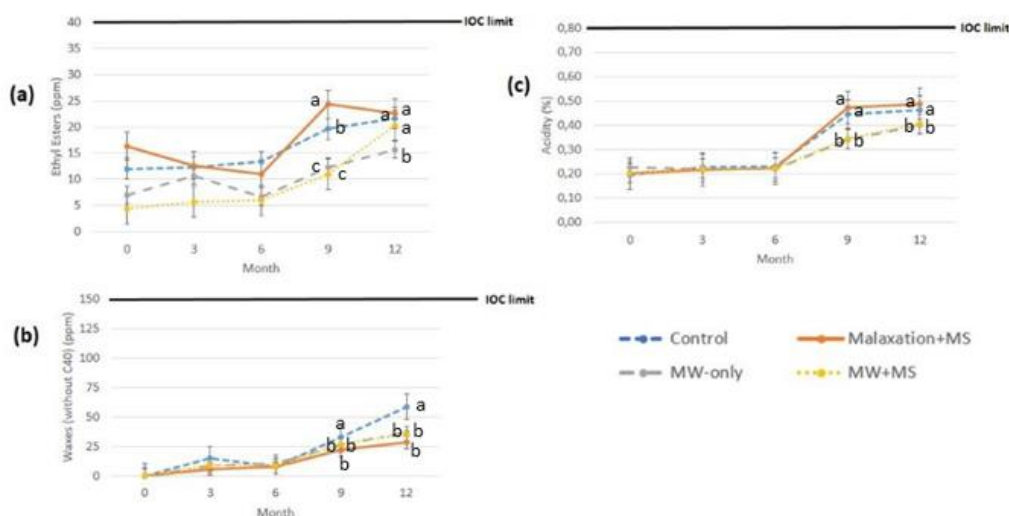


Figura 3.4. Evolución de ésteres etílicos, ceras y acidez en los aceites analizados durante el estudio de almacenamiento de 12 meses. Las barras de error representan la desviación estándar respectiva para mediciones por triplicado en cada punto de tiempo. Las etiquetas indican, Control – batido tradicional; Batido + MS – batido tradicional seguida de un tratamiento por megasonido; MW: preacondicionamiento de microondas sin batido; MW+MS: preacondicionamiento por microondas seguido de tratamiento por megasonido. Letras diferentes reflejan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tecnologías en momentos específicos en los que se detectaron tales diferencias.

El comportamiento oxidativo de todos los aceites durante el almacenamiento se muestra en la Fig. 3.4 a través del índice de peróxido y los coeficientes UV K232 y K270, que aumentaron significativamente durante el almacenamiento para todas las muestras ($p < 0.05$). Paralelamente, tanto los polifenoles como los tocoferoles antioxidantes naturales, disminuyeron significativamente durante el almacenamiento (Tabla 3.5 y Fig. 3.5). Al comienzo del estudio, el contenido de polifenoles fue significativamente inferior para la muestra control respecto a los

tratamientos de acondicionamiento de pasta de aceituna. Dicho comportamiento podría explicar el mayor y significativo contenido de peróxidos al inicio del estudio de vida útil.

Tabla 3.4. Evolución de polifenoles individuales en muestras de aceite derivadas de las tecnologías de preacondicionamiento probadas durante el estudio de 12 meses. Letras minúsculas diferentes para cada fila indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p < 0,01$) entre muestras de aceite en un mes determinado. Letras mayúsculas diferentes para cada columna indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p < 0.01$) entre muestras de aceite en un método de preacondicionamiento dado.

Tyrosol (ppm)	Control	Malaxation+MS	MW-only	MW+MS	p
T0	29 a A	43 b A	51 c A	54 c A	<0.0001
T3	26 a A	41 b A	42 b A,B	47 b A,B	0.0003
T6	26 a A	48 b A	41 b A,B	44 b B,C	0.001
T9	22 a A	46 b A	39 b A,B	40 b B,C	0.0056
T12	19 a A	38 b A	33 a,b B	36 a,b A	0.0407
p	0.1414	0.271	0.0415	0.0007	
Hydroxytyrosol (ppm)	Control	Malaxation+MS	MW-only	MW+MS	p
T0	42 a A	59 b A	61 b A	63 b A	0.0005
T3	30 a A	63 b A	47 a,b C	53 a,b A,B	0.0035
T6	43 a A	54 b A	59 b B	52 b B,C	0.0017
T9	48 b A	53 b A	56 b B	57 b B	0.0203
T12	32 a A	49 b A	47 a,b C	51 b C	0.03026
p	0.496	0.1544	0.0001	0.0002	
Vanillic acid (ppm)	Control	Malaxation+MS	MW-only	MW+MS	p
T0	1.9 a A	2.2 a A	2.9 b A	3.5 b A	0.0002
T3	1.7 a A	2.0 a A	1.8 a B	3.1 b A,B	0.0025
T6	1.4 a A	2.3 b A	2.7 b A	2.5 b B,C	0.0014
T9	41 b A	41 b A	2,3 b A,B	2,4 b B,C	0.0219
T12	1.5 a A	1.6 a A	1.7 a B	1.8 a C	0.8917
p	0.3028	0.1528	0.0009	0.0013	
Oleuropein (ppm)	Control	Malaxation+MS	MW-only	MW+MS	p
T0	180 a	201 a,b A	213 b A	222 b A	0.0065
T3	152 a A,B	187 b A,B	171 a,b B	192 b B	0.0231
T6	137 a A,B	162 a,b B,C	182 b B	203 b A,B	0.0051
T9	123 a B	155 a,b C	170 b,c B	192 c B	0.0009
T12	117 a,b B	135 b C	109 a C	122 a,b C	0.0476
p	0.0064	0.0003	<0.0001	<0.0001	
Lutein (ppm)	Control	Malaxation+MS	MW-only	MW+MS	p
T0	5.1 a A	8.4 b A	9.8 c A	8.9 b,c A	<0.0001
T3	4.7 a A	6.7 a,b B	8.3 b B	8.0 b A	<0.0001
T6	4.5 a A	7.2 b B	7.6 b B,C	8.1 b A	<0.0001
T9	4.0 a A	6.9 a,b B	7.0 b C	7.3 b A	0.0188
T12	3.7 a A	5.3 b C	4.8 a,b D	5.0 a,b B	0.0239
p	0.707	<0.0001	<0.0001	0.0002	
Total polyphenols (ppm)	Control	Malaxation+MS	MW-only	MW+MS	p
T0	539 a A	613 b A	619 b A	658 c A	<0.0001
T3	502 a B	601 b A,B	609 b A	644 c A	0.0001

*Control – batido tradicional; Batido + MS – batido tradicional seguida de un tratamiento por megasonido; MW: preconditionamiento de microondas sin batido; MW+MS: preconditionamiento por microondas seguido de tratamiento por megasonido.

El contenido total de polifenoles en el control permaneció consistentemente por debajo de los otros aceites obtenidos con los métodos de acondicionamiento MW y MS, mientras que las diferencias entre batido + MS, MW-solo y MW + MS fluctuaron a lo largo del almacenamiento.

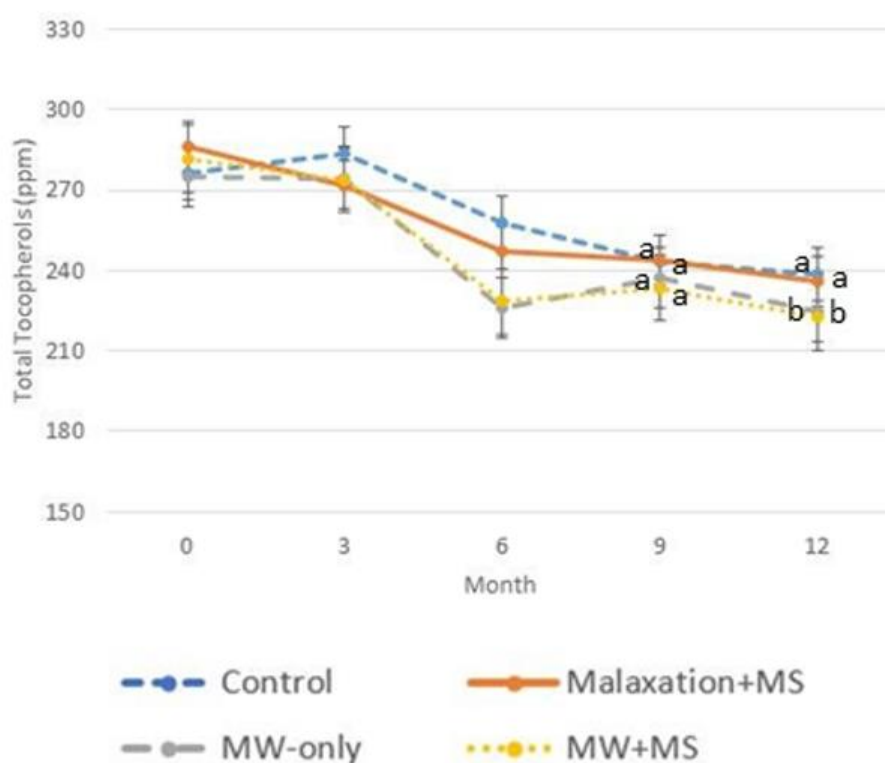


Figura 3.5. Evolución de los tocoferoles totales en los aceites analizados durante el estudio de almacenamiento de 12 meses. Las barras de error representan la desviación estándar respectiva para mediciones por triplicado en cada punto de tiempo. Las etiquetas indican, Evolución del índice de peróxido, K232 y K270 en los aceites probados durante el estudio de almacenamiento de 12 meses. Las barras de error representan la desviación estándar respectiva para mediciones por triplicado en cada punto de tiempo. Las etiquetas indican, Control – batido tradicional; Batido + MS – batido tradicional seguida de un tratamiento por megasonido; MW: preconditionamiento

de microondas sin batido; MW+MS: preacondicionamiento por microondas seguido de tratamiento por megasonido. Letras diferentes reflejan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tecnologías en momentos específicos en los que se detectaron tales diferencias.

Los tocoferoles totales (Fig. 3.5) mantuvieron valores similares entre todos los aceites tratados durante el almacenamiento hasta el mes 6. Se observaron tendencias similares a los tocoferoles totales (Fig. 3.5) para los tocoferoles individuales (alfa, beta, gamma) y, por lo tanto, no se muestran. Irigaray et al. (2016) informaron valores similares de tocoferoles totales durante todo el almacenamiento en comparación con los obtenidos en este estudio.

Durante los primeros 6 meses, los valores de peróxido de las muestras de control fueron significativamente ($p < 0,05$) más altos que los aceites obtenidos del acondicionamiento de MW y MS (Fig 3.3a). Sin embargo, los valores de peróxido de todos los aceites casi coinciden en los meses 9 y 12. Esto está respaldado por la disminución uniforme de polifenoles y tocoferoles en todos los aceites (Tabla 3.5 y Fig. 3.5), a través de reacciones con radicales libres creados durante el almacenamiento como se informa en estudios de almacenamiento de aceite de oliva en otros lugares (Irigaray et al., 2016; Baccouri et al., 2008). El comportamiento diverso en la oxidación de los aceites también es apoyado por el aumento diferenciado en el K232 (Fig. 3.3b), que muestra un aumento más pronunciado para los aceites obtenidos del acondicionamiento MW-only y MW + MS. Sin embargo, los cambios en K232 no se reflejaron en los valores de rancidez descritos por el panel sensorial en el mes 12. Di Serio et al. (2018) informaron valores de K232 más altos que el umbral de COI para el aceite de oliva Coratina extraído por malaxación tradicional a los 12 meses de almacenamiento sin identificar defectos sensoriales en rancidez.

Baccouri et al. (2008), encontraron una buena correlación entre la estabilidad oxidativa (medida en Rancimat) de varios aceites de oliva y la concentración de polifenoles y tocoferoles totales. El mayor contenido constante de compuestos fenólicos en los aceites producidos a través del acondicionamiento de MW y MS, se refleja en la concentración de aceite de los principales compuestos fenólicos individuales encontrados, tirosol, hidroxitirosol, ácido vanílico, oleuropeína,

luteína hasta el mes 6 (Tabla 3.4). El contenido de tirosol, hidroxitirosol y luteína fue superior en todas las muestras acondicionadas por MW y MS hasta el mes 12, mientras que la oleuropeína solo fue superior para las muestras de malaxación + MS y MW + MS. Por tanto, el MW afectó la degradación de polifenoles específicos y totales durante el tiempo de almacenamiento (Tabla 3.4), reflejándose también en los valores de K232. Sin embargo, el tratamiento con megasonido puede haber protegido la descomposición de compuestos secoiridoides complejos como la oleuropeína, que se ha informado que son inestables durante el almacenamiento (Lozano-Sanchez et al., 2013). El contenido de polifenoles individuales fue similar a los reportados en otros lugares y su degradación durante el almacenamiento siguió un comportamiento similar a los evaluados por Di Serio et al. (2018) and Irigaray et al. (2016).

