

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUYO

**FACULTAD DON BOSCO DE ENOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA
ALIMENTACIÓN**

LICENCIATURA EN TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

Elaboración de Aceite de Oliva Virgen Extra variedad Arauco geolocalizada
Relación del índice de madurez y el contenido de Biofenoles

Luciano Nicolás Arrigo

Profesores

Asesor: Lic. Lourdes Toujas

Revisión formal: Mgter. Elena Caliguli

Tipo de trabajo: Trabajo Final

Lugar: Mendoza, Maipú, Rodeo del Medio.

Defensa oral

Libro: 019...Folio N°: 008...Acta N°: 008. -

Fecha: 16 de marzo de 2023. -

Calificación: Aprobado excelente! -

Tribunal examinador:



Mgter. Ing. ELENA ESTER CALIGULI
SECRETARIA ACADÉMICA
FACULTAD DON BOSCO DE ENOLOGÍA
Y CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CIUDAD

AGRADECIMIENTOS

Quiero empezar agradeciendo a mi profesora, guía, referente, directora y compañera laboral, la Lic. Lourdes Toujas, por la confianza depositada en mí y darme la oportunidad de llevar a cabo este trabajo, por la ayuda y permanente predisposición, por contagiarme de la pasión por este rubro y enseñarme día a día.

A toda mi familia por ayudarme a hacer que todo esto sea posible y dedicarles este trabajo, a mis padres Adelina y Santiago, que me han apoyado incondicionalmente a lo largo de la vida, por ser los pilares fundamentales de mi educación y valores, que todo con dedicación y esfuerzo rinde frutos. A mi amor y compañera de vida Milagros, por darme el cariño y la confianza de seguir para adelante, por ayudarme en todo y mostrarme que no hay que bajar los brazos.

A la Facultad Don Bosco por abrirme sus puertas, darme la posibilidad de estudiar y aprender lo que me apasiona, a directivos y profesores, especialmente al señor Decano Ing. Raúl Tornello y a la Mgter. Elena Caliguli.

Al sector productivo de la Obra Don Bosco de Rodeo del Medio en el cual trabajo y me permitieron llevar adelante esta tarea.

Quiero destacar que este estudio se hizo en marco del trabajo de investigación “Estudio de contenido de biofenoles: tirosol, hidroxitirosol y oleocantal en Aceite de Oliva Virgen Extra Variedad Arauco”, llevado a cabo por el Centro de Investigación, Desarrollo, Extensión y Servicios “Padre Francisco Oreglia” de la Facultad Don Bosco de Enología y Ciencias de la Alimentación-Universidad Católica de Cuyo, junto con la unidades académicas como la Facultad de Ciencias Químicas y Tecnológicas de San Juan, y el PLAPIQUI, de la Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. Por lo tanto agradecer a la Directora del Proyecto Susana Mattar y al equipo de trabajo integrado por Lourdes Toujas; Virginia Borroni; Erica Baumler; Daniela Ramírez y Laura Arévalo.

INTRODUCCIÓN

En Argentina la obtención de Aceite de Oliva Virgen Extra “AOVE” forma parte de un sector que solicita mayor conocimiento para poder valorizar su producción, desde el punto de vista de la calidad nutricional, asociada a un proceso productivo de excelencia. El objetivo de este trabajo es el estudio de la elaboración de AOVE de la variedad Arauco, originaria de Argentina, relacionando su composición biofenólica con el índice de madurez y determinando, de acuerdo a los datos obtenidos, si se considera un alimento funcional según el reglamento oficial de la Unión Europea, ya que además de proporcionar nutrientes necesarios para satisfacer los requerimientos metabólicos y nutricionales del individuo, contiene otros componentes, en especial tirosol, hidroxitirosol y oleocantal., que ejercen efectos beneficiosos para el organismo.

La obtención del AOVE analizado, de la variedad Arauco geolocalizada, se llevó a cabo en las instalaciones de la Almazara Don Bosco, ubicada en la ruta Nacional n° 50 de Rodeo del Medio, Maipú, Mendoza. La producción se realizó bajo condiciones controladas de tiempo y temperatura, tomando muestras del aceite en tres temporadas diferentes, 2019, 2020 y 2021.

Para la evaluación de la materia prima y su índice de madurez, se tomaron muestras significativas de aceitunas utilizadas para la obtención del AOVE, provenientes de productores geolocalizados de la zona.

Las determinaciones de biofenoles totales, oleocantal, tirosol e hidroxitirosol se realizaron aplicando metodología recomendada por el COI en la Planta Piloto de Ingeniería Química – PLAPIQUI (UNS-CONICET) y Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina. Todas las muestras clasificaron como AOVE, de acuerdo a la Norma Comercial del COI.

Con los datos conseguidos podemos analizar las características propias del aceite de acuerdo a la zona y a la temporada, como así poder ver la relación que hay entre ellas y determinar lo representativo del AOVE de la variedad Arauco geolocalizada.

CAPÍTULO 1: HISTORIA

1.1 La Olivicultura en la Argentina

El primer olivo fue introducido al actual territorio argentino desde Perú y Chile hasta La Rioja por la expedición presidida por el capitán don Pedro de Alvarado, en el año 1558.

Como producto de la cruce de variedades provenientes de la cuenca mediterránea, surge la Arauco, la única registrada como original para Argentina.

En el siglo XVIII España mandó a erradicar todos los olivares del Virreinato, pero se logró salvar uno, el olivo más antiguo de Argentina, en la villa de Aimogasta, en el departamento de Arauco, provincia de La Rioja y desde allí resurge la olivicultura Argentina con una fuerte identidad regional.

En el siglo XIX durante el gobierno de Domingo Faustino Sarmiento, en 1863, se elabora un plan económico para hacer frente a la crisis del país, dentro del cual una de las prioridades era el desarrollo de la actividad olivícola, que produjo un fuerte progreso del sector.

Figura 1:*Olivo Cuatricentenario¹*

Posteriormente, ya en el siglo XX se fomentó el cultivo del olivo en Argentina con la promulgación de la Ley 11643 de Promoción del Cultivo del Olivo en 1932, que permitió la expansión del olivo, sobre todo en Cuyo.

Durante las décadas del 50 y 60 se afianza la industria olivícola, con la promulgación de nuevas leyes nacionales en apoyo de la actividad, lo que provoca la instalación de varios establecimientos procesadores de aceitunas en conservas y fábricas de aceite, todas con máquinas importadas y nacionales.

En la década del 70 se agrava la situación del sector olivícola por una fuerte campaña publicitaria en contra del consumo de AOVE, que lo considera como un

¹ El Olivo Cuatricentenario fue declarado en 1946 Árbol Histórico, y en 1980, Monumento Histórico Nacional. Este Arauco figura en el Catálogo mundial de variedades de olivo, publicado por el Consejo Oleícola Internacional (COI).

Fuente: <https://www.todoargentina.net/geografia/provincias/larioja/flora.html>

producto “malo” para el organismo, debido a su presunto alto contenido de colesterol.

Hacia mediados de la década de 1990, el contexto internacional favorable para la olivicultura debido al aumento de los precios internacionales para el AOVE, ligado a la reducción de la producción por condiciones de sequía en la cuenca del Mediterráneo, la percepción de un cambio de la Política Agrícola Europea con el consecuente compromiso de reducir los subsidios y la posibilidad de aplicar la ley de diferimiento impositivo, ubicaron al olivo en una situación de privilegio frente a las demás alternativas productivas.

1.2 La olivicultura en Mendoza

Los inicios de la olivicultura mendocina se remontan a poco de iniciada la fundación de Mendoza, donde comenzaron los intentos por asentar los primeros olivos tan apreciados por españoles y religiosos.