Varios autores han afirmado que los polifenoles son el antioxidante más importante del aceite de oliva siendo los principales contribuyentes a la protección del aceite de oliva frente a la oxidación (Lozano-Sanchez et al., 2013; Franco et al., 2014; Carrasco-Pancorbo et al., 2005). El aumento de fenoles en las muestras de aceite derivado de MW (solo MW y MW + MS) también se refleja en una astringencia consistentemente más alta (aunque no significativa) desde el mes 3 hasta el final del estudio de 12 meses. Los valores bajos calificados en el descriptor dulce, se tradujeron en tiempos muy cortos para captar los sabores picantes y amargos por parte del panel, que disminuyen uniformemente para todas las muestras de aceite, como se señaló anteriormente tanto para los polifenoles como para los tocoferoles y la interacción de las diversas reacciones que controlan la oxidación del aceite.

El contenido de ésteres etílicos en todos los aceites no difirió entre tecnologías hasta el mes 12, mientras que fluctúa a través del tiempo entre tecnologías (Fig. 4a). Sin embargo, existen valores de éster etílico que son consistentemente más bajos para los aceites derivados de MW (solo MW y MW + MS), lo que indica un impacto potencial del mecanismo de calentamiento de MW en las enzimas fermentativas. Además, los procesos de formación de cera también han sido alterados por las tecnologías de preacondicionamiento con MW y/o MS a partir del mes 6 en adelante (Figura 3.4b). Podría ser posible que la formación de

alcoholes a través de procesos enzimáticos que contribuyan a la reacción de esterificación con ácidos grasos para formar ceras de gran peso molecular pueda verse disminuida. Esta es un área que requiere más investigación, aunque es bien sabido que las microondas y los ultrasonidos pueden modular la actividad enzimática. Por ejemplo, las microondas pueden afectar la vía enzimática de la enzima lipoxigenasa, que genera principalmente compuestos volátiles responsables de las notas sensoriales frutados en el aceite de oliva (Caponio et al., 2019). Además, se ha demostrado que los ultrasonidos de baja frecuencia en general promueven los procesos de fermentación, por ejemplo; Chang & Chen (2002) aplicaron 20 kHz en el envejecimiento del arroz de vino durante una semana y encontraron que era similar a un año sin sonicación. Estudios anteriores han demostrado el impacto de los ultrasonidos de alta frecuencia sobre las enzimas y la fermentación de frutas y verduras (Novoa-Díaz et al., 2014; Ojha et al., 2017; Terefe et al., 2016).

Como se puede observar en la Fig. 3.4c, la acidez se mantuvo prácticamente constante hasta el mes 9, cuando aumentó significativamente ($p < 0.05$). Sin embargo, todos los valores son mucho más bajos que el límite estándar de 0.8% (COI, 2019b) incluso en el mes 12, y no reflejan los defectos sensoriales, incluido el oxidado (COI, 2017b). Los aumentos de acidez se deben principalmente a la actividad de la lipasa, que puede haber aumentado durante el almacenamiento (Cayuela et al., 2015). Los valores más bajos en el aceite obtenidos después de solo MW y MW + MS pueden estar relacionados con la inactivación de la enzima debido al calentamiento rápido de MW (Baştürk, 2019). Si bien los estándares del COI y los estudios de vida útil del aceite de oliva en la literatura (Di Serio et al., 2018), se enfocan en los aspectos de sabor y aroma, no consideran la apariencia y el color del aceite de oliva o compuestos de color específicos, que resultan interesantes para futuras investigaciones.

En resumen, todos los aceites derivados de MW y MS tuvieron un impacto positivo en la calidad de los aceites vírgenes extra durante los 12 meses del estudio. En la actualidad, los autores no conocen estudios de vida útil de los aceites de oliva obtenidos a través de combinaciones de tecnologías novedosas, aparte del trabajo de Andreou et al. (2016); quienes pretrataron aceitunas con

procesamiento de alta presión y campos eléctricos pulsados antes de la extracción del aceite de oliva. El trabajo adicional debe evaluar las tecnologías MW y MS y su combinación para acondicionar pastas producidas con otras variedades de aceitunas y con otros índices de madurez. Este trabajo apoya el desarrollo adicional de las tecnologías combinadas de MW y MS para desarrollar un proceso de extracción continuo, evitando al mismo tiempo el paso de batido de 60-90 min.

3.4. Conclusiones

El presente trabajo demostró que acondicionar la pasta de aceituna de la variedad Coratina con microondas y megasonido para mejorar la extractabilidad del aceite de oliva, no impacta negativamente en la calidad sensorial ni en los parámetros de calidad química (fermentativa y oxidativa) de los aceites obtenidos durante al menos 12 meses. Además, los aceites mostraron compuestos fenólicos más altos para todas las pastas con microondas simples y combinados y acondicionamiento por megasonido sin afectar significativamente la calidad sensorial del aceite. Estos resultados abren la puerta al posible desarrollo de nuevos dispositivos que permitan combinar ambas tecnologías y, a su vez, promueva el funcionamiento continuo del proceso de extracción del aceite de oliva.

3.5. Agradecimientos

Este estudio fue financiado en parte por la región de Puglia Region “Guidelines for Research and Experimentation in Agriculture 2012-2014”, el proyecto de investigación MICROLIO y el financiamiento de CSIRO OCE a través del premio Julius Career Award.

Los autores agradecen a AGROLIO MILL s.r.l. y al propietario, Sr. Savino Agresti.

Agencia Nacional de Investigación e Innovación, ANII.

También nos gustaría mencionar a Pedeciba Química por su contribución.

Nos gustaría recordar especialmente a la Dra. María Antonia Grompone por su invaluable aporte, consejos y motivación.

Capítulo 4

Efecto del carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva virgen extra de aceitunas Arbequinas con diferente índice de madurez e influencia en la calidad durante el almacenamiento

Este estudio explora la posibilidad de incorporar carbonato de calcio en el proceso de extracción de aceite de oliva. A nivel de laboratorio se explora el efecto de la aplicación de carbonato de calcio en dos niveles de incorporación, 2 y 4 % (m/m), la posibilidad de reducción de tiempo de batido de pasta de aceituna, como el efecto sobre el índice de madurez. A nivel industrial se estudia el efecto de la aplicación de carbonato de calcio en 2 niveles 2% y 4 %, los tiempos de batido 30 y 40 min y se estudia la calidad sensorial de los aceites de oliva mediante la evaluación sensorial y la calidad química por medio de los análisis acidez, índice de peróxidos y los coeficientes de extinción en el ultravioleta K232 y K270. Los resultados de este estudio fueron presentados de forma oral en el Primer Congreso Latinoamericano de Aceite de Oliva, y serán próximamente enviados para su publicación.

4.1. Introducción

El aceite de oliva virgen extra es un producto obtenido de la extracción de aceite de oliva donde el aceite logra propiedades sensoriales y saludables similares a las de la fruta original de alta calidad (es decir, olor, sabor y antioxidantes). Tales propiedades no solo son relevantes para países donde el consumo de aceite de oliva está cultural y tradicionalmente integrado entre los consumidores, sino también en países con un consumo emergente de aceite de oliva (Gámbaro et al., 2021). Para cumplir con los estándares de calidad virgen extra, se deben seguir algunas reglas en el proceso de extracción. Los aceites de oliva vírgenes deben obtenerse del fruto del olivo (*Olea europaea* L.) únicamente por medios mecánicos u otros medios físicos en condiciones, especialmente térmicas, que no provoquen alteraciones en el aceite. En este caso, la fruta y sus componentes a granel no deben haber sido sometidos a ningún otro tratamiento que no sea el lavado, triturado, batido a temperatura controlada, decantación, centrifugado y filtración para separar el aceite (COI, 2019a). Asimismo, la Unión Europea (UE) define el aceite de oliva virgen extra como “aceite de oliva de categoría superior obtenido directamente de aceitunas y únicamente por medios mecánicos” (Reglamento (UE) Número 29/2012).

Por lo general, el aceite contenido dentro de las células oleosas se reserva en parte en la vacuola (~76 %), donde está libre, y en parte en el citoplasma (~24 %), donde se dispersa en forma de pequeñas gotas unidas a coloides (Canamasas & Ravetti 2014, Ranalli & De Mattia, 1997). Durante la trituración de la aceituna, las células de la aceituna se rompen y las gotas de aceite contenidas se liberan parcialmente. El proceso de batido es un paso posterior que consiste en amasar la pasta con cuchillas rotativas, lo que hace que las gotas de aceite de menor tamaño se unan y aumenten el volumen de aceite libre en el sistema de pasta. (Clodoveo, 2021). El aceite libre se recupera pasando la pasta batida por centrífugas decantadoras donde, en la mayoría de los sistemas industriales, la fracción líquida compuesta principalmente por aceite y agua, se separa de los sólidos, es decir, el orujo de aceituna. El aceite se recupera mediante centrífugas verticales, que separan el agua de oliva como subproducto (Hermoso et al., 1998).

En cuanto a la recuperación de aceite, el proceso presenta limitantes ya que entre un 10-30% de aceite permanece en la pasta al final del proceso de extracción debido a la presencia de otros compuestos en la oliva, los cuales de alguna forma ligan al aceite a la matriz de la oliva. Por ejemplo, las células de la membrana de la piel de las olivas tienen fosfolípidos y proteínas con propiedades lipofílicas que promueven la emulsificación impidiendo que el aceite se separe (Canamasas & Ravetti 2014; Boskou, 2006). También, cabe recordar, cómo se ha discutido en los capítulos anteriores, que el proceso de batido es una operación en batch y su ineficiencia se debe a la distribución de temperatura de manera no uniforme, lo que conduce a pastas de aceituna sobrecalentadas o pasta con exceso de batido (Tamborrino et al., 2014; Leone et al., 2017; Leone et al., 2018).

Debido a los desafíos anteriores, se han estudiado varios auxiliares de procesamiento para mejorar la eficiencia de la extracción de aceite, ya sea promoviendo una mayor recuperación de aceite y minimizando las pérdidas de aceite en el orujo, o acortando el proceso de extracción para conservar la calidad. Estos auxiliares de procesamiento pueden incluir el uso de tecnologías novedosas como el ultrasonido de alta frecuencia (Amarillo et al., 2021, Juliano et al., 2017), microondas (Leone et al., 2018), campos eléctricos pulsados (Andreou et al., 2017), preparados de enzimas comerciales (Clodoveo, 2021) y coadyuvantes como el cloruro de sodio (Pérez et al., 2008), micro talco (Moya et al., 2010) y carbonato de calcio (Clodoveo, 2021).

Como reportó Clodoveo (2021); la aplicación de carbonato de calcio en el proceso de extracción del aceite de oliva se puede utilizar según la Directiva CE 30/2001, ya que no reacciona con los aceites debido a su estructura cristalina y afinidad con el agua. También se puede eliminar fácilmente durante el proceso en la etapa decantadora con el orujo de aceituna debido a su alta densidad (2,72 g/cm³). La aplicación de carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva ha sido estudiada por muchos investigadores (Tamborrino et al., 2017, Squeo et al., 2020, Caponio et al., 2018). Varios autores informaron una mayor recuperación de aceite debido a la adición de carbonato de calcio a la pasta de

aceituna antes del batido o durante el batido (Clodoveo., 2021, Squeo et al., 2020, Tamborrino et al., 2017).

Los principales parámetros a considerar para la aplicación de carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva incluyen el tamaño de partícula y las cantidades añadidas a la pasta. Según Clodoveo (2021), el tamaño de partícula del coadyuvante puede afectar la recuperación de aceite, encontrando para el mismo tamaño de partícula mayor extractabilidad con carbonato de calcio que con talco (Moya et al., 2010). Para el mismo tamaño de partícula, se encontró que el carbonato de calcio extrae una mayor cantidad de aceite que el talco. (Moya et al., 2010). Un reciente review recopila datos que demuestran que la incorporación de talco y carbonato de calcio no afectó a los componentes químicos estándar y atributos sensoriales del aceite, cuando el aceite obtenido de las variedades de aceitunas Arbequina y Picual se analizó inmediatamente después de la recuperación (Clodoveo, 2021).

A pesar de los beneficios anteriores, la mejora de la adición de carbonato de calcio en la recuperación de aceite no ha sido estudiada en aceitunas con diferentes índices de madurez. Además, se ha informado poco sobre la estabilidad química y sensorial del aceite de oliva durante el almacenamiento cuando el aceite, utilizando carbonato de calcio como coadyuvante de procesamiento. Por tanto, los objetivos de este trabajo son: a) estudiar el efecto del carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva virgen extra de variedades de aceituna Arbequina con diferente índice de madurez y b) determinar si la adición de carbonato de calcio como coadyuvante influye en la calidad de los aceites de oliva durante 6 meses de almacenamiento.

4.2. Materiales & métodos

4.2.1. Ensayos de recuperación de aceite de oliva a escala de laboratorio Abencor

Se trabajó con olivas de variedad Arbequina para todos los estudios, que fueron recolectadas en dos almazaras (P1 y P2) ubicadas en el sur y noreste de

Uruguay, respectivamente. La variedad de aceituna Arbequina es la variedad más cultivada en Uruguay (Ellis & Gámbaro, 2018). El índice de madurez (IM) para cada cultivar fue confirmado por la evaluación del color de la piel y la pulpa como lo sugiere COI (2011).