Durante los siglos XVII y XVIII la mayor parte de la producción de aceituna se dedicaba a conservación en salmuera, como indicaban los viajeros, al incluir las aceitunas entre los productos “exportados” desde Mendoza a otras provincias.

A principios de 1800 se realizaron plantaciones a cierta escala, allí fue cuando se inició formalmente la olivicultura en la provincia, y las plantaciones tomaron las características de verdaderas explotaciones olivícolas. En 1897 se dicta la Ley N° 39 sobre Plantación y Fomento de Bosques, que proporciona una serie de normativas que facilita la formación de una nueva industria, logrando que

propietarios de la región inicien el resurgimiento de tan importantes plantaciones, con variedades de olivos especiales para la elaboración de AOVE, obteniéndose resultados muy satisfactorios.

En 1932, se dictó la Ley N° 11643 de Fomento de la Agricultura. En ella se indicaban departamentos de cada provincia considerados aptos para el cultivo del olivo, y su reglamentación, además, estableció zonas apropiadas para la actividad y se impusieron fuertes tasas aduaneras a la importación de productos, lo que redundó en el crecimiento del sector.

Enrico Tittarelli, uno de los fundadores de la olivicultura mendocina, rápidamente comprendió que, con el desarrollo de la industria, aumentaría la demanda de plantas, y adquirió un vivero de trece hectáreas de olivos para abastecer la zona. Su hijo Pacífico, que obtuvo el título de enólogo en la Quinta Agronómica, fue el mayor continuador de su obra. Técnico muy conocido, estaba obsesionado por la calidad del AOVE y de las aceitunas, llegó a innovar en métodos de esterilización reconocidos mundialmente y obtuvo varios premios por la calidad de sus aceites a nivel internacional.

Juan Giol y Bautista Gargantini fueron otros precursores de la olivicultura mendocina, fundaron la bodega que llegó a ser la más grande del mundo en su época e implantaron una importante cantidad de olivos en un monte especializado en Maipú (una finca que hoy es propiedad estatal) comprando las primeras plantas a Tittarelli.

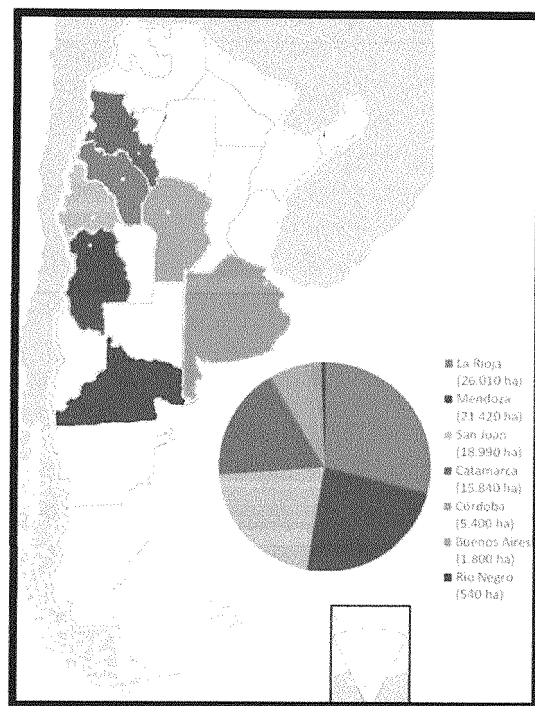
En la década del 90' con la Ley de Diferimiento, Mendoza, que tradicionalmente fue la primera productora, fue relegada del primer lugar en superficie cultivada con olivo.

1.3 Producción Nacional

El mapa olivícola argentino actual lo integran principalmente las provincias de Catamarca, La Rioja, San Juan y Mendoza.

Figura 2

Mapa de Argentina con las provincias olivícolas relevantes en el país²



Nota: Se indican las hectáreas implantadas aproximadas.

² Fuente: Ministerio de hacienda. (2018). Informe de cadenas de valor Olivícola. Recuperado de: https://www.economia.gob.ar/peconomica/docs/2018/SSPMicro_Cadenas_de_valo%20r_O%20livicola.pdf con datos oficiales del ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca/agroindustria, 2017.

1.4 Producción Provincial

En lo que respecta al territorio mendocino, la zona de producción se encuentra en los departamentos de Maipú, que posee el 79% de la superficie olivícola provincial, y siguiendo en importancia: Rivadavia, Junín, San Rafael, San Martín, Guaymallén, Lavalle y Luján, con una superficie implantada de 21.420 ha.

Del total de tierras implantadas en la Provincia, el olivo ocupa el 7% de la superficie cultivada. Según el censo olivícola provincial realizado en el año 2010 por el Instituto de Desarrollo Rural (IDR), la superficie implantada con olivo presenta un incremento desde el último censo provincial del año 1992 de alrededor del 50 %, llegando en el año 2010 a un total de 21.420 ha, siendo el olivo la especie frutal de mayor superficie en la provincia de Mendoza (sin considerar la vid). El departamento Maipú, tradicionalmente el principal productor, ha disminuido su superficie implantada.

La producción primaria está distribuida en dos de los tres oasis productivos que presenta nuestra Provincia, un 64% de la producción provincial se encuentra en el Oasis Norte-Este y el resto, un 36% en el Oasis Sur.

Una de las características de la olivicultura de Mendoza es el grado de atomización de los productores, de los cuales casi un 80% tiene menos de 5 has (sólo en Maipú hay más de 300 productores de menos de 2 has) y sólo un 2% tiene superficies superiores a las 50 has.

CAPÍTULO 2: MORFOLOGÍA Y TAXONOMÍA

2.1 Generalidades

El olivo pertenece a la Familia Oleaceae y su nombre científico es *Olea europaea* L., subespecie sativa. Es un árbol perennifolio que puede alcanzar alturas considerables (15 m o más). El tronco es grueso y la corteza gris o verde grisáceo. La copa es redondeada, aunque más o menos lobulada; la ramificación natural tiende a producir una copa bastante densa.

Las hojas de consistencia coriácea son simples de forma lanceolada, con bordes enteros, el limbo con una longitud de 3-9 cm y el ancho de 1-1.8 cm. El pecíolo, muy corto, se inserta en un nudo, donde se encuentran dos hojas opuestas, formando un ángulo de 90°, con el par de hojas de los nudos inmediatos superior e inferior. El haz de la hoja es de color verde oscuro, mientras que el envés es verde grisáceo, cubierto de pelos aparasolados.

El sistema radicular depende del origen de la planta. Es pivotante cuando proviene de semilla y consiste en una raíz principal que domina sobre las secundarias durante los primeros años.

Es una especie andromonóica, ostenta flores perfectas y masculinas con distintos grados de desarrollo del pistilo lo que es un carácter varietal. Tiene flores con cuatro pétalos blancos y dos anteras, dispuestas en inflorescencias que salen

de las axilas de las hojas de los ramos fructíferos (brindillas de un año). Ovario con cuatro óvulos y estilo muy acortado en longitud.

El fruto es una drupa de alto contenido energético que atraviesa, durante el proceso de madurez, distintos colores: verde intenso, verde amarillento, violeta y negro.

Las flores perfectas y las estaminadas producen granos de polen viable, pero solamente las flores perfectas darán frutos (Reale et al., 2006).

El número de flores y su distribución en la inflorescencia son específicas para cada variedad pero puede cambiar de año en año (Lavee, 1996).

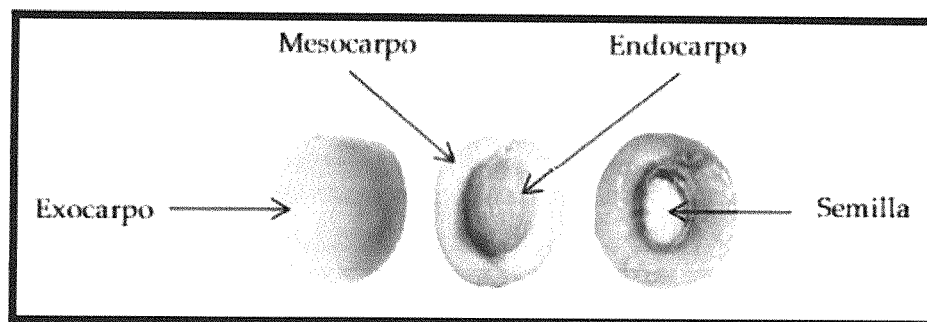
2.2 El fruto

La aceituna es una drupa compuesta por tres tejidos: el exocarpo (1-2%), mesocarpo (70-90%) y endocarpo (9-27%) que contiene una única semilla (1,2-3,5%). En el mesocarpo se encuentra la fracción de importancia comercial, tanto la parte comestible como el 95% del aceite.

La aceituna, se desarrolla durante todo el verano hasta que alcanza la maduración fisiológica en marzo y abril; donde el fruto alcanza su tamaño definitivo y es de color completamente verde. A partir de este punto se produce la maduración organoléptica del fruto, la cual se reconoce por un viraje de color de verde a morado llegando a un tono prácticamente negro al final de la maduración (Sánchez, 1994).

Figura 4

Corte transversal de una aceituna y sus partes⁴



2.3 Biogénesis y acumulación del aceite

La biogénesis del aceite tiene lugar durante casi todo el periodo de desarrollo del fruto, dependiendo de los cambios estacionales de temperatura y otras variables ambientales, pero la fase más intensa de acumulación del aceite ocurre luego del endurecimiento del carozo y se sintetiza y acumula en las células del mesocarpo. (Conde et al., 2008).

La dinámica de acumulación de aceite durante el desarrollo del mesocarpo posee tres fases más o menos definidas. La primera, de acumulación lenta, caracteriza a los frutos recién formados y tiene lugar hasta la finalización del periodo de endurecimiento del endocarpo. La segunda fase, de acumulación rápida, es donde tiene lugar una síntesis activa de triglicéridos. En la tercera fase se produce una ralentización y finalmente la paralización de la síntesis lipídica. El inicio de esta fase prácticamente estacionaria coincide con los primeros cambios de coloración de la epidermis que marcan el inicio de la maduración. Durante la

⁴ Fuente: GARCÍA, Rosa. 2013. Factores bioquímicos implicados en la degradación oxidativa de compuestos fenólicos durante el proceso de obtención de AOVE.

misma, no se observan diferencias en el contenido de aceite de los frutos. El proceso de acumulación de aceite culmina con la formación de una única gota que ocupa gran parte del volumen de la célula.

2.4 Madurez del fruto

El momento oportuno de cosecha por variedad y región está referenciado a través de la aplicación del Índice de Madurez (IM) determinado por cambio de color progresivo de las aceitunas, como así también del contenido graso sobre sustancia seca, contenido de azúcares, humedad, entre otros parámetros.

Estos estudios se realizan para determinar un índice de cosecha adecuado que pueda indicar los cambios ligados a importantes procesos fisiológicos que determinan la calidad de los productos (aceituna en conserva o AOVE).

2.5 Variedad Arauco

El nombre con que se conoce esta variedad proviene del departamento Arauco, localidad ubicada en la provincia de La Rioja. Es conocida también con el nombre de “Criolla”.

Por su excelente comportamiento se difundió a otras provincias como Córdoba, Mendoza, San Juan y Catamarca. En los últimos años se la revalorizó por las bondades de los AOVE obtenidos.

2.6 Caracteres morfológicos y agronómicos generales

Árbol de elevado vigor, porte abierto a llorón y copa espesa. La hoja es elíptica-lanceolada, plana, de longitud larga y anchura media.

El fruto es alargado, de peso elevado y asimétrico. Ápice apuntado y base truncada. Presenta abundantes lenticelas pequeñas. Posee pedúnculo alargado y son muy resistentes en el árbol. El inicio del envero es uniforme y el fruto maduro es negro.

El endocarpo es alargado, asimétrico y de peso elevado. La superficie es rugosa. El ápice es apuntado, termina en mucrón y la base es truncada.

Es una variedad longeva, de producción elevada pero con significativa alternancia o vecería y de crecimiento muy vigoroso por lo que requiere podas frecuentes.

El fruto es muy firme, de elevada relación pulpa-hueso (el peso en fresco de 100 frutos es 560 g aproximadamente), con un contenido de aceite alto (contenido graso sobre materia seca entre 40-45%), resistente al transporte y a la cosecha.

Para la obtención de aceites de alta calidad, la cosecha de esta variedad debe ser temprana. Posee un rendimiento aceitero medio del 14% y cobró interés por las excelentes y particulares características organolépticas del producto final (Andrada, 1975). De gran personalidad sensorial, este aceite se caracteriza por un frutado verde medio-intenso, con notas a hierbas, y altos amargo y picante como consecuencia del elevado contenido de polifenoles, que son, en gran parte, responsable de la buena estabilidad a la oxidación de este aceite.

Tabla 1

Resumen de las características agronómicas y tecnológicas de la variedad Arauco⁵

Variedad	ARAUCO	
Origen	Argentina	
Uso	Doble Propósito	
Inflorescencia	Longitud	Media
	N° de Flores por inflorescencia	Bajo
Fruto	Peso	Elevado a muy elevado
	Forma	Ovoidal
	Simetría	Asimétrico
	Posición del diámetro transversal máximo	Centrado
	Ápice	Redondeado
	Base	Redondeada
	Pezón	Ausente
	Presencia de lenticelas	Abundantes
	Tamaño de lenticelas	Pequeñas y grandes
	Carozo	Peso
Forma		Alargada
Simetría		Asimétrico
Posición del diámetro transversal máximo		Centrado
Ápice		Apuntado
Base		Redondeada y truncada
Superficie		Rugosa
N° de surcos fibrovasculares		Alto
Terminación del ápice		Con mucrón
Caracteres Agronómicos y Tecnológicos		Floración
	Maduración	2285 días (Junio)
	Sensibilidad a bajas temperaturas	Menos de -2°C
	Relación pulpa/carozo	9,2
	Productividad	Media
	Contenido graso	45,5 % materia grasa/pulpa seca 17,5% materia grasa/pulpa fresca
	Aceite	Calidad excelente. Alta estabilidad
	Árbol	Vigor medio, copa abierta

⁵ Fuente: Arjona, C.; Masuelli, R. y Trentacoste, E. 2011. *Variedades de Olivo*.

CAPÍTULO 3: BIOFENOLES

3.1 Composición química del AOVE y Biofenoles

Desde el punto de vista químico, el aceite de oliva se divide en dos fracciones, una fracción mayoritaria o saponificable, que representa el 97% del peso total del aceite, y una fracción minoritaria, que alcanza el 3% del peso del aceite de oliva.