Las extracciones de aceite se realizaron con la planta piloto Abencor, de acuerdo a lo indicado en el Capítulo 1 de la tesis. Se realizó un diseño experimental en el cual, para cada cultivar, se estudiaron las siguientes variables: MI (1.0, 2.0-2.1 y 3.1-3.4), tiempo de batido (30 y 40 min) y concentración de carbonato (0, 2 y 4%) (Tabla 4.1).

4.2.1.1. Diseño experimental

Los ensayos se realizaron en el tiempo de batido tradicional y en un tiempo reducido de 30 min (Tamborrino et al., 2017; Leone et al., 2018). Como se mencionó anteriormente, el tiempo de batido debe ser suficiente para permitir la formación de gotas de aceite más grandes (superiores) que se separarán por centrifugación (Leone 2014). Ensayos preliminares (Amarillo et al., 2019) mostraron que la reducción de la malaxación por debajo de 30 minutos no fue efectiva para la agregación de aceite y, por lo tanto, no se consideraron tiempos más cortos para este trabajo.

Se añadió carbonato de calcio (tamaño de partícula de 2,5 μm) a la pasta al comienzo del paso de batido en dos niveles de concentración, 2 y 4 % (p/p, pasta húmeda) según trabajos anteriores (Squeo et al., 2016; Tamborrino et al., 2017). A modo de comparación, se obtuvo una muestra de control del proceso sin adición de carbonato de calcio y 40 minutos de batido. Cada ensayo de extracción se llevó a cabo por triplicado.

Tabla 4.1. Diseño experimental para pruebas en Abencor

Ensayo	Cultivar	MI	Tiempo de batido (min)	Carbonato de Calcio (%)
1	P1	1.0	40	0
2				2
3				4
4			30	2
5				4
6	P1	2.1	40	0
7				2
8				4
9			30	2
10				4
11	P1	3.4	40	0
12				2
13				4
14			30	2
15				4
16	P1	1.0	40	0
17				2
18				4
19			30	2
20				4
21	P1	2.0	40	0
22				2
23				4
24			30	2
25				4
26	P2	3.1	40	0
27				2
28				4
29			30	2
30				4

4.2.1.2. Análisis sobre pasta de aceitunas y aceites de oliva obtenidos en sistema Abencor.

Análisis de la pasta de aceitunas

Contenido de Humedad

El contenido de humedad se expresa en % (p/p). La pasta de aceituna se tomó antes de la batidora, se secó en estufa de convección forzada a $103,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 12 horas.

Contenido total de aceite

Se eliminó totalmente el aceite de las muestras secas mediante la metodología Soxhlet, que consiste en una extracción con éter de petróleo (62-68 °C punto de ebullición) durante 8 horas según lo informado por Reboredo–Rodriguez et al. (2015). Los resultados se expresan como % de aceite recogido en base seca.

Análisis de calidad química de los aceites de oliva

Las muestras se pesaron y disolvieron en alcohol etílico-éter dietílico (1:1). Se añadió fenolftaleína como indicador y se tituló con hidróxido de potasio 0,1 N. Los resultados de acidez se expresan como % sobre ácido oleico (COI, 2017a).

Índice de peróxidos

Las muestras pesadas se disolvieron en ácido acético-cloroformo (3:2). Se añadió solución saturada de yoduro de potasio y se dejó en la oscuridad durante 1 min. Luego, después de agregar 30 mL de agua, la solución se tituló con tiosulfato de sodio 0,1 N usando almidón como indicador. Los resultados se expresan en meq O_2/kg (COI, 2017b).

Coeficientes K232 y K270

Las muestras se pesaron y disolvieron en isooctano. Luego, se determinó la absorbancia a longitudes de onda de 232 nm y 270 nm en un modelo Shimadzu, Mini-UV 1240 (COI, 2019b).

Análisis de calidad sensorial de los aceites de oliva

Evaluación Sensorial

Un panel compuesto por ocho jueces entrenados evaluó las características sensoriales del aceite de oliva. Este panel funciona en la Facultad de Química de Uruguay y ha sido homologado por el COI ininterrumpidamente desde 2013. La evaluación se realizó de acuerdo con COI (2018). Los aceites fueron catados a 28°C, evaluados en forma monádica, presentados en copas de degustación azules estandarizadas cubiertas con vidrio de reloj. La intensidad de los atributos evaluados se midió mediante escalas lineales no estructuradas de 0 a 10 cm con extremos “nada” a “mucho”. Los atributos negativos o defectos evaluados fueron: atrojado/borras, moho/húmedad/tierra/suelo, vinagre/avinagrado/agrio/ácido, aceituna helada/madera húmeda, rancio y otros (hueso/lubricante/salmuera/quemado, etc.). Los atributos positivos evaluados fueron: afrutado, amargo y picante. Como borradores, a cada juez se le proporcionó una manzana verde, yogur natural ligeramente endulzado, galletas de agua y agua mineral sin gas a temperatura ambiente.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) sobre los datos del análisis químico considerando el cultivar, el tiempo de batido, los niveles de concentración de carbonato de calcio, el índice de madurez y la interacción como factores de variación. Los datos sensoriales también se evaluaron mediante ANOVA considerando los parámetros mencionados, así como el efecto sobre los jueces y la interacción como factores de variación. Se determinaron las calificaciones medias y las diferencias significativas, con base en la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software XL-Stat 2021.1.1 software (Addinsoft, New York, EE.UU).

4.2.2. Ensayos de recuperación de aceite en almazara industrial

Los ensayos industriales se realizaron en dos almazaras vinculadas a los cultivos P1 y P2. Ambas almazaras operaron en sistemas centrífugos de 2 fases con una capacidad de 500 kg/h en operación semicontinua. P1 estaba

compuesto por equipos Pieralisi, y P2 trabajaba con equipos Alpha laval. Sin embargo, fue posible trabajar en condiciones similares en ambas almazaras. La tabla 4.2 proporciona información sobre el estado de funcionamiento de las almazaras P1 y P2.

Tabla 4.2. Información sobre ensayos a escala industrial.

Parámetros Industriales	Almazara P1	Almazara P2
Variedad de oliva	Arbequina, MI for P1	Arbequina, MI for P2
Marca equipo	Pieralisi	Alpha laval
Caudal de pasta	500 kg/h	500 kg/h
Temperatura al comienzo del batido	20 °C	26 °C
Temperatura al final del batido	28 °C	30 °C

4.2.2.1. Diseño experimental

En base a los resultados obtenidos en la planta de Abencor, se seleccionaron los tiempos de batido y las concentraciones de carbonato de calcio para ensayar en las dos almazaras industriales con cultivares de MI utilizados por cada productor para la cosecha de ese año (P1 = 2.2 y P2 = 1.7). Cada ensayo de extracción se llevó a cabo por triplicado. El diseño experimental se resume en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Diseño experimental de ensayos en almazaras industriales. Cada cultivar y su almazara estaban ubicados en el sur (P1) y noreste (P2) de Uruguay.

Ensayo	Cultivar	MI	Tiempo de batido (min)	Carbonato de Calcio (%)
1	P1	2.2	40	0
2				2
3				4
4			30	2
5				4
6	P2	1.7	40	0
7				2
8				4
9			30	2
10				4

Para medir el efecto de la aplicación de CC se determinó la extractabilidad. La extractabilidad (E) es el porcentaje de aceite extraído respecto al contenido total de aceite determinado a partir de las aceitunas procesadas. La E se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$E = \frac{W_{oil}}{W_{total\ oil}} 100 (1)$$

Como se define en Amarillo et al. (2019), para la comparación se calculó la extractabilidad neta por carbonato de calcio (NE) entre la aplicación de carbonato de calcio y el control, eq. (2)

$$NE = E (\text{carbonato de calcio}) - E (\text{control}) (2)$$

4.2.2.2. Análisis sobre aceites de oliva obtenidos en almazara industrial.

Se evaluaron los parámetros químicos (acidez, peróxidos y coeficientes K232 y K270) y el perfil sensorial (COI, 2017a, 2017b, 2018 and 2019b), de acuerdo a lo indicado en el punto 4.2.1.2.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) sobre los datos del análisis químico considerando el cultivar, el tiempo de batido, los niveles de concentración de carbonato de calcio y la interacción como factores de variación. Los datos sensoriales también se evaluaron mediante ANOVA considerando los parámetros mencionados, así como el efecto sobre los jueces y la interacción como factores de variación. Se determinaron las calificaciones medias y las diferencias significativas, con base en la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software XL-Stat 2021.1.1 software (Addinsoft, New York, EE.UU).

4.2.3. Estudio de estabilidad

Para determinar si la incorporación de carbonato de calcio afecta a la calidad del aceite de oliva, se realizó un estudio de estabilidad durante 6 meses con el aceite obtenido de los ensayos a escala industrial (Tabla 4.3). En base a los resultados obtenidos, se seleccionó para este estudio el aceite elaborado con 2% de carbonato de calcio y 30 min de batido, el que fue comparado contra un control (sin carbonato de calcio y 40 min de batido). Las muestras obtenidas de cada ensayo se fraccionaron en botellas de vidrio color ámbar de 250 mL, para garantizar la protección durante el almacenamiento. Las botellas se llenaron por completo para evitar el espacio de cabeza y se almacenaron a 25°C en ausencia de luz. Se tomaron muestras en el mes 3 y 6 para evaluar parámetros químicos (acidez, peróxidos y coeficientes K232 y K270) y el perfil sensorial siguiendo el estándar COI (COI, 2017a, 2017b, 2018 and 2019b).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) sobre los datos del análisis químico considerando muestra, tiempo de almacenamiento y la interacción como factores de variación. Los datos sensoriales también se evaluaron mediante ANOVA considerando los parámetros mencionados, así como el efecto sobre los jueces y la interacción como factores de variación. Se determinaron las calificaciones medias y las diferencias significativas, con base en la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software XL-Stat 2021.1.1 software (Addinsoft, New York, EEUU).

4.3. Resultados y discusión

4.3.1. Resultados de las pruebas en el Abencor

Todas las pastas de olivas tuvieron valores de contenido de humedad que oscilaban entre el 50 y el 56,5 %. El contenido de aceite osciló entre 16,1 y 21,9 % (ver Tabla 4.4). Con base en la clasificación de humedad establecida por Di Giovachino (1991) para la extractabilidad del aceite, todas las pastas de aceituna pueden considerarse como “pastas difíciles”. Los contenidos de aceite y humedad en las pastas probadas son tradicionales y se encuentran dentro de los valores reportados por Ellis & Gámbaro (2018), quienes evaluaron la humedad de las arbequinas uruguayas durante dos temporadas de cosecha consecutivas.

La Tabla 4.4 reporta los resultados de NE obtenidos para los cultivares cosechados de las almazaras P1 y P2. Los resultados estadísticos mostraron que la extractabilidad del aceite fue significativamente afectada por el cultivar ($p<0.05$), el MI ($p<0.05$), la concentración de carbonato de calcio ($p<0.05$) y la interacción cultivar*MI ($p<0.05$). Por este motivo, se analizarán por separado los resultados de distintas almazaras.

Tabla 4.4. NE de aceites de oliva obtenidos mediante pruebas de laboratorio entre cultivares, índice de madurez, concentración de carbonato de calcio y tiempo de batido. Letras diferentes para cada tratamiento indican diferencias significativas según la Prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Cultivar	MI	Carbonato de Calcio (%)	Tiempo batido (min)	Humedad pasta (%)	Contenido de aceite (%) %	Extractabilidad (%)	NE
P1	1.0	0%	40	55.5	16,1	73.3	0
		2%	40			80.1	6.8 a
		4%	40			79.5	6.2 a
		2%	30			77.0	3.7 a
		4%	30			78.3	5.0 a
		p-valor					
	2.1	0%	40	51.7	17,3	74.6	0
		2%	40			83.2	8.6
		4%	40			81.5	6.9 a
		2%	30			78.6	4.0 a
		4%	30			81.5	6.9 a
		p-valor					
	3.4	0%	40	53.9	19,2	79.7	0
		2%	40			85.4	5.7 a
		4%	40			87.5	7.8 a
		2%	30			86.5	6.8 a
		4%	30			84.9	5.2 a
		p-valor					
P2	1.0	0%	40	50.0	18,7	76.5	0
		2%	40			82.9	6.4 a
		4%	40			81.3	4.8 a
		2%	30			81.3	4.8 a
		4%	30			85.0	8.5 a
		p-valor					
	2.0	0%	40	53.3	19,3	78.2	0
		2%	40			88.6	10.4 a
		4%	40			83.9	5.7 a
		2%	30			86.6	8.4 a
		4%	30			85.0	6.8 a
		p-valor					
	3.1	0%	40	56.5	21,9	81.3	0
		2%	40			89.0	7.7 a
		4%	40			89.3	8.0 a
		2%	30			86.8	5.5 a
		4%	30			88.0	6.7 a
		p-valor					

De los resultados se puede observar que la aplicación de carbonato de calcio proporcionó una mayor capacidad de extracción de aceite ya que todos los valores de NE son positivos. Ahora, considerando el tiempo de batido, no tuvo impacto en los resultados de NE. Para analizar más a fondo la concentración de carbonato de calcio y el IM, se examinará solo durante 40 minutos de tiempo de batido para compararlo con el proceso tradicional sin adición de carbonato de calcio. El enfoque de los resultados se realiza de esta manera ya que se trata de aceitunas con diferente estadio de madurez, por lo que esta variable no se incluyó en el ANOVA que se muestra en la tabla 4.4 La información se muestra en las siguientes figuras.

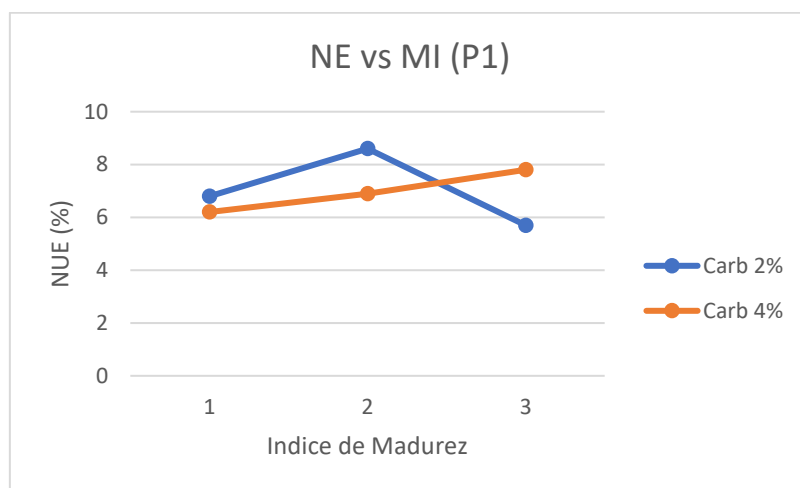


Figura 4.1. Resultados de NE para cada índice de madurez de aceituna recolectada en Almazara P1.

Los resultados indican que para los índices de madurez 1 y 2, ambas concentraciones proporcionan resultados similares, solo para aceituna madura (MI 3) la incorporación de carbonato de calcio en un 4% proporciona mejores resultados.

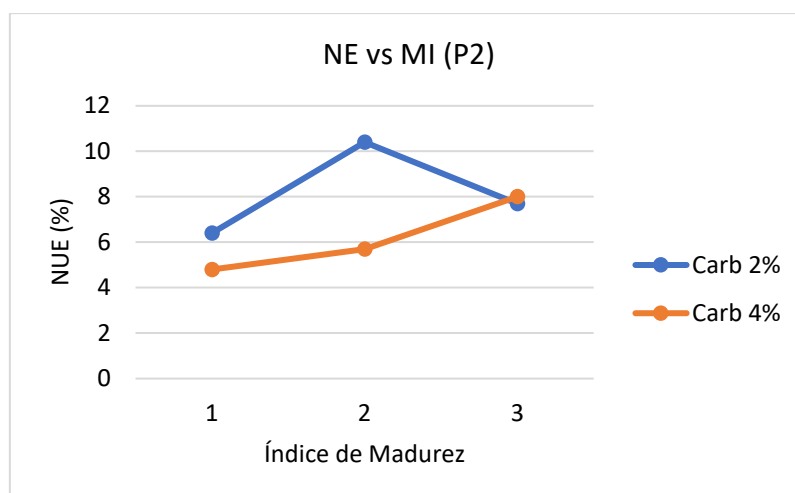


Figura 4.2. Resultados de NE para cada índice de madurez de aceituna recolectada en Almazara P2.

La figura 2 proporciona información sobre el índice de madurez y la concentración de carbonato de calcio para las aceitunas cosechadas en la almazara P2. En este caso, para MI 2, el carbonato de calcio al 2% arrojó mejores resultados. Para el resto de los índices de madurez, ambos niveles de concentración arrojaron resultados similares. Entonces, considerando ambas cifras, se puede deducir que, para aceitunas con un índice de madurez bajo, la incorporación de un 2% o un 4% de carbonato de calcio da resultados similares, sin embargo, para índices de madurez más altos, parece conveniente usar una concentración del 4%. Resta para futuros estudios, corroborar para Arbequinas de otras regiones como también con otras de las variedades que se plantan en el territorio uruguayo.

4.3.1.1. Caracterización de la calidad de los productos obtenidos

4.3.1.1.1 Resultados químicos

En la tabla 4.5 se muestran los resultados obtenidos, análisis químico de acidez, índice de peróxidos y K232 y K270. A partir de ANOVA se observó que el frutado fue afectado significativamente por MI ($p < 0.0001$), y la interacción cultivar*MI ($p < 0.0001$).

Tabla 4.5. Resultados químicos (acidez, índice de peróxido, K232 y K270) de muestras de aceite de oliva derivadas de las condiciones ensayadas. Letras diferentes y valores en negrita para cada fila indican diferencias significativas de acuerdo con Tukey.

Cultivar	MI	Carbonato de Calcio (%)	Tiempo de batido (min)	Acidez (%oleico)	Peroxidos (meqO ₂ /kg)	K232	K270
P1	1.0	0%	40	0.39 a	8.3 a	0.67 a	0.06 a
		2%	40	0.34 a	7.3 b	0.62 a	0.05 a
		4%	40	0.33 a	8.1 a.b	0.62 a	0.05 s
		2%	30	0.35 a	8.0 a.b	0.69 a	0.06 a
		2%	40	0.34 a	7.6 a	0.65 a	0.06 a
	p- valor			0.9094	0.0028	0.6942	0.9995
	2.1	0%	40	0.21 b	11.2 b	0.62 a	0.05 a
		2%	40	0.20 b	10.5 b	0.6 a	0.05 a
		4%	40	0.17 a	10.5 b	0.67 a	0.07 a
		2%	30	0.24 b	8.7 a	0.60 a	0.05 a
		4%	30	0.25 b	8.7 a	0.64 a	0.06 a
	p- valor			< 0.0001	0.0019	0.5029	0.9053
	3.4	0%	40	0.27 a	6.62 a	1.32 c	0.08 a
		2%	40	0.24 a	6.56 a	1.18 b	0.08 a
		4%	40	0.27 a	6.63 a	1.08 a	0.07 a
		2%	30	0.23 a	6.7 a	1.07 a	0.07 a
		4%	30	0.23 a	6.39 a	1.08 a	0.08 a
	p- valor			0.8002	0.3023	< 0.0001	0.785
P2	1.0	0%	40	0.25 a	11.98 b	1.26 b	0.13 c
		2%	40	0.24 a	11.67 b	1.05 a	0.07 a
		4%	40	0.28 a	11.68 b	1.07 a	0.09 a.b
		2%	30	0.25 a	11.81 b	1.11 a	0.10 a.b.c
		4%	30	0.26 a	10.8 a	1.13 a.b	0.12 b.c
	p- valor			0.4013	0.002	0.0061	0.0011
	2.0	0%	40	0.29 b	13.6 b	1.23 a	0.11 a
		2%	40	0.26 a.b	13.3 a.b	1.19 a	0.11 a
		4%	40	0.25 a.b	12.31 a.b	1.06 a	0.08 a
		2%	30	0.26 a.b	13.08 a.b	1.06 a	0.12 a
		4%	30	0.23 a	12.55 a	1.08 a	0.11 a
	p- valor			0.0108	0.0043	0.3195	0.8388
	3.4	0%	40	0.23 a	12.32 b	1.32 c	0.08 a
		2%	40	0.27 a	11.56 a.b	1.15 b	0.08 a
		4%	40	0.25 a	11.53 a.b	1.08 a.b	0.08 a
		2%	30	0.26 a	11.13 a	1.02 a	0.09 a
		4%	30	0.23 a	11.25 a.b	0.97 a	0.09 a
	p- valor			0.8109	0.0428	< 0.0001	0.3547

El parámetro de acidez libre proporciona información sobre cómo se recolectaron y almacenaron las aceitunas de manera oportuna desde la cosecha hasta la molienda. También es un indicador del tiempo transcurrido desde que se extrajo el aceite. Para todos los aceites analizados, el índice de acidez libre fue inferior

al 0,43% (la mayoría del orden del 0,25%, expresado en ácido oleico), muy por debajo del valor límite del 0,8% establecido por el COI (COI, 2019b), por lo que todas las muestras de aceite de oliva se pueden clasificar como virgen extra.

El índice de peróxido nos da una medida de cuán avanzado ha sido el deterioro oxidativo del aceite. En este estudio, los valores estuvieron entre 7 y 13 meq O₂/kg, sin embargo, para P2 los valores fueron mayores. En cuanto a la aplicación de carbonato de calcio, las muestras de control proporcionaron un índice de peróxidos superior al 2% y al 4% de la aplicación. Según el COI, para que un AO sea considerado virgen extra, el índice no puede superar los 20 meq O₂/kg, por lo que todas las muestras pertenecen a la categoría virgen extra.

Los coeficientes de extinción ultravioleta (K232 y K270) también miden el comportamiento oxidativo de un aceite, pero la información que proporcionan es diferente, ya que los productos determinados son diferentes (dienos y trienos conjugados). El límite de calidad para K232 y K270 es 2,5 y 0,22 respectivamente. Aunque se encontraron diferencias significativas, no se encontró efecto en cuanto a la incorporación de carbonato de calcio, por lo que la adición de carbonato de calcio o el tiempo de mezclado no tendrían impacto en estos coeficientes.

Como se puede observar, todos los aceites obtenidos pertenecen a la categoría de virgen extra ya que todos los resultados de cada parámetro están por debajo del límite de calidad establecido por el COI. Aunque se observan diferencias significativas entre los tratamientos para un mismo MI, se puede concluir que la adición de carbonato de calcio durante la extracción del aceite de oliva no tiene impacto sobre su calidad química.

4.3.1.1.2. Resultados Sensoriales

La Tabla 4.6 muestra los resultados obtenidos por el panel sensorial para los atributos frutado, amargo y picante para cada productor, MI. A partir de ANOVA se observó que el frutado fue afectado significativamente por MI ($p < 0.0001$), y la interacción cultivar*MI ($p=0.0028$). El amargo fue afectado por el MI ($p <$

0.0001) y por la interacción productor*MI ($p=0.0031$). La pungencia solo se vio afectada por MI ($p<0,0001$).

Tabla 4.6. Resultados sensoriales (frutado, amargo y picante) de muestras de aceite de oliva derivadas de las condiciones ensayadas. Letras diferentes y valores en negrita para cada fila indican diferencias significativas de acuerdo con Tukey.

Cultivar	MI	Carbonato de Calcio (%)	Tiempo de batido (min)	Frutado	Amargo	Picante
P1	1	0%	40	5.2 a	3.1 a	3.5 a
		2%	40	5.3 a	3.1 a	3.6 a
		4%	40	5.3 a	3.2 a	3.8 a
		2%	30	5.3 a	3.2 a	3.7 a
		2%	30	5.3 a	3.2 a	3.8 a
	p- valor			0.9662	0.986	0.0532
	2,1	0%	40	5.1 a	3.2 a	2.9 a
		2%	40	5.2 a	3.2 a	3.0 a
		4%	40	5.2 a	3.2 a	3.0 s
		2%	30	5.1 a	3.1 a	3.0 a
		4%	30	5.1 a	3.1 a	3.0 a
	p- valor			0.9611	0.5077	0.5032
	3,4	0%	40	4.8 a	2.9 a	2.5 a
		2%	40	4.9 a	2.8 a	2.5 a
		4%	40	4.8 a	2.9 a	2.5 a
		2%	30	5.0 a	3.2 a	2.5 a
		4%	30	4.9 a	2.9 a	2.5 a
	p- valor			0.8285	0.7018	0.9841
P2	1	0%	40	5.6 a	2.3 a	2.4 a
		2%	40	5.6 a	2.8 a	2.8 a
		4%	40	5.5 a	2.7 a	2.5 a
		2%	30	5.8 a	2.9 a	2.8 a
		4%	30	5.5 a	2.7 a	2.6 a
	p- valor			0.9422	0.1037	0.0532
	2	0%	40	5.1 a	2.0 a	2.2 a
		2%	40	5.1 a	2.2 a	2.5 a
		4%	40	5.0 a	2.0 a	2.2 a
		2%	30	5.3 a	2.3 a	2.5 a
		4%	30	4.9 a	2.2 a	2.4 a
	p- valor			0.5422	0.7221	0.0707
	3,1	0%	40	4.5 a	1.5 a	1.5 a
		2%	40	4.3 a	1.8 a	2.0 a
		4%	40	4.5 a	1.8 a	2.0 a
		2%	30	4.5 a	1.7 a	1.8 a
		4%	30	4.4 a	1.6 a	1.8 a
	p- valor			0.9477	0.5364	0.9841

Se observa para ambos productores que mientras aumenta el MI, los atributos positivos afrutado, amargo y picante disminuyen en intensidad. Resultados similares se reportan en la literatura (Ellis & Gámbaro, 2018; Franco et al., 2015; Jiménez et al., 2013). Para un índice de madurez dado, la adición de carbonato de calcio y el tiempo de batido no influyen en la caracterización o perfil sensorial de la muestra. Todos los aceites presentaron un frutado medio alto (segundo tercio de una escala de 0 a 10) pero con intensidad leve de amargo y picor (primer tercio de una escala de 0 a 10). Comparando entre productores, los aceites de P1 fueron elegidos por el panel como más intensos en amargo y picante, atributos positivos en el aceite de oliva, y como el picante está asociado con los antioxidantes naturales de las aceitunas (Amarillo et al., 2021, Baccouri et al., 2008), sería interesante realizar un estudio de vida útil para comprobar su comportamiento. En base a estos resultados, los aceites de oliva obtenidos pueden clasificarse como vírgenes extra ya que el panel no detectó defectos sensoriales en los aceites evaluados y frutado positivo, tal y como establece la norma COI (COI, 2019a).