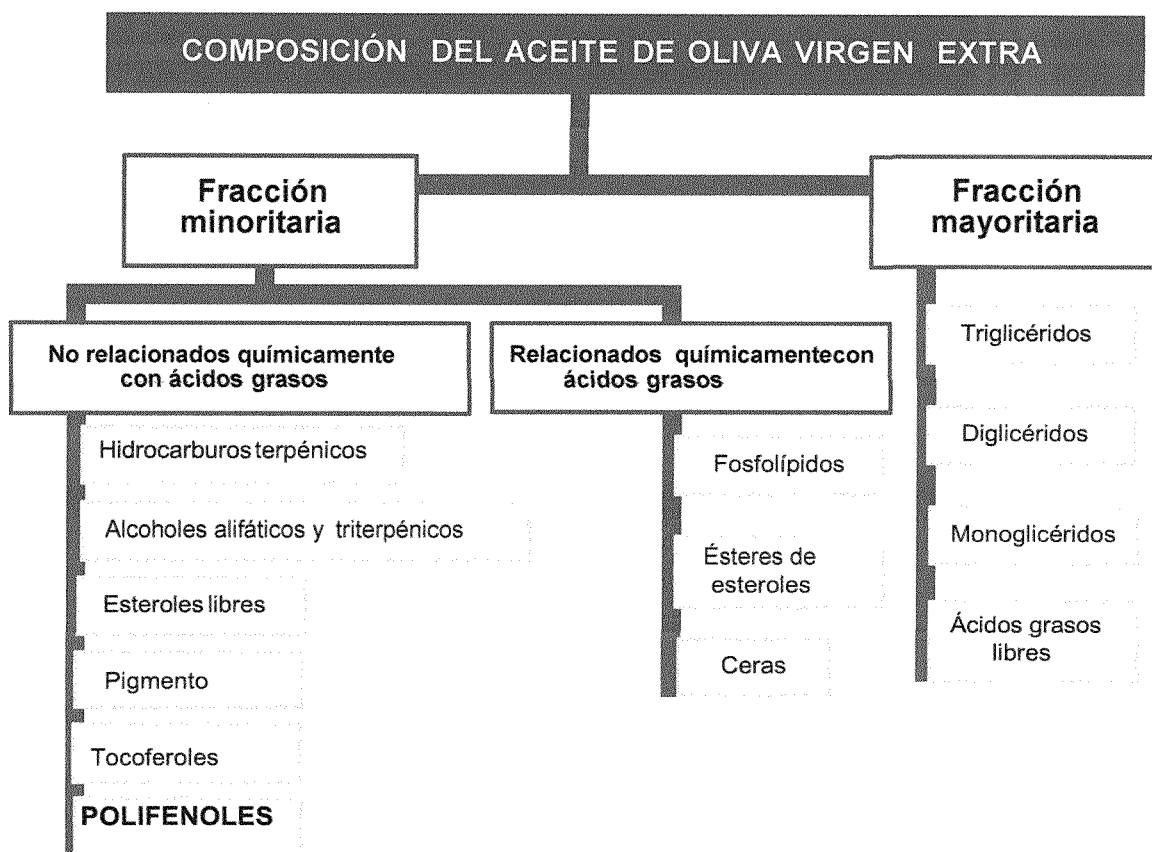
Entre los constituyentes de la fracción mayoritaria, el principal nutriente al que, además de su función energética, tradicionalmente se le atribuye la mayor parte de la bioactividad de este alimento es el ácido oleico (18:1, n-9). Representa el 68-82% del total de ácidos grasos presentes en el aceite. Se puede encontrar en su forma libre, aunque principalmente está formando parte de los triglicéridos. Estos últimos compuestos suponen el componente principal del AOVE, ya que los olivos al igual que la mayoría de los cultivos oleaginosos, acumulan en sus frutos lípidos en forma de triglicéridos.

En la fracción minoritaria se incluyen clases de compuestos que están relacionados con los ácidos grasos y los que no están químicamente relacionados con los ácidos grasos, al que pertenecen la mayoría de compuestos que se han relacionado con las propiedades bioactivas, como son hidrocarburos terpénicos,

alcoholes alifáticos y triterpénicos, esteroides libres, tocoferoles, clorofilas, carotenoides y compuestos fenólicos.

Figura 5

Composición química del AOVE⁶



Los compuestos fenólicos son una amplia familia de metabolitos secundarios procedentes del reino vegetal. No son considerados como alimentos esenciales para los humanos, pero su ingesta a través de fuentes naturales como el AOVE, tiene un impacto positivo para la salud.

⁶ Fuente: SÁNCHEZ LOZANO Jesús, Mayo de 2012. Tesis "Aceite de oliva como alimento funcional".

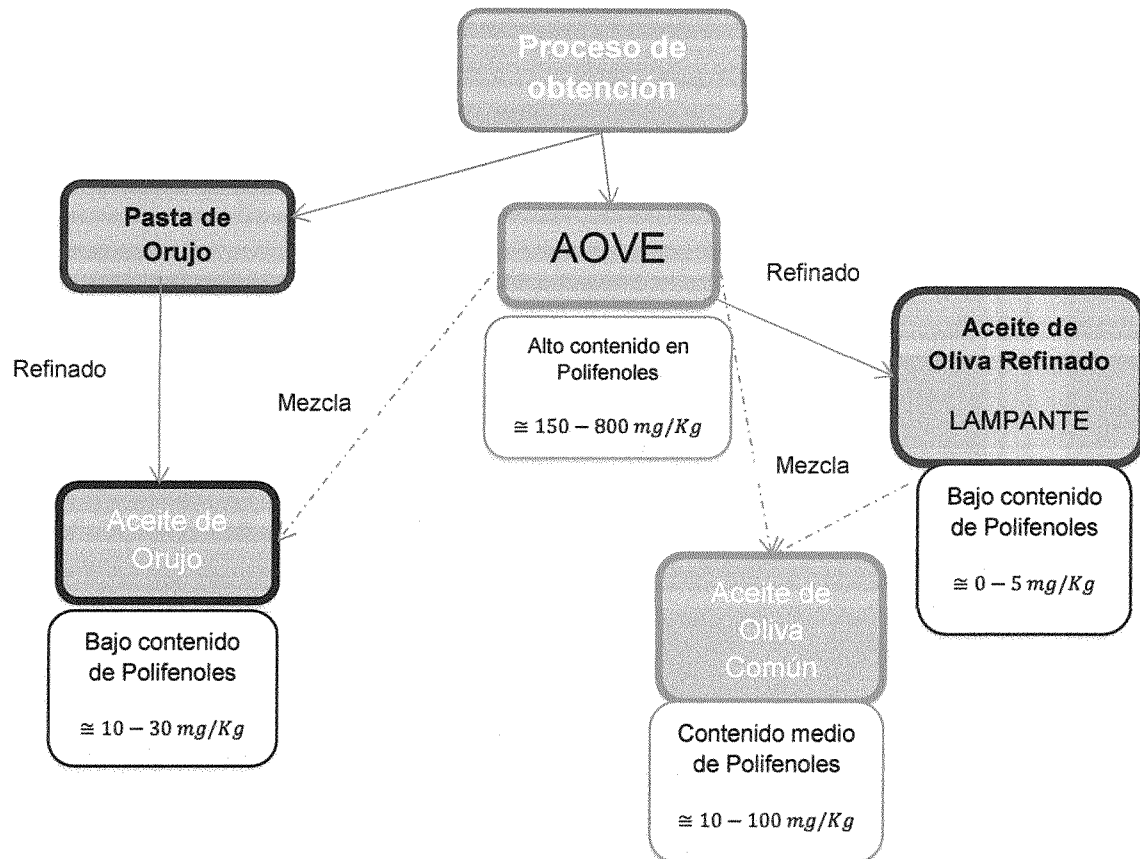
Adaptado de Covas MI. Tipos de Aceite de Oliva | Nuproas.se [Internet]. [Cited 2019 Apr 21].

Disponible en: <http://www.nuproas.se/es/nuproas/olive/types-of-olive-oil/>.

el Cu^{2+} que a su vez actúan como catalizadores en la formación de radicales libres durante los procesos de oxidación.

Figura 6

Contenido estimado de Polifenoles en los distintos tipos de aceite⁸



El fruto del olivo presenta un elevado contenido de fenoles, los cuales llegan a constituir hasta el 3% del peso fresco de la pulpa.