4.3.2. Resultados de recuperación a escala Industrial

Las extracciones a escala industrial realizadas en las almazaras a 500 kg/h se muestran a continuación para cada productor respectivamente.

Tabla 4.7. NE de aceites de oliva obtenidos en almazaras P1 y P2 a nivel industrial. Letras diferentes para cada tratamiento indican diferencias significativas según la Prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Cultivar	Carbonato de Calcio (%)	Tiempo Batido (min)	Extractabilidad	NE
P1	0%	40	71.5	0
	2%	40	83.7	12.2 a
	4%	40	87.6	16.1 a
	2%	30	89.6	18.1 a
	4%	30	89.8	18.3 a
p valor				0.0839
P2	0%	40	78.3	0
	2%	40	86.8	8.5 a
	4%	40	84.7	6.4 a
	2%	30	86.8	8.5 a
	4%	30	86.8	8.5 a
p valor				0.5403

Similar a lo obtenido en el experimento de Abencor, la Tabla 4.7 informa los resultados de extractabilidad promedio obtenidos para los cultivares cosechados alrededor de los molinos P1 y P2. Los resultados estadísticos mostraron que la extractabilidad del aceite fue significativamente afectada por el cultivar ($p < 0.0001$), MI ($p < 0.0001$), carbonato de calcio ($p < 0.0001$) y la interacción cultivar*MI ($p < 0.0001$). Como se muestra en la Tabla 4.7, no hay efectos sobre el tiempo de batido independientemente de los niveles de CC y MI para cada cultivar tomado de cada beneficio. En comparación con los resultados de Abencor, los aceites P2 proporcionaron resultados similares, a pesar de la escala, sin embargo, para P1, se obtuvo una NE más alta en escala industrial en comparación con los resultados de Abencor.

De los resultados mostrados en la Tabla 4.7 se puede observar que la incorporación de carbonato de calcio en el proceso del aceite de oliva tiene un impacto positivo. La recuperación de aceite se puede mejorar significativamente con ambos niveles de incorporación, 2 y 4%. En cuanto al tiempo de batido, se obtuvo mejoras con la aplicación de carbonato de calcio incluso a los 30 min de batido. Este resultado es muy importante ya que puede conducir a una reducción del tiempo de batido. Hoy en día, el batido se sigue considerando el paso más

importante del proceso de extracción del aceite de oliva y el único paso discontinuo. (Leone et al., 2018, Amarillo et al., 2021).

Hay que tener en cuenta que cuando se bate la pasta heterogénea de aceituna (compuesta por pulpa de aceituna, pepitas, piel de aceituna, agua y aceite de oliva) se realiza en presencia de oxígeno y temperatura (no se recomiendan temperaturas superiores a 30°C para garantizar la calidad del aceite de oliva). Debido al comportamiento heterogéneo de la pasta, a veces se pueden alcanzar temperaturas superiores a los 30°C a pesar de todas las precauciones, lo que repercute en la calidad del aceite. Cualquier reducción de tiempo es beneficiosa porque puede reducir el impacto mencionado, por una exposición más corta a esas temperaturas.

Comparando con los datos informados por Tamborrino (2017), en esta investigación se obtuvieron mayores rendimientos de extracción sin adición de agua. Es importante remarcar que se han podido confirmar a escala industrial los resultados observados en primer lugar a escala de laboratorio en la Planta Piloto de Abencor. Estos resultados son muy prometedores considerando el carbonato de calcio como una ayuda industrial. Como existe carbonato de calcio en Uruguay, no se tiene que importar, es menos dañino para el operador y además los productores podrían reducir los tiempos de mezclado con todos los beneficios que esto trae, como menores costos de energía eléctrica. (Leone et al., 2018), pudiendo realizar más extracciones al día, menor tiempo de espera de aceitunas ya recolectadas para la extracción de aceite, aumentando la capacidad operativa de la planta (Tamborrino, 2017), siendo este punto muy importante para los productores de aceite de oliva. Por este motivo, se realizará el estudio de estabilidad comparando 40 min de batido tradicional con 2% de incorporación de carbonato de calcio y 30 min de batido, como una oportunidad para reducir el gasto energético durante la extracción del aceite de oliva. Los resultados del efecto del carbonato de calcio sobre la calidad sensorial y química de los aceites obtenidos se discuten en las siguientes secciones, en sus respectivos tiempos cero (T0) de almacenamiento.

4.3.3. Resultado del Estudio de estabilidad:

4.3.3.1. Resultados de estabilidad química

La siguiente tabla muestra la influencia del tiempo de almacenamiento, en los análisis químicos y atributos de los aceites estudiados.

Tabla 4.8. Resultados químicos del Estudio de Estabilidad durante 6 meses de almacenamiento (la muestra T0 es la muestra obtenida en almazara, T3 es después de tres meses de almacenamiento y T6 después de seis meses). Letras diferentes indican diferencias significativas según el Test de Tukey ($p < 0,05$).

Cultivar	Tiempo (mes)	Muestra	Acidez (%oleico)	Peroxidos (meqO2/kg)	K232	K270
P1	T0	Control	0.46 a A	2.8 a A	1.2 a A	0.13 a A
		Carb 2%, 30 min	0.47 a A	2.9 a A	1.2 a A	0.13 a A
	T3	Control	0.51 a B	5.5 a B	1.6 a B	0.14 a A
		Carb 2%, 30 min	0.53 a B	5.7a B	1.6 a B	0.13 a A
	T6	Control	0.52 a B	10.9 a C	2.1 a C	0.19 a A, B
		Carb 2%, 30 min	0.53 a B	11.30 a C	2.1 a C	0.18 a A, B
P2	T0	Control	0.32 a A	9.8 b A	1.1 a A	0.18 a A
		Carb 2%, 30 min	0.30 a B	7.1 a A	1.1 a A	0.19 a A
	T3	Control	0.62 b B	12.2 b B	1.9 b A	0.18 a A
		Carb 2%, 30 min	0.60 b B	8.3 a B	1.9 b B	0.20 a A
	T6	Control	0.72 a B	15.9 b C	2.2 a B	0.20 a A
		Carb 2%, 30 min	0.71 a B	10.8 a C	2.2 a C	0.21 a A
p- valor			< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

Del ANOVA de los datos químicos se observa que la acidez, los peróxidos, K232 y K270 fueron afectados significativamente por el tiempo ($p < 0.0001$) pero no se encontró interacción entre tiempo*muestra ($p > 0.05$) respectivamente. Inicialmente en (T0), todos los aceites pertenecían a la calidad virgen extra ya que todos los resultados de los análisis estaban por debajo del límite de calidad establecido por el COI. La evolución de todos los parámetros se debió al tiempo de almacenamiento y se encontró efecto de la incorporación de carbonato de calcio. Incluso después de seis meses de estudio, los resultados de todos los análisis químicos están por debajo del límite establecido por el COI. Se puede concluir que, por calidad química, todos los aceites estudiados en T6 siguen perteneciendo a la categoría virgen extra.

4.3.3.2. Resultados de estabilidad sensorial

La Tabla 4.9 proporciona información sobre el estudio de estabilidad sensorial. Como se esperaba de la literatura (Guillaume et al., 2018, Amarillo et al., 2021), los atributos sensoriales disminuyen durante el almacenamiento.

Tabla 4.9. Resultados sensoriales del estudio de estabilidad durante 6 meses de almacenamiento (muestra T0 es la muestra obtenida en almazara, T3 es después de tres meses de almacenamiento y T6 después de seis meses). Letras diferentes indican diferencias significativas según el Test de Tukey ($p < 0,05$).

Cultivar	Tiempo (mes)	Muestra	Frutado	Amargo	Picante
P1	T0	Control	6.1 a A	2.9 a A	2.9 a A
		Carb 2%, 30 min	6.2 a A	3.1 a A	3.1 a A
	T3	Control	5.8 a A	2.7 a A	2.7 a A
		Carb 2%, 30 min	5.9 a A	2.9 a A	2.9 a A
	T6	Control	4.6 a B	2.0 a B	2.0 a B
		Carb 2%, 30 min	4.6 a B	2.1 a B	2.1 a B
P2	T0	Control	5.8 a A	1.9 a A	2.1 a A
		Carb 2%, 30 min	6.0 a A	2.1 a A	2.1 a A
	T3	Control	5.3 a B	1.9 a A	1.9 a A
		Carb 2%, 30 min	5.5 a A,B	2.1 a A	2.1 a A
	T6	Control	4.2 a C	1.3 a B	1.3 a B
		Carb 2%, 30 min	4.2 a C	1.5 a A,B	1.5 a A,B
p- valor			< 0.0001	0.0001	0.0006

Considerando los resultados sensoriales, el ANOVA muestra que el factor tiempo de almacenamiento afectó significativamente ($p > 0.001$) los atributos positivos frutado, amargo y picante para ambos productores. La interacción muestra*tiempo no afectó significativamente ($p = 0.6713$) ninguno de los atributos sensoriales, por lo que se puede concluir que el tratamiento no tuvo impacto en la vida útil de los aceites estudiados. Las modificaciones en los atributos sensoriales fueron propias del tiempo de almacenamiento de los aceites. Por otro lado, con el tiempo se observa una disminución de los atributos frutado, amargo y picante. Los aceites pertenecieron a la categoría virgen extra hasta T6 (seis meses de almacenamiento). Del T6 sensorial no se encontraron defectos, perteneciente a la categoría virgen extra durante seis meses, considerando especificación sensorial (COI, 2018). Este breve estudio de estabilidad se realizó para profundizar en el conocimiento del comportamiento de la variedad Arbequina, ya que algunos autores como Irigaray (2016), reportaron una

estabilidad corta para esta variedad de aceituna. Los descriptores sensoriales amargo y picante están relacionados con el contenido de polifenoles, dado que ambos atributos no fueron altos, se puede deducir que el contenido de polifenoles podría ser bajo. Los polifenoles están relacionados con la estabilidad de todos los aceites de petróleo (Amarillo et al., 2021; Baccouri et al., 2008), teniendo los aceites de oliva con mayor contenido una mayor estabilidad durante el tiempo de almacenamiento. Estos resultados son positivos ya que la incorporación de carbonato de calcio en la extracción del aceite de oliva no tuvo impacto en la estabilidad del aceite. Se concluye que los aceites obtenidos de la variedad arbequina mediante la incorporación de carbonato de calcio a la pasta de aceituna aumentaron el rendimiento de extracción con tiempos de batido más cortos de lo habitual tanto en planta piloto como en la propia almazara, sin que ello repercutiera en la calidad del aceite obtenidos tanto desde el punto de vista sensorial como fisicoquímico.

4.4. Conclusiones

Esta investigación proporcionó conocimientos profundos sobre el efecto de la aplicación de carbonato de calcio en la extracción de aceite de oliva uruguayo de la variedad Arbequina. Se logró mejorar el rendimiento de extracción de aceite de oliva mediante la aplicación de carbonato cálcico hasta un 7% NUE en laboratorio en la Planta Piloto de Abencor, y también se logró reducir el tiempo de batido. Los mismos resultados se corroboraron en almazaras industriales (valores de NUE de hasta el 12%) destacando el mencionado efecto de la incorporación de carbonato cálcico en los procesos del aceite de oliva. No se observó impacto en la calidad del aceite de oliva por la incorporación de carbonato cálcico al proceso de extracción de aceite de oliva ni en su estabilidad.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) con la colaboración de las siguientes empresas Santa Laura, El Morrito, Paso del Empedrado y Tupercí.

Conclusiones

A partir de los resultados prometedores encontrados en esta tesis, resta hacer una comparación entre el megasonido y el CC. A nivel de laboratorio, comparando los NUE y NE obtenidos entre megasonido y CC, se observa un mejor desempeño para el megasonido, ya que como se reporta en el Capítulo 1, los NUE para el megasonido operando a 400 kHz rondaban oscilan entre 7 y 10%. En cambio, para CC entre 5 y 7%. En escala industrial, aplicando la definición de NUE, el NUE para el megasonido a nivel industrial es de 2%, valor significativamente menos comparado a los NE obtenidos en las almazaras P1 (12-18 %) y P2 (6 a 8 %), por lo que a nivel industrial el CC parecería conducir a mayores recuperaciones de aceite.

A partir de este análisis es que surge la necesidad de estudiar aspectos económicos respecto a la implementación de estas maneras de intervenir el proceso de extracción de aceite de oliva. Para ello se analizará una situación hipotética, ya que un verdadero estudio económico requiere de más elementos que escapan al objetivo de esta tesis.

Para el análisis se plantea el caso de una almazara operando a un caudal de 500 kg/h, 24 hs durante 75 días, simulando una zafra de aceitunas. Los aspectos económicos se detallan en las tablas Tabla 1 para el caso del megasonido y Tabla 2 para el caso del CC. Para determinar el precio de aceite se determinó el precio del promedio de varias marcas de aceite de oliva nacionales que se encuentran en supermercados de gran difusión.

El valor de 180 toneladas se obtuvo de considerar un caudal industrial de 500 kg/h como el de las almazaras en donde se realizaron los estudios para el Capítulo 4. Se consideró el trabajo de zafra operando las 24 hs por un total de 75 días.

Tabla 1. Evaluación económica para el equipo de megasonido.

Planta Típica						
Producción de AOV (toneladas de aceite por año)	180 (0.5 ton fruta por hora; 24 horas por día; 75 días de producción, 20% acei					
precio de Aceite (USD/ton, 18000 USD)	\$ 18.000					
Porcentaje de recuperación (aceite adicional)	3,7%					
	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6
costo de Transductor	-\$ 254.400	0	0	0	\$ -	0
Costo del recipiente (AUD 150,000 acero inoxidable + controles + transductores)	-\$ 404.400	0	0	0	\$ -	0
Gasto Total de capital	-\$ 404.400	\$ -	\$ -	\$ -	\$ -	\$ -
Costo operativo (USD anual)	-\$ 15.000	-\$ 15.000	-\$ 15.000	-\$ 15.000	-\$ 15.000	-\$ 15.000
Retorno Neto (recuperación adicional de aceite,USD/año)	\$ 119.880	\$ 119.880	\$ 119.880	\$ 119.880	\$ 119.880	\$ 119.880
Retorno Neto	-\$ 299.520	-\$ 194.640	-\$ 89.760	\$ 15.120	\$ 120.000	\$ 224.880

Tabla 2. Evaluación económica para la aplicación de carbonato de calcio.

Planta típica						
Producción de AOV (toneladas de aceite por año)	180 (0.5 ton fruta por hora; 24 horas por día; 75 días de producción, 20% acei					
precio de Aceite (USD/ton, 18000 USD)	\$ 18.000					
Porcentaje de recuperación (aceite adicional)	8,0%					
	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6
Costo de Carbonato de Calcio	\$8/kg	0	0	0	\$ -	0
Costo Total de Carbonato de Calcio	-\$ 306.000	0	0	0	\$ -	0
Gasto Total de capital	-\$ 306.000	\$ -	\$ -	\$ -	\$ -	\$ -
Costo operativo (USD anual)	-\$ 5.000	-\$ 5.000	-\$ 5.000	-\$ 5.000	-\$ 5.000	-\$ 5.000
Retorno Neto (recuperación adicional de aceite,USD/año)	\$ 259.200	\$ 25.920	\$ 25.920	\$ 25.920	\$ 25.920	\$ 25.920
Retorno Neto	-\$ 71.800	-\$ 50.880	-\$ 29.960	-\$ 9.040	\$ 11.880	\$ 32.800

A partir de los resultados de este análisis se observa que recién para el 4to año de haber hecho la inversión para el equipo de megasonido se comienza a recuperar la inversión, mientras que el CC promete una recuperación al 5to año de hecha la inversión. Asimismo, un punto a considerar a favor del megasonido es que para el caso su implementación, basta con hacer la inversión una sola vez, operando el equipo sin problemas y no habiendo roturas. Sin embargo, para el carbonato de calcio hay que hacer esa inversión zafra a zafra. Este problema se sortearía con el aprovechamiento y molienda del carbonato de calcio proveniente de canteras naturales que tiene el Uruguay y no por compra a proveedores que lo importan. El precio del carbonato de calcio es de 8 dólares por kg, el cual podría ser reducido de contar con producción nacional.

Es necesario aclarar que para un análisis más exhaustivo del balance económico otros aspectos son necesarios de consideración como el costo del empaquetamiento y mano de obra y otros costos vinculados al transporte del producto terminado a los diferentes puntos de ventas, sin embargo, la presente

evaluación económica permite poner en perspectiva los beneficios y oportunidades que traen los resultados de la presente tesis.

Los resultados de la presente tesis doctoral condujeron a las siguientes conclusiones:

1. El megasonido no actúa por banda de ondas estacionarias sino por otros mecanismos. Fue posible determinar los coeficientes de atenuación de sonido para la pasta de aceitunas.
2. El megasonido puede ser empujado en el proceso de extracción de aceite de oliva y logra aumentar la recuperación de aceite al final de proceso tanto a nivel de laboratorio como a nivel industrial hasta 350 kg/h.
3. La aplicación de ondas de megasonido en la extracción de aceite de oliva no impacta en la calidad sensorial ni la calidad química.
4. Con la aplicación de microondas y su combinación con megasonido fue posible a nivel industrial sustituir el batido discontinuo del proceso de extracción por acondicionamiento térmico de la pasta de aceitunas con microondas, también sin impacto en la calidad de los aceites.
5. El uso de carbonato de calcio en el proceso de extracción de aceite de oliva aumenta la recuperación de aceite al final del proceso y no impacta en la calidad de los aceites obtenidos.
6. Tanto el megasonido, como el microondas y el carbonato de calcio no tiene efecto sobre la vida útil de los aceites obtenidos.

En resumen, en esta tesis se demostraron las posibilidades de intervenir en el proceso de extracción de aceite de oliva de manera favorable

Bibliografía

Aguilera, J.M.; Stanley, D.W. (1999). *Microstructural Principles of Food Processing and Engineering*. (2nd ed.). Gaithersburg: Aspen Publishers.

Ahumada-Orellana, L.E.; Ortega-Farías, S.; Searles, P.S. (2018). Olive oil quality response to irrigation cut-off strategies in a super-high density orchard. *Agricultural Water Management*, 202, 81–88.

Amarillo, M.; Gámbaro, A.; Ellis, A.C.; Irigaray, B.; Lázaro, J.; Tamborrino, A.; Romaniello, R.; Leone, A.; Juliano, P. (2021) Shelf life of extra virgin olive oil manufactured with combined microwaves and megasonic waves at industrial scale. *LWT – Food Science and Technology*, 146, 111345.

Amarillo, M.; Pérez, N.; Blasina, F.; Gámbaro, A.; Leone, A.; Romaniello, R.; Xu, X.Q.; Juliano, P. (2019). Impact of sound attenuation on ultrasound-driven yield improvements during olive oil extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 53, 142–151.

Amirante, P.; Clodoveo, M.L.; Dugo, G.; Leone, A.; Tamborrino, A. (2006). Advance technology in virgin olive oil production from traditional and de-stoned pastes: Influence of the introduction of a heat exchanger on oil quality. *Food Chemistry*, 98(4), 797e805.

Amirante, P.; Clodoveo, M.L.; Tamborrino, A.; Leone, A. (2012). A new designer malaxer to improve thermal exchange enhancing virgin olive oil quality. *Acta Horticulturae*, 949, 455-462.

Amirante, P.; Clodoveo, M.L.; Tamborrino, A.; Leone, A.; Dugo, G. (2012). Oxygen concentration control during olive oil extraction process: a new system to emphasize the organoleptic and healthy properties of virgin olive oil. *Acta Horticulturae*, 949, 473-480.

Andreou, V.; Dimopoulos, G.; Alexandrakis, Z.; Katsaros, G.; Oikonomou, D.; Toepfl, S. (2016). Shelf-life evaluation of virgin olive oil extracted from nonthermal pretreatments for yield increase, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 40, 52-57.

Andrikopoulos, N.K.; Brueschweiler, H.; Felber, H.; Taeschler, Ch. (1991). HPLC analysis of phenolic antioxidants, tocopherols and triglycerides. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68(6), 359-364.

Arias-Sibillote, M. (2021). La olivicultura en las condiciones edafoclimáticas del Uruguay. OLIVAE Uruguay. Consejo Oleícola Internacional, p24-26.

Artajo, L.S.; Romero, M.P.; Tovar, M.J.; Motilva, M.J. (2006) Effect of irrigation applied to olive trees (*Olea europaea* L.) on phenolic compound transfer during olive oil extraction. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 108, 19–27.

Ashokkumar, M. (2011). The characterization of acoustic cavitation bubbles – an overview. *Ultrasonics Sonochemistry* 18, 864–872.

Asociación Española de la Industria y el Comercio Exportador del Aceite de Oliva (ASOLIVA), (2009). Arbequina, generalidades y difusión. <http://www.asoliva.com>.

Asociación Olivícola Uruguay (Asolur), 2021. OLIVAE Uruguay. Consejo Oleícola Internacional. p16-19.

Baccionni, L.; Peri, C. (2019). The extra-virgin olive oil handbook. Ch. 13 - Centrifugal separation, ISBN 978-1-118-46045-0.

Baccouri, O.; Guerfel, M.; Baccouri, B.; Cerretani, L.; Bendini, A.; Lercker, G.; Zarrouk, M.; Ben Miled, D.D. (2008). Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*, 109, 743–754.

Baştürk, A. (2019). Effects of microwave and conventional heating on the oxidative stability of corn oil enriched with different antioxidants. *Grasas y Aceites*, 70(4), e326.

Bendini, A.; Cerretani, L.; Valli, E.; Lercker, G.; Mazzini, C. (2009). Application of analytical methods to determine mildly deodorized olive oils in commercial extra virgin olive oils. *Industrial Alimentations*, 48, 46-51.

Ben-David, E.; Kerem, Z.; Zipori, I.; Weissbein, S.; Basheer, L.; Bustan, A.; Dag, A. (2010). Optimization of the Abencor system to extract olive oil from irrigated orchards. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 1158 – 1165.

Boskou, D. (2006). Olive Oil: Chemistry and Technology (2nd ed.). AOCS Monograph Series on Oilseeds, American Oil Chemists' Society, Illinois, USA.

Bueno, L.; Oviedo, A. (2014). Plantación de Olivo. 1º Ed, San Juan, Ediciones INTA, Cap 2, 8.

Caballero, J.M. (2013). La olivicultura en Iberoamérica. En: *Aceites de oliva: de la planta al consumidor*. Vol. 1 (Grompone, M. A., Villamil, J. Eds.) Hemisferio Sur. Uruguay.

Camposeo, S.; Ferrara, G.; Palasciano, M.; Godini, A. (2012). About the biological behaviour of cultivar 'Coratina'. *Acta Horticulturae*, 949, 129–134.

Canamasas, P.; Ravetti, L.M. (2014). Evaluation of traditional and new processing aids for olive oil extraction. *Acta Horticulturae*, 1057, 677-684.

Caponio, F.; Leone, A.; Squeo, G.; Tamborrino, A.; Summo, C. (2019). Innovative technologies in virgin olive oil extraction process: influence on volatile compounds and organoleptic characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 5594-5600.

Caponio, F.; Monteleone, J.I.; Martellini, G.; Summo, C.; Paradiso, V.M.; Pasqualone, A. (2014). Effect of talc addition on the extraction yield and quality of extra virgin olive oils from Coratina cultivar after production and during storage. *Journal of Oleo Science*, 63(11): 1125-32.

Caponio, F.; Squeo, G.; Curci, M.; Silletti, R.; Paradiso, V.; Summo, C.; Crecchio, C.; Pasqualone, A. (2018). Calcium carbonate effect on alkyl esters and enzymatic activities during olive processing. *Italian Journal of Food Science*, 30. 381-392.

Carrapiso, A.I.; García, A.; Petró, M.J.; Martín, L. (2013). Effect of talc and water addition on olive oil quality and antioxidants. *European Journal of Lipids Science and Technology*, 115, 5, 583-588.

Carrasco-Pancorbo, A.; Cerretani, L.; Bendini, A.; Segura-Carretero, A.; Del Carlo, M.; Gallina-Toschi, T.; Lercker, G.; Compagnone, D.; Fernandez-Gutierrez, A. (2005). Evaluation of the Antioxidant Capacity of Individual Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 8918-8925.

Catania, P., Vallone, M., Pipitone, F., Inglese, P., Aiello, G., & La Scalia, G. (2013). An oxygen monitoring and control system inside a malaxation machine to improve extra virgin olive oil quality. *Biosystems Engineering*, 114(1), 1e8.

Cayuela, J.A.; Gomez-Coca, R.B.; Moreda, W.; Perez-Camino, M.C. (2015). Sensory defects of virgin olive oil from a microbiological perspective. *Trends in Food Science and Technology*, 43, 227-235.

Cert, A.; Alba, J.; Leon-Canacho, M.W.; Perez-Camino, M.C. (1996). Effects of Talc Addition and Operating Mode on the Quality and Oxidative Stability of Virgin Oils Obtained by Centrifugation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3930-3934.

Chanamai, R.; Mc Clements D.J. (1998). Ultrasonic attenuation of edible oils. *Journal of the American Oil Chemists ' Society*, 75, 10, 1998, 1447-1448.

Chang, A.C.; Chen, F.C. (2002). The application of 20 kHz ultrasonic waves to accelerate the aging of different wines. *Food Chemistry*, 79, 501–506.

Cherubini, C. ; Migliorini, M. ; Mugelli, M. ; Viti, P. ; Berti, A. ; Cini, E. (2009). Towards a technological ripening index for olive oil fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 671–682.

Chiacchierini, E.; Mele, G.; Restuccia, D.; Vinci, G. (2007). Impact evaluation of innovative and sustainable extraction technologies on olive oil quality. *Trends in Food Science & Technology*, 18(6), 299-305.

Civantos, L. (2008). La olivicultura en el mundo y en España. En: *El cultivo del olivo*. (Barranco, D., Fernández-Escobar, R. Rallo, L. 6^{ta} Ed. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. pg. 17-35.