Biofenoles es un término más reciente que incluye los compuestos fenólicos polares minoritarios en el AOVE, tales como los derivados naturales y oxidados de la oleuropeína y ligustrósido, lignanos y flavonoides.

⁸ Fuente: Adaptado de Covas MI. Tipos de Aceite de Oliva | Nuproas.se [Internet]. [Cited 2019 Apr 21]. Disponible en : <http://www.nuproas.se/es/nuproas/olive/types-of-olive-oil/>

El tirosol, el hidroxitirosol y sus derivados secoiridoides (oleocantal) representan alrededor del 90% del contenido fenólico total del AOVE, que suele alcanzar rangos de concentración entre 150 y 800 mg/kg en el AOVE.

La mayor parte de los compuestos fenólicos presentes en el AOVE están presentes también en el fruto o bien son derivados de éstos, transfiriéndose al aceite durante las distintas etapas del proceso de extracción (Servili et al., 1999a).

Tabla 2

Clasificación de los compuestos fenólicos del AOVE⁹

POLIFENOLES	CARACTERÍSTICAS	COMPUESTOS FENÓLICOS
Ácidos Fenólicos	Estructura C6-C1 en ácidos benzoicos, y C6-C3 por derivados cinámicos.	Ácidos cafeico, siríngico, gálico, vainílico, sinápico, p-hidroxibenzoico.
<u>Alcoholes Fenólicos</u>	Presenta grupo hidroxilo unido a grupo del C aromático.	HIDROXITIRO SOL Y TIROSOL
<u>Secoiridoides</u>	Formado por Ácido elenólico y derivados.	Dimetiloleuropeína, oleuropeína aglicona, ligustrosidos de aglicona (OLEOCANTAL entre otros).
Flavonoides	Presencia de 2 anillos bencenos unidos por cadena lineal de 3 C, pueden ser glicosados. Se distinguen flavanoles y flavonas.	Glicósidos de delphinina, rutina, luteolina.
Lignan os	Basada en condensación aromática de aldehídos.	Hidroxipinoresinol, piroresinol, acetoxipinoresinol.

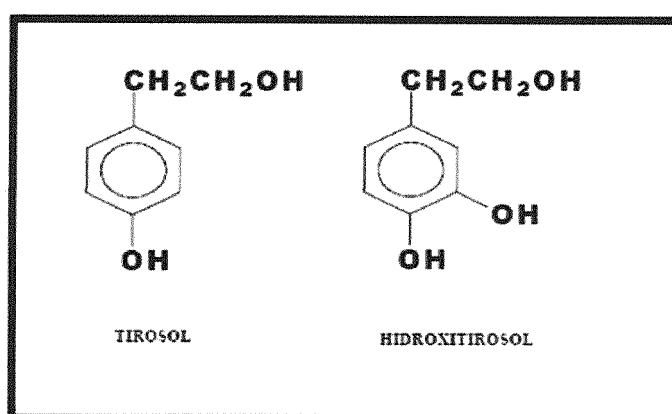
⁹ Fuente: Adaptado de Segura-Carretero A, Curiel JA. Current Disease-Targets for Oleocanthal as Promising Natural Therapeutic Agent. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018 Sep 24 [cited 2019 Apr 23];19(10). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30250008>

3.2 Hidroxitirosol y Tirosol

El hidroxitirosol (3,4-dihidroxifeniletanol) y el tirosol (p-hidroxifeniletanol,) son los principales alcoholes fenólicos encontrados en el AOVE. Ambos proceden de la hidrólisis del secoiridoide oleuropeína.

Figura 7

Estructuras químicas del Tirosol e Hidroxitirosol¹⁰



El hidroxitirosol se forma a partir de la hidrólisis de la oleuropeína, reacción que tiene lugar en el proceso de almacenamiento del propio aceite. Es uno de los componentes más abundantes en el AOVE junto con el tirosol (molécula de hidroxitirosol sin grupo -hidroxilo). El hidroxitirosol es considerado como uno de los bioactivos con mayor poder antioxidante. No tanto así el tirosol.

Son compuestos bastante estables y, por lo tanto, en comparación con otros polifenoles, están mucho menos sujetos a una auto oxidación. Son fácilmente oxidables en soluciones acuosas a menos que se tomen precauciones adecuadas

¹⁰

Fuente: <http://www.editorial.unca.edu.ar/Publicacione%20on%20line/DIGITESIS/Tesis%20de%20Gomez/pdf/Capitulo%201.pdf>

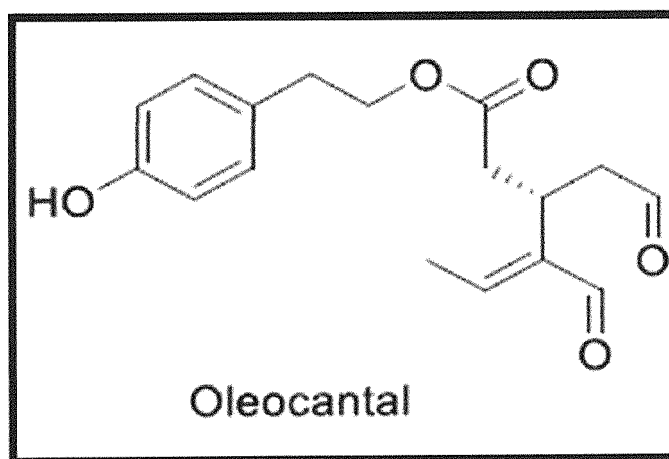
de pH ácido y ausencia de oxidantes. Este grupo de compuestos se ha relacionado con atributos positivos del AOVE como son el amargor y el picante.

3.3 Oleocantal

Es un compuesto que se define como un éster carboxílico etílico (2-p-hidrofeno) derivado del ácido (3S)-4-formol-3-(2-oxoetil) Hexa-4-enoico. Es en definitiva un éster del tirosol y su estructura química está relacionada con la oleuropeína que da sabor amargo a ciertas variedades del AOVE y otorga sensación de pungencia y picor, por lo cual su nombre (Oleo- por el aceite de oliva, -can- por la sensación de picor y -thal por contener grupos aldehído).

Figura 8

Estructura química del Oleocantal¹¹



Es un compuesto de carga formal neutra, y estructuralmente consta de un único enlace covalente con 10 enlaces rotativos. Se representa con la fórmula molecular C₁₇H₂₀O₅, tiene un peso molecular 304,34 g/mol, y se caracteriza

¹¹ Fuente: KRAPCHO, Alejandro; GONZÁLEZ Benjumea. Sevilla, Junio de 2017
Síntesis química y enzimática de biofenoles lipófilos del olivo con actividad antiinflamatoria. Optimización de la reacción.

por la existencia en su molécula de 1 donador y 5 aceptores de enlace de hidrógeno.

La concentración de oleocantal en el AOVE puede presentar grandes variaciones, oscilando desde 0,2 mg/kg hasta 498 mg/kg. Se han reportado una disminución en la concentración de oleocantal (15-37%) en el AOVE a medida que pasa el tiempo de almacenamiento y según las condiciones del ambiente.

El oleocantal no está presente en las plantas de *Olea europaea* L. (hojas y frutos), pero se forma durante la producción y el procesamiento del AOVE a través de las conversiones de oleuropeína y ligustrósido, dos secoiridoides glucosídicos derivados del hidroxitirosol y el tirosol, respectivamente.

3.4 AOVE como alimento funcional

Las evidencias científicas de la significativa correlación entre el AOVE y salud han dejado patente la importancia del consumo para conseguir una adecuada alimentación, no sólo para el normal funcionamiento y desarrollo del organismo, sino también como medio para mejorar el estado de salud y prevenir algunas enfermedades, por todo ello, se puede afirmar que el AOVE puede ser considerado un alimento funcional, ya que las investigaciones han ido delineando rutas y mecanismos de acción frente a diferentes patologías en los que cada vez han tomado más protagonismo otros compuestos presentes en la fracción minoritaria del aceite, en este caso los biofenoles.