Clodoveo, M. L. (2021). Malaxation: Influence on virgin olive oil quality. Past, present and future – An overview. *Trends in Food Science & Technology*, 25, 13e23.

Clodoveo, M.L.; Dipalmo, T.; Schiano, C.; La Notte, D.; Pati, S. (2014). What's now, what's new and what's next in virgin olive oil elaboration systems? A perspective on current knowledge and future trends. *Journal of Agricultural Engineering*, 45, 49–59.

Clodoveo, M.L.; Hachicha Hbaieb, R. (2013). Beyond the traditional virgin olive oil extraction systems: searching innovative and sustainable plant engineering solutions. *Food Research International*, 54, 1926–1933.

Comisión de Vecinos del Barrio Atahualpa. (2007). El Arroyo Miguelete; su protagonismo durante los siglos XVIII y XIX. Montevideo. https://www.barrioatahualpa.com/seccion_historia/1_miguelete.html

Conde-Innamorato, P.; García, C.; Villamil, J.J.; Ibáñez, F.; Zoppolo, R.; Arias-Sibillotte, M.; Ponce De León, I.; Borsani, O.; García-Inza, G.P. (2022). The Impact of Irrigation on Olive Fruit Yield and Oil Quality in a Humid Climate. *Agronomy*, 12, 313.

Consejo Oleícola Internacional. Costos de producción de aceite de oliva internacional. <http://www.internationaloliveoil.org/documents/index/1815-international-olive-oil-production-costs-study>.

Conde-Innamorato P.; Arias-Sibillotte M.; Villamil J.J.; Bruzzone J.; Bernaschina, Y.; Ferrari, V.; Zoppolo, R.; Villamil, J.; Leoni, C. (2019). It Is Feasible to Produce Olive Oil in Temperate Humid Climate Regions. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1544.

Cruz, S. ; Yousfi, K. ; Pérez, A.G. ; Mariscal, C. ; García, J.M. (2007). Salt improves physical extraction of olive oil. *European Food Research and Technology*, 225, 359–365.

Dentel, S.K. (1991). Coagulant control in water treatment. *Critical Reviews in Environmental Control*, 21, 41–135.

Dirección de Investigación y Estadística Agropecuaria. Encuesta a productores de olivos 2021. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/noticias/diea-presenta-resultados-encuesta-productores-olivos-2021>.

Di Giovacchino, L. (1991). L'estrazione dell'olio con la centrifugazione diretta delle paste di olive. Nota I: influenza della gramolazione. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 68, 314–320.

Difonzo, G.; Fortunato, S.; Tamborrino, A.; Squeo, G.; Bianchi, B.; Conio, F. (2021). Development of a modified malaxer reel: Influence on mechanical

characteristic ad virgin olive oil quality and composition. *LWT – Food Science and Technology*, 135, 110290.

Di Serio, M.G.; Giansante, I.; Di Loreto, G.; Di Giacinto L. (2018). Shelf life of extra- virgin olive oils: First efforts toward a prediction model. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42, e13663.

Ellis, A.C.; Gámbaro, A. (2018) Characterisation of Arbequina Extra Virgin Olive Oil from Uruguay. *Journal of Food Research*, 7, 79-90.

Espejo, J. (2005). Estudio analítico comparado entre el aceite de acebuchina y el aceite de oliva virgen. (en línea). Tesis PhD. Sevilla, España. Facultad de Química. 338 p.

Espínola, F.; Moya, M.; Fernández, D.G.; Castro, E. (2009). Improved extraction of virgin olive oil using calcium carbonate as coadjuvant extractant. *Journal of Food Engineering*, 92, 112–118.

Esposito, S.; Veneziani, G.; Taticchi, A.; Selvaggini, R.; Urbani, S.; Di Maio, I.; Servili, M. (2013). Flash thermal conditioning of olive pastes during the olive oil mechanical extraction process: Impact on the structural modifications of pastes and oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(20), 4953–4960.

Espínola, F.; Moya, M.; Fernandez, D.G.; Castro, E. (2009). Improved extraction of virgin olive oil using calcium carbonate as coadjuvant extractant. *Journal of Food Engineering*, 92, 112-118.

Fernandes, G.; Ellis, A.C.; Gámbaro, A.; Barrera-Arellano, D. (2018). Sensory evaluation of high-quality virgin olive oil: panel analysis versus consumer perception. *Food Science*, 21, 66-71.

Fernández Gutiérrez, A.; Segura Carretero, A. (2010). El Aceite de Oliva Virgen: Tesoro de Andalucía 13 perspectivas concatenadas. Fundación Unicaja.

Fernández, D.G.; Espínola, F.; Moya, M. (2008). The influence of different technological coadjuvants on the quality and yield of virgin olive oil using response surfaces methodology. *Grasas y Aceites*, 59, 39–44.

Franco, M.N.; Galeano-Díaz, T.; Sanchez, J.; De Miguel, C. Martín-Vertedor D. (2014). Antioxidant capacity of the phenolic fraction and its effect on the oxidative stability of olive oil varieties grown in the southwest of Spain. *Grasas y Aceites*, 65(1), e004.

Franco, M.N.; Sánchez, J.; De Miguel, C.; Martínez, M.; Martín-Vertedor, D. (2015). Influence of the Fruit's Ripeness on Virgin Olive Oil Quality. *Journal of Oleo Science*, 64(3), 263-273.

Gámbaro, A. (2021). What does the Uruguayan consumer look for in an olive oil? *Olivae. International Olive Oil Council's magazine*, 128, 53-54

Gámbaro, A.; Ellis, A.C., Raggio, L. (2013). Virgin Olive acceptability in emerging olive oilproducing countries. *Food and Nutrition Sciences*, 4(10): 1060-1068.

García-Limones, C.; Benítez, Y.; Hernández, P.; Martín, A.; Del Río Rincón, C.; Caballero, J.; Rapoport, H.; Caballero, J.L.; Muñoz-Blanco, J.; Dorado, G. (2007). La floración del olivo clonación, cuantificación de la expresión génica y análisis del polimorfismo entre cultivares de los genes leafy y apetala. Congreso de la Cultura del Olivo, Jaén, Instituto de Estudios Giennenses. pp. 603- 610.

Gómez-Coca, R.B.; Moreda, W.; Pérez-Camino, M. C. (2012). Fatty acid alkyl esters presence158ipening158t oil vs. organoleptic assesment. *Food Chemistry*, 135, 1205- 1209.

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

Gorga, L.; Ackerman, M. N. (2021). Cadena de aceite de oliva en Uruguay: análisis de La oferta y demanda. OLIVAE Uruguay. Consejo Oleícola Internacional, pp13-16.

Guillaume, C. ; Ravetti, L. (2016). Shelf-Life Prediction of Extra Virgin Olive Oils Using an Empirical Model Based on Standard Quality Tests. *Journal of Chemistry*, vol 2016, 1-7.

Hartmann, H.T. Bougas P.C. (1970). Olive production in Greece. *Economic Botany*, 7. 24:443.

Hermoso, M.; Uceda, M.; García-Ortiz, A.; Morales, J.; Frías, L.; Fernández, A. (1998). Elaboración de aceite de oliva de calidad. Obtención por el sistema de dos fases. Junta de Andalucía, Sevilla.

Historia del Barrio Manga. (2011). Revista Raíces, Montevideo, UY, s.f. s.p. http://www.raicesuruguay.com/raices/barrio_manga.html

Hutchison, P.R.; Healy, T.W. (1990). Coagulation and Flocculation–Destabilizing practices (with particular reference to metal ion coagulants). In: *Surface and Colloid Chemistry in Natural Waters and Water Treatment*. Ed. Plenum Press, New York, pp. 119–134.

International Olive oil Council (2011). Guide for the determination of the characteristics of oil olives. COI/OH/Doc. N°1.

International Olive oil Council (2007). Guide for the instalation of a test room. COI/T.20/Doc. No 6/Rev.1.

International Olive Council (2017a). Determination of biophenols in olive oils by HPLC. COI/T.20/Doc. No 29/Rev.1.

International Olive Council. (2017b). Determination of free fatty acids, cold method. COI/T.20/Doc. No 34/Rev.1.

International Olive Council. (2017c). Determination of peroxide value. COI/T.20/Doc. No 35/Rev.1.

International Olive Council. (2017d). Determination of the content of waxes, fatty acid methyl esters and fatty acid ethyl esters by capillary gas chromatography. COI/T.20/Doc. No 28/Rev.2.

International Olive Council. (2018). Sensory analysis of olive oil ripening for the organoleptic assessment of virgin olive oil. COI/T.20/Doc. No 15/Rev.10.

International Olive Council. (2019a). Spectrophotometric investigation in the ultraviolet. COI/T.20/Doc. No 19/Rev.5.

International Olive Council. (2019b). Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils. COI/T.15/NC No 3/Rev.15.

Irigaray, B.; Martinez, N.; Feller, C.; Amarillo, M.; Grompone, M. A. (2016). Shelf Life of Monovarietal Extra Virgin Olive Oils Cv. *Arbequina* and *Coratina*. *Journal of Food Research*, 5(5), 88-94.

Janick., J. (2011). Factors affecting extra virgin olive oil composition. *Horticultural Reviews*, Volume 38, Willey-Blackwell, p97.

Jiao, J.; Qing-Yan, G.; Yu-Jie, F.; Yuan-Gang, Z.; Meng, L.; Chun-Jian, Z.; Chun-Ying, L. (2013). Microwave-assisted ionic liquids treatment followed by hydro-distillation for the efficient isolation of essential oil from *Fructus forsythiae* seed. *Separation and Purification Technology*, 107, 228-237.

Jiménez, B.; Sánchez-Ortiz, A.; Lorenzo, M.L.; Rivas, A. (2013). Influence of fruit ripening on agronomic parameters, quality indices, sensory attributes and phenolic compounds of Picudo olive oils. *Food Research International*, 54,1860-1867.

Juliano, P.; Augustin, M.A.; Xu, X.-Q.; Mawson, R.; Knoerzer, K. (2017a). Advances in high frequency ultrasound separation of particulates from biomass. *Ultrasonics Sonochemistry*, 35, 577–590.

Juliano, P.; Balczyk, F.; Swiergon, P.; Supriyatna, M.I.M.; Guillaume, C.L.; Ravetti, C.; Canamasas, P.; Cravotto, G.; Xu, X.-Q. (2017b). Extraction of olive oil assisted by high-frequency ultrasound standing waves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 104–114.

Juliano, P.; Swiergon, P.; Mawson, R.; Knoerzer, K.; Augustin, M.A. (2013). Application of ultrasound for oil separation and recovery of palm oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 90, 579–588.

Katsoyannos, E.; Batrinou, A.; Chatzilazarou, A.; Bratakos, S.M.; Stamatopoulos, K.; Sinanoglou, V.J. (2015). Quality parameters of olive oil from stoned and nonstoned Koroneiki and Megaritiki Greek olive varieties at different maturity levels. *Grasas y Aceites*, 66 (1), e067.

Kino, G.S. (1988). *Acoustic Waves: Devices, Imaging, and Analog Signal Processing*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA.

Koprivnjak, O.; Brkic Bubola, K.; Kosi, U. (2016). Sodium chloride compared to talc as processing aid has similar impact on volatile compounds but more favorable on ortho-diphenols in virgin olive oil. *European Journal Lipid Science Technology*, 118, 318-324.

Koubaa, M.; Houcine Mhemdi, Barba, F.J.; Roohinejad, S.; Greiner, R.; Vorobiev, R. (2016). Oilseed treatment by ultrasounds and microwaves to improve oil yield and quality: An overview. *Food Research International*, 85, 59–66.

Lavee, S. (2007). Biennial bearing in olive (*Olea europaea*). *Annales Series Historia Naturalis*, 17, 101–112.

Leighton, T.G. (1995). Bubble population phenomena in acoustic cavitation, *Ultrasonics Sonochemistry*, 2, 123-136.

Leone, A.; Esposto, S.; Tamborrino, A.; Romaniello, R.; Taticchi, A.; Urbani, S.; Servili, M. (2016). Using a tubular heat exchanger to improve the conditioning process of the olive paste: Evaluation of yield and olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118(2), 308–317.

Leone, A.; Romaniello, R.; Tamborrino, A. (2013). Development of prototype for extra virgin olive oil storage, with online control system of the nitrogen injected. Transaction of the Asabe. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 56(3), 1017e1024.

Leone, A.; Romaniello, R.; Tamborrino, A.; Urbani, S.; Servili, M.; Amarillo, M.; Grompone, M.A.; Gámbaro, A.; Juliano, P. (2018). Application of microwaves and megasonics to olive paste in an industrial olive oil extraction plant: impact on virgin olive oil quality and composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120, 1700261, 1-8.

Leone, A.; Romaniello, R.; Tamborrino, A.; Xu, X-Q.; Juliano, P. (2017). Microwave and megasonics combined technology for a continuous olive oil process with enhanced extractability. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 42, 56-63.

Leone, A.; Tamborrino, A.; Romaniello, R.; Zagaria, R.; Sabella, E. (2014). Specification and implementation of a continuous microwave-assisted system for paste malaxation in an olive oil extraction plant. *Biosystems Engineering*, 125, 24-35.

Leone, A.; Tamborrino, A.; Zagaria, R.; Sabella, E.; Romaniello, R. (2015). Plant innovation in the olive oil extraction process: A comparison of efficiency and energy consumption between microwave treatment and traditional malaxation of olive pastes. *Journal of Food Engineering*, 146, 44–52.

Leong, T.; Johansson, L.; Juliano, P.; McArthur, S.L.; Manasseh, R. (2017). Ultrasonic separation of particulate fluids in small and large scale systems: a review. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52, 16555–16576.

Leong, T.; Knoerzer, K.; Trujillo, F.J.; Johansson, L.; Manasseh, R.; Barbosa-Canovas, G.V., Juliano, P. (2015). Megasonic separation of food droplets and particles: design considerations. *Food Engineering Reviews*, 7, 298–320.

Leoni, C. ; Bruzzzone, J. ; Villamil, J.J. ; Martínez, C. ; Montelongo, M.J. ; Bentancur, O., et al. (2018). Percentage of anthracnose (*Colletotrichum acutatum* s.s.) acceptable in olives for the production of extra virgin olive oil. *Crop Protection*, 108, 47–53.

Li, X.; Martínez-Padilla, L.P.; Xu, X.Q.; Zisu, B.; Juliano, P. (2018). Heating and megasonic interventions for improvement of aqueous-based oil extraction from fresh and cold stored coconut meat. *Journal of Food Engineering*, 222, 93-99.

Loukas, M.; Krimbas C. B. (1983). History of olive cultivars based on their genetic distances. *Journal Horticultural Science*, 58:121 (1983).

Lozano-Sanchez, J.; Bendini, A.; Quirantes-Piné, R.; Cerretani, L.; Segura-Carretero, A.; Fernandez-Gutierrez, A. (2013). Monitoring the bioactive compounds status of extra-virgin olive oil and storage by-products over the shelf life. *Food Control*, 30, 606-615.

Martínez, J.R.; Villarino, A.; Serrano, L.; Lezcano, C.; Urriale de Andrés, R.; Sánchez, F.J.; Castro, M.J.; Cao, M.J. (2005). El aceite de oliva en España; una breve historia. (en línea). In: Pinto, J.A.; Martínez, J.R. eds. *Nutrición y salud. El aceite de oliva y la dieta mediterránea*. Madrid, España. cap. 7, pp. 7-24.

Martínez, N.; Segura, N.; Amarillo, M.; Irigaray, B.; Grompone, M.A. (2017) Extracción de aceite virgen de palta (*Persea americana* Mill.) en una planta piloto Abencor: Influencia del grado de madurez post cosecha. *Aceites y Grasas*, 3, 464-469

Martínez Suárez, J. M.; Muñoz Aranda, E.; Alba Mendoza, J.; Lanzón Rey, A. (1975). Informe sobre utilización del analizador de rendimiento “Abencor”. *Grasas y Aceites*. 26 (6), 379-385.

Martinez-Padilla, L.P.; Frankie, L.; Xu, X-Q.; Juliano, P. (2018). Improved extraction of avocado oil by application of sono-physical processes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 40, 720–726.

Mercado Olivarero del Uruguay Sociedad Anónima. (1950). La industria olivarera. Montevideo, Talleres Gráfico Sur, p 104.

Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (Diciembre, 2020). Estadísticas Agropecuarias. Censo de Productores de Olivos, Serie Trabajos Especiales, N° 364.

Misra, N.N.; Koubaa, M.; Roohinejad, S.; Juliano, P.; Alpas, H.; Inácio, R.S.; Saraiva, J.A.; Barba, F. J. (2017). Landmarks in the historical development of twenty first century food processing technologies. *Food Research International*, 97, 318–339.

Moreira, V.; Alaniz, S. (2021). La Antracnosis en Uruguay. OLIVAE Uruguay. Consejo Oleícola Internacional, pp 35-37.

Moya, M.; Espínola, F.; Fernández, D.G.; De Torres, A.; Marcos, J.; Vilar, J.; Josue, J.; Sánchez, T.; Castro, E. (2010). Industrial trials on coadjuvants for olive oil extraction. *Journal of Food Engineering*, 97, 57-63.

Muñoz, J.E. (1992). Monumentos verdes de la ciudad de Montevideo. Montevideo, IMM, p 304.

Navarro, C.; Parra, M. A. (2008). Plantación. En: *El cultivo del olivo*. (Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L.) 6^{ta} Ed. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. pg. 189-238.

Nemerow, N.L.; Dasgupta, A. (1991). *Industrial and Hazardous Waste Treatment*. Ed. Van Nostrand Reinhold, New York.

Novoa-Díaz, D.; Rodríguez-Nogales, J.M.; Fernández-Fernández, E.; Vila-Crespo, J.; García-Álvarez, J.; Amer, M.A.; Chávez, J.A.; Turó, A.; García-Hernández, M.J.; Salazar, J. (2014). Ultrasonic monitoring of malolactic fermentation in red wines. *Ultrasonics*, 54, 1575–1580.

Ojha, K.S.; Mason, T.J.; O'Donnell, C.P.; Kerry, J.P.; Tiwari, B.K. (2017). Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 410-417.

Pereira, J.; Bernal, J.; Martinelli, L.; Villamil, J.J.; Conde, P. (2018). Original olive genotypes found in Uruguay identified by morphological and molecular markers. *Acta Horticulture*, 1199, 7–14.

Pérez-Camino, M.C.; Moreda, W.; Mateos, R.; Cert., A. (2002). Determination of esters of fatty acids with low molecular weight alcohols in olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4721-4725.

Pérez, A.G.; Romero, C.; Yousfi, K.; García, J.M. (2008). Modulation of Olive Oil Quality Using NaCl as Extraction Coadjuvant. *Journal of the American Oil Chemists'Society*, 85(7): 685-691

Petursson, S.; Decker, E.A.; McClements, D.J. (2004). Stabilization of oil-in-water emulsions by cod protein extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3996–4001.

Puértolas, E.; Luengo, E.; Álvarez, I.; Raso, J. (2012). Improving Mass Transfer to Soften Tissues by Pulsed Electric Fields: Fundamentals and Applications. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1), 263–282.

Puértolas, E.; Martínez, I. (2015). Olive oil pilot-production assisted by pulsed electric field: Impact on extraction yield, chemical parameters and sensory properties. *Food Chemistry*, 167, 497-502.

Rallo, L.; Barranco, D.; Castro-García, S.; Connor, D.J.; Gómez del Campo, M.; Rallo, P. (2013). High-Density Olive Plantations. In: *Horticultural Reviews*, vol. 41. Ed. Janick, J. Hoboken (New Jersey, USA: John Wiley and Sons, Inc.)

Ranalli, A.; De Mattia, G. (1997). Characterization of olive oil produced with a new enzyme processing aid. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 74:1105-1113

Ranalli, M.; Ferrante, L.; De Mattia, G.; Costantini, N. (1999). Analytical Evaluation of Virgin Olive Oil of First and Second Extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 417-424.

Ranalli, A.; Pollastri, L.; Contento, S.; Iannucci, E.; Lucera, L. (2003). Effect of olive paste kneading process time on the overall quality of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105, 57e67.

Rapoport, H.F. (2008). Botánica y morfología. En: *El cultivo del olivo*. (Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L.) 6^{ta} Ed. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. pg. 39-61.

Reboredo-Rodríguez P.; González-Barreiro C.; Cancho-Grande B.; Fregapane G.; Salvador M.D.; Simal-Gándara J. (2015) Characterisation of extra virgin olive oils from Galician autochthonous varieties and their co-crushings with Arbequina and Picual cv. *Food Chemistry*, 1, 176:493-503.

Romaniello, R.; Tamborrino, A.; Leone, A. (2019). Use of Ultrasound and Pef Technologies Applied to the Olive Oil Extraction Process. *Chemical Engineering Transactions*, 75, 13-18.

Samaniego-Sanchez, C.; Quesada-Granados, J.J.; Lopez-Garcia de la Serrana, H.; Lopez-Martinez, M.C. (2010). β -carotene, squalene and waxes determined by chromatographic method in picual extra virgin olive oil obtained by a new cold extraction system. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 671-676.

Segura, N.; Amarillo, M.; Martínez, N.; Grompone, M.A. (2018) Improvement in the extraction of Hass avocado virgin oil by ultrasound application. *Journal of Food Research*, 7(2), 106-113.

Selvaggini, R.; Esposto, S.; Taticchi, A.; Urbani, S.; Veneziani, G.; Di Maio, I.; Sordini, B.; Servili, M. (2014). Optimization of the temperature and oxygen concentration conditions in the malaxation during the oil mechanical extraction process of four Italian olive cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(17), 3813–3822.

Squeo, G.; Difonzo, G.; Summo, C.; Crecchio, C.; Caponio, F. (2020) Study of the influence of technological coadjuvants on enzyme activities and phenolic and volatile compounds in virgin olive oil by a response surface methodology approach, *LWT - Food Science and Technology*, 133, 109887.

Squeo, G.; Silletti, R.; Summo, C.; Paradiso, V.M.; Pasqualone, A.; Caponio, F. (2016). Influence of calcium carbonate on extraction yield and quality of extra virgin oil from olive (*Olea europaea* L. cv. Coratina). *Food Chemistry*, 209, 65-71.

Swiderska-Bróz, M. (1991). On the manifold role of lime coagulation. *Water Science and Technology*, 24, 247–253.

Taticchi, A.; Esposto, S.; Servili, M. (2013). The Basis of the Sensory Properties of Virgin Olive Oil. *Olive Oil Sensory Science*, pp33–54.

Tamborrino, A. (2014). Olive paste malaxation. In C. Peri (Ed.) *The extra-virgin olive oil handbook*. UK: John Wiley & Sons, Ltd. 127-138.

Tamborrino, A.; Catalano, P.; Leone, A. (2014). Using an in-line rotating torque transducer to study the rheological aspects of malaxed olive paste. *Journal of Food Engineering*, 126, 65–71.

Tamborrino, A.; Leone, A.; Romaniello, R.; Catalano, P.; Bianchi, B. (2015). Comparative experiments to assess the performance of an innovative horizontal centrifuge working in a continuous olive oil plant. *Biosyst. Eng.* 129, 160-168.

Tamborrino, A.; Pati, S.; Romaniello, R.; Quinto, M.; Zagaria, R.; Leone, A. (2014b). Design and implementation of an automatically controlled malaxer pilot plant equipped with an in-line oxygen injection system into the olive paste. *Journal of Food Engineering*, 141, 1–12.

Tamborrino, A.; Romaniello, R.; Caponio, F.; Squeo, G., Leone, A. (2019). Combined industrial olive oil extraction plant using ultrasounds, microwave, and heat exchanger: Impact on olive oil quality and yield. *Journal of Food Engineering*, 245, 124–130.

Tamborrino A.; Romaniello, R.; Zagaria, R.; Leone, A. (2014). Microwave-assisted treatment for continuous olive paste conditioning: Impact on olive oil quality and yield. *Biosystems Engineering*, 127, 92-102.

Tamborrino, A.; Squeo, G.; Leone, A.; Paradiso, V.M.; Romaniello R.; Summo, C.; Pasqualone, A.; Catalano, P.; Bianchi, B.; Caponio, F. (2017). Industrial trials on coadjuvants in olive oil extraction process: Effect on rheological properties, energy consumption, oil yield and olive oil characteristics. *Journal of Food Engineering*, 10.1016/j.jfoodeng.2017.02.019.

Terefe, N.S.; Sikes, A.L.; Juliano, P. (2016). Ultrasound for Structural Modification of Food Products. In K. Knoerzer, P. Juliano, & G. Smithers (Eds.), *Innovative Food Processing Technologies, Extraction, Separation, Component Modification and Process Intensification*. (pp. 209-230). Amsterdam: Woodhead Publishing.

Tous, J.; Villamil, J.; Hermoso, J.; Albín, A. (2005). El olivo en Uruguay. *Olivae*, 103, 56–61.

Tovar, M.J.; Romero, M.P.; Alegre, S.; Girona, J., Motilva, M.J. (2002). Composition and organoleptic characteristics of oil from Arbequina olive (*Olea europaea* L.) trees under deficit irrigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 1755–1763.

Trujillo, I.; Barranco, D. (2004). Botánica. Córdoba, Universidad de Córdoba. Departamento de Agronomía. 14p.

Trujillo, F.J.; Juliano, P.; Barbosa-Cánovas, G.; Knoerzer, K. (2014). Separation of suspensions and emulsions via ultrasonic standing waves. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 2151–2164.

Uruguay XXI (2017) Oportunidades de exportación de aceite de oliva. Promoción de inversiones y exportaciones.

Veillet, S.; Tomao, V.; Chemat, F. (2010). Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatization of olive oil with basil. *Food Chemistry*, 123, 905–911.

Xie, J.H.; Vanneste, J. (2014). Dynamics of a spherical particle in an acoustic field: a multiscale approach. *Physics of Fluids*, 26, 102001.

Zotter, K.; Licskó, I. (1992). Coagulation and Flocculation in alkaline media – the role of Ca^{2+} and Mg^{2+} ions. Chem. In: *Water Wastewater Treat.* II. Proceedings of Gothenburg Symposium, fifth ed. Springer, Berlin, pp. 47–64.