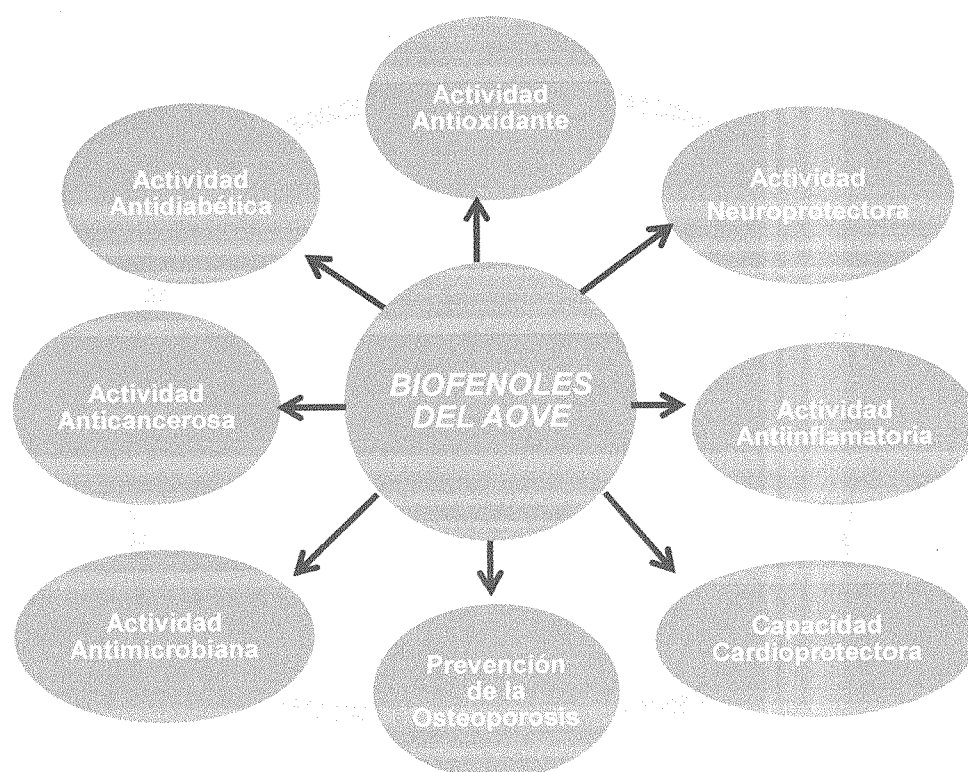
Cuando se habla de alimentos funcionales, por tanto, se hace referencia a aquellos alimentos que, además de proporcionar los nutrientes necesarios para

satisfacer los requerimientos metabólicos del individuo, contienen otros componentes que, estando presentes en el mismo de forma natural o procesada, pueden ejercer una serie de efectos fisiológicos beneficiosos sobre el organismo, más allá de los beneficios nutricionales aceptados. A estos componentes del alimento responsables de ese efecto beneficioso se les denomina compuestos bioactivos.

3.5 Propiedades funcionales de los Biofenoles del AOVE

Figura 9

Propiedades funcionales de los biofenoles del AOVE¹²



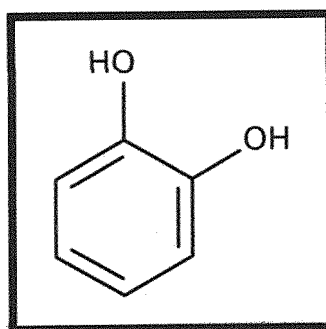
¹² Fuente: Adaptado de Malik J, Choudhary S. The Molecular Basis for Protective Effect of Mediterranean Diet in Neurodegenerative Disorders. En: Role of the Mediterranean Diet in the Brain and Neurodegenerative Diseases (Internet). Elsevier; 2018 (citado 2019 Abril 21). p. 53–76. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128119594000043>

Tradicionalmente su actividad biológica se ha relacionado con su capacidad antioxidante, la cual está íntimamente ligada a la estructura de la molécula, siendo el número de grupos hidroxilos fenólicos y el número de fragmentos catecol los factores más importantes.

Además se ha demostrado que existe una perfecta correlación entre el estrés oxidativo y las enfermedades anteriormente comentadas por lo que parece lógico pensar que sus efectos beneficiosos no sólo pueden deberse a mecanismos específicos como por ejemplo, su interacción con ciertas enzimas, receptores o factores de transcripción de genes, sino también a otros inespecíficos como es la simple destrucción de radicales libres que funcionan como agentes oxidantes en los organismos.

Figura 5

Estructura química del Catecol⁷



Más aún, la función antioxidante de estos compuestos también se debe a que los compuestos fenólicos en general y especialmente los que exhiben el grupo catecol, son buenos agentes quelatantes de iones metálicos como el Fe^{3+} y

⁷ Como radical el grupo catecol está formado por un anillo bencénico con dos grupos hidroxilo (-OH), tiene fórmula molecular $C_6H_4(OH)_2$. Se utiliza como antioxidante.

Fuente: <https://www.fishersci.es/shop/products/catechol-99-thermoscientific-1/11429452>

3.5.1 Actividad Antioxidante

Las especies reactivas de oxígeno, que continuamente se están formando como resultado de procesos metabólicos en el organismo, pueden causar oxidación y daños en las macromoléculas celulares y, por lo tanto, pueden contribuir al desarrollo de enfermedades degenerativas, tales como la aterosclerosis, el cáncer, la diabetes, la artritis reumatoide y otras enfermedades inflamatorias (Balsano y Alisi, 2009).

La capacidad de estos agentes antioxidantes para disminuir el daño oxidativo causado por la presencia de radicales libres es muy beneficioso, y en este aspecto, la capacidad antioxidante del oleocantal sería algo menor en comparación con la del tirosol y el hidroxitirosol.

3.5.2 Actividad Neuroprotectora

El estrés oxidativo elevado puede poner en peligro la integridad y la funcionalidad del tejido cerebral. Estudios epidemiológicos recientes indican que el consumo habitual del AOVE está asociado a una reducción de los riesgos implicados en enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la edad, tales como el Alzheimer y el Parkinson (Scarmeas y cols., 2006; Berr y cols., 2009).

3.5.3 Actividad antiinflamatoria

Se ha demostrado que los biofenoles disminuyen la producción de marcadores inflamatorios en varios sistemas ya que la inflamación y sus consecuencias tienen un papel crucial en el desarrollo de la aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares (Biesalski, 2007).

La capacidad antiinflamatoria del oleocantal es muy superior a los demás compuestos fenólicos del AOVE. Diversos estudios han demostrado que el oleocantal imita el mecanismo de acción del ibuprofeno y supera sus efectos a concentraciones equimolares.

3.5.4 Capacidad cardioprotectora

Los estudios llevados a cabo para evaluar el efecto de los biofenoles sobre la salud cardiovascular han puesto de manifiesto una actividad biológica importante que incluye, además de evitar la oxidación de las LDL-colesterol, otras funciones tales como antiagregantes plaquetarios, antihiperlipémicos y antiinflamatorios. (Valls-Pedret y cols., 2012; Estruch y cols., 2013; Martínez-Lapiscina y cols., 2013).

Además se ha investigado la relación de los biofenoles del AOVE con enfermedades del síndrome metabólico. Loizzo y colaboradores evaluaron la actividad de extractos fenólicos de diferentes variedades en ensayos in vitro con enzimas implicadas en la hipertensión. Estos autores concluyeron que todos los extractos demostraron una actividad inhibidora de la principal enzima asociada con la hipertensión.

3.5.5 Prevención de la osteoporosis

El hidroxitirosol y el tirosol pueden tener un papel importante en la formación y mantenimiento de los huesos, y podrían ser utilizados como un recurso efectivo en el tratamiento de los síntomas de la osteoporosis, ya que se ha observado su capacidad para estimular la deposición de calcio e inhibir la

formación de osteoclastos.

3.5.6 Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de los biofenoles del olivo ha sido estudiada contra hongos, bacterias, virus y protozoos (Bisignano y cols., 1999; Zoric, 2013).

La investigación sobre la actividad in vitro antibacteriana concluye que estos compuestos pueden ser considerados como agentes antimicrobianos para el tratamiento de infecciones humanas causadas por cepas bacterianas o agentes casuales del tracto intestinal o respiratorio (Furneri y cols., 2004).

3.5.7 Actividad anticancerosa

Se han llevado a cabo numerosos estudios sobre la relación entre el consumo de AOVE y la prevención del cáncer (Pérez-Jiménez y cols., 2005). Los compuestos antioxidantes suministrados mediante la dieta pueden disminuir el riesgo de padecer cáncer debido al hecho de que pueden reducir al mínimo el daño sobre el ADN (Manna y cols., 2005; Hillestrom y cols., 2006; Omar, 2010).

En estudios en los que se evaluó la actividad anticancerígena de los biofenoles frente al cáncer de mama, Menéndez y colaboradores concluyeron que los biofenoles del AOVE son capaces de inhibir el crecimiento de las células cancerígenas.

3.5.8 Actividad antidiabética

El estrés oxidativo juega un papel importante en la patogenia de la resistencia a la insulina y se ha planteado la hipótesis de que los antioxidantes de

la dieta podrían disminuir el riesgo de padecer diabetes. Así, estudios observacionales apoyan la relación inversa entre el consumo de AOVE y la resistencia a la insulina (Pauwels y cols., 2009).

3.6 Cantidad de Biofenoles para considerar al AOVE como alimento funcional

Desde la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) se han aprobado alegaciones de salud sobre el AOVE que contenga mínimo 5mg de hidroxitirosol o tirosol basado en una ingesta moderada aproximada de 20 ml/día en población sana, para que pueda validarse que actúa como “antioxidante”, “reduce el estrés oxidativo”, “protege las células del organismo y del LDL frente al daño oxidativo”. Dado que el oleocantal constituye el 10% de los polifenoles totales del AOVE, una ingesta de 25-50 ml de AOVE equivaldría a unos 4,6-9,3 mg de oleocantal.

Según el diario oficial de la Unión Europea, el REGLAMENTO (UE) N o 432/2012 DE LA COMISIÓN de 16 de mayo de 2012 por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, se informa con respecto a los polifenoles del AOVE:

“Esta declaración solo puede utilizarse respecto a AOVE que contenga un mínimo de 5 mg de hidroxitirosol y sus derivados (por ejemplo, un complejo de oleuropeína o tirosol) por 20 g de AOVE. Para que un producto pueda llevar esta declaración, se informará al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene

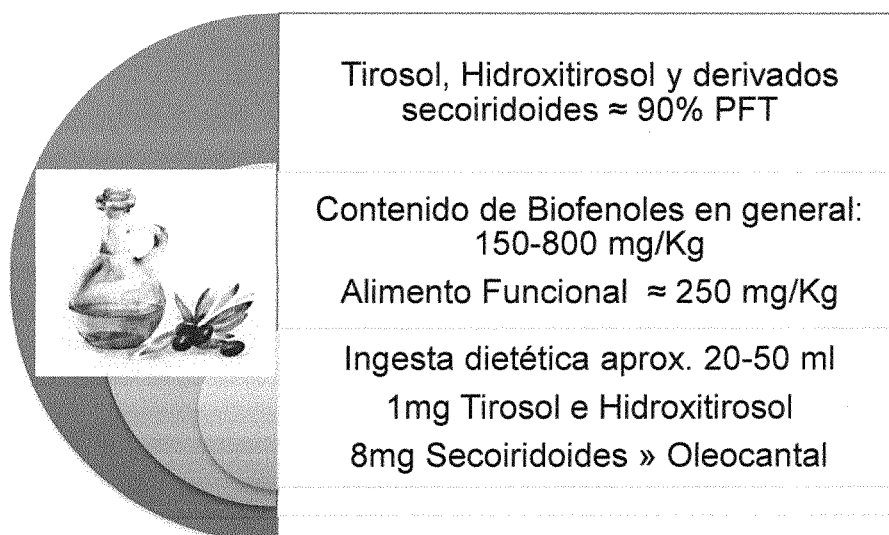
con una ingesta diaria de 20 g de AOVE.” Lo que sería igual a 250 mg/Kg de biofenoles totales.

Según los estudios se han reportado diferentes cantidades de consumo medio de AOVE/día, que pueden ir desde los 20 ml hasta los 50 ml.

La ingesta dietética de biofenoles del AOVE se ha estimado en alrededor de 9 mg, dentro de los 25-50 ml de AOVE por día, donde al menos 1 mg de ellos se deriva de tirosol libre e hidroxitirosol, y 8 mg están relacionados con derivados secoiridoides, en el que se incluye el oleocantal.

Figura 10

Aproximación del contenido de biofenoles del AOVE¹³



¹³ Fuente: SÁNCHEZ LOZANO Jesús, Mayo de 2012. Tesis “Aceite de oliva como alimento funcional”. Adaptado de Francisco V, Ruiz-Fernández C, Lahera V, Lago F, Pino J, Skaltsounis L, et al. *Natural Molecules for Healthy Lifestyles: Oleocantal from Extra Virgin Olive Oil*. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2019 Apr 10 [cited 2019 Apr 21]; 67(14):3845–53. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.8b06723>

3.7 Factores que afectan a la presencia de Biofenoles en el AOVE

Existe una gran cantidad de factores a lo largo del proceso de producción que influyen sobre la presencia de biofenoles en el AOVE, los agronómicos y los tecnológicos.

3.7.1 Factores Agronómicos

Los factores agronómicos inciden en la calidad del AOVE ya que afectan directamente a la aceituna. Pueden o no ser controlados con relativa facilidad, por el agricultor.

3.7.1.1 Variedad de aceituna

El AOVE, como producto del metabolismo del olivo, está fuertemente influenciado por la variedad. Esta determina, en gran medida, su contenido en pigmentos, tocoferoles y compuestos fenólicos.

El contenido en biofenoles totales de los diferentes AOVE depende, sobre todo, de la variedad de olivar considerado.

3.7.1.2 Factores Ambientales

El clima ejerce una gran influencia sobre la composición química y la calidad del AOVE. Se ha observado que existe una notable influencia de las condiciones meteorológicas sobre la evolución en el crecimiento del fruto y su maduración (Jacoboni et al., 1999). En un estudio del efecto de los factores agronómicos y estacionales sobre la producción del olivo y las características

cualitativas de los aceites se ha puesto de manifiesto que las condiciones climáticas, en particular las precipitaciones, influyen en la composición química de los aceites. Ranalli et al. (1997) han observado que aceites procedentes de la misma variedad y cultivados en distintas áreas geográficas presentan características significativamente diferentes respecto a la composición de compuestos fenólicos.

3.7.1.3 Maduración del fruto

A medida que el fruto madura va experimentando cambios fisiológicos, modificando su composición, por lo que las características del AOVE van a variar en función del grado de madurez en que se recogen los frutos.

Durante la maduración del fruto se produce un descenso en el contenido total, así como en general, de los diferentes compuestos fenólicos individuales (Amiot et al., 1989; Gutiérrez et al., 1999; Brenes et al., 1999; Beltrán et al., 2005).

Según Civantos (2009), los biofenoles totales y los compuestos volátiles van aumentando a lo largo del ciclo de maduración del fruto, presentando máximos en el momento en que el árbol ofrece la mayor cantidad de aceitunas en enero, para disminuir apreciablemente a continuación.

3.7.1.4 Época de recolección

La elección del momento adecuado de recolección es la base primordial para la elaboración de un AOVE de calidad. De esta decisión dependerán en gran medida las características potenciales del aceite obtenido.

Un retraso en la época de recolección y, en consecuencia, el incremento en el grado de maduración del fruto conlleva la disminución de determinados componentes de los frutos, como los compuestos fenólicos (Beltrán et al., 2005).

3.7.1.5 Riego

El olivar se ha cultivado tradicionalmente en condiciones de secano. Sin embargo, desde hace tiempo se ha comprobado experimentalmente que la práctica del riego aumenta considerablemente el rendimiento del olivar, incluso cuando las aportaciones de agua son muy reducidas (Orgaz y Fereres, 2004).

Normalmente, el contenido en polifenoles aumenta significativamente al reducirse la cantidad de agua de riego aportada, siendo máximo en el olivar no regado.

Los distintos grupos de compuestos fenólicos se ven afectados, en general, de forma distinta por el riego. Así las cantidades de los alcoholes fenólicos, hidroxitirosol y tirosol presentes en el AOVE, no se ven afectadas por el riego de los árboles.

3.7.2 Factores tecnológicos

El proceso de extracción del AOVE tiene una gran influencia sobre las características del mismo. En el proceso en almazara, los frutos deben pasar, primero, por la línea de limpieza, para eliminar las hojas y ramas que pudieran acompañarlos, pero no deben someterse a lavado, pues ésta técnica provoca pérdida de biofenoles, menor puntuación organoléptica y caída de la estabilidad en el aceite (Uceda et al., 2004).

3.7.2.1 Molienda del fruto

El tipo de molienda tiene gran efecto sobre el contenido y los compuestos fenólicos del AOVE.

La velocidad de giro más usual es de 3.000 rpm, y existen modelos con capacidades de trabajo comprendidas aproximadamente entre 2.500-7.000 kg/h. Esta velocidad y debido a la fricción, suele provocar calentamientos en la pasta que oscilan entre 3-5°C, emulsiones en función del grado de humedad de las aceitunas y un ligero aumento del nivel de amargor. Para paliar en parte estos efectos se han construido molinos de martillo de doble criba y velocidad de giro de 1.500 rpm y otros en los que la criba está constituida por varillas, consiguiendo mejorar la textura, la temperatura final, ligeramente el amargor y el consumo energético.

La molienda es una etapa crítica en la composición final de los aceites debido a que en la trituración de los tejidos vegetales se activa la maquinaria enzimática del fruto, por lo que el AOVE se pone en contacto con diversos compuestos. Así, una importante porción de compuestos fenólicos, presentes en el fruto, en forma compleja e insoluble en aceite, como consecuencia de la molienda y destrucción de las estructuras celulares y la actuación de las enzimas logran solubilizarse parcialmente en el aceite.

El uso de molinos metálicos, caracterizados por una molienda más agresiva, da lugar a AOVE con un contenido en fenoles más alto que los, ya en desuso, molinos de empiedros (Angerosa et al., 1995; Allogio et al., 1996; Caponio et al., 1999). Este incremento se podría explicar por una rotura más

severa de la pulpa que libera sustancias fenólicas unidas a diferentes tejidos, aumentando el contenido de polifenoles libres en la pasta. En el caso de los molinos de discos no se encuentran diferencias significativas respecto a los de martillos (Caponio y Catalano, 2001; Caponio et al., 2003).

Al aumentar la velocidad relativa de giro de los martillos de un molino metálico, se produce un incremento de los compuestos fenólicos, en general, y de los compuestos relacionados con el atributo amargo (Di Giovacchino et al., 2002) independientemente del estado de madurez del fruto utilizado.

3.7.2.2 Batido de la pasta de aceituna

Se ha evidenciado que, en general, un aumento de la temperatura de batido favorece la disolución de los compuestos fenólicos de la pasta en el aceite, mientras que un aumento en el tiempo de batido, implica una disminución del contenido en polifenoles, independientemente de la temperatura de batido, debido probablemente a la intervención de la fenoloxidasa que cataliza la oxidación de los polifenoles (Solinas et al., 1978; Jiménez et al., 1995).

Parece ser que la temperatura y el tiempo de batido afectan de diferente manera a los distintos compuestos fenólicos individuales. Gómez-Rico et al. (2009) demuestran, respecto al contenido de compuestos secoiridoides, una disminución de la oleuropeína con el tiempo de batido, debido probablemente a la actividad de la glucosidasa durante el batido de la pasta.

Gómez-Rico et al. (2009) han determinado que los derivados secoiridoides del hidroxitirosol y tirosol aumentan significativamente con la temperatura, de 20-40°C. Esto puede ser debido a un aumento en el coeficiente de reparto de los

compuestos fenólicos entre el aceite y la fase acuosa de la pasta de aceituna (Rodis et al., 2002).

Por otra parte, cuando el tiempo de batido aumenta, hay una pequeña disminución de los derivados secoiridoides del hidroxitirosol, alrededor del 5 %, mientras que los derivados del tirosol aumentan entre el 15 al 20% (Di Giovachino et al., 2002; Angerosa et al., 2001; Lercker et al., 1999).

Parece ser, que el contenido en polifenoles del AOVE se ve más afectado por la temperatura de batido que por el tiempo (Gómez-Rico et al., 2009).

3.7.2.3 Separación de las fases sólida-líquida (Decanter)

El empleo de un sistema de dos fases o uno de tres fases afecta en gran medida al contenido en compuestos fenólicos del AOVE final. El hecho de añadir agua al decanter parece tener una gran influencia sobre la difusión de estas sustancias desde el medio oleoso al acuoso. Así, los primeros estudios sobre el empleo de la centrifugación de dos fases indicaron que los aceites así obtenidos tenían una mayor concentración en polifenoles que los aceites obtenidos por el sistemas de tres fases (Jiménez et al., 1995). Estudios posteriores confirmaron esta afirmación (Piacquadio et al., 1998; Cert et al., 1999; Salvador et al., 2003) entre otros.

En cuanto a cómo afecta a la concentración de polifenoles individuales el sistema de extracción, de dos y tres fases, la concentración de los alcoholes fenólicos, hidroxitirosol y tirosol y también los derivados secoiridoides del hidroxitirosol y tirosol, es mayor en los aceites obtenidos por el sistema de dos fases que los obtenidos por el sistema de tres fases.

3.7.2.4 Separación líquido-líquido (Centrífuga Vertical)

Existen pocos estudios sobre el efecto que esta práctica tiene sobre el contenido fenólico de los aceites, aunque en general se ha observado una reducción de su contenido, debido a la difusión de dichos compuestos desde la fase oleosa a la acuosa (Jiménez et al., 1995). Asimismo, la temperatura del agua también influye ligeramente sobre dicha extracción, un aumento de la temperatura desde 35 a 45°C puede significar una pérdida importante de polifenoles en el aceite (Jiménez et al., 1995; Cert et al., 1999).

3.7.2.5 Almacenamiento

El AOVE puede consumirse durante la campaña de extracción, aunque por razones comerciales se almacena, en primer lugar, en depósitos de acero inoxidable y, posteriormente, se envasa y se comercializa durante uno o dos años. El almacenamiento origina cambios en las características fisicoquímicas y organolépticas del mismo y, por consiguiente, en los compuestos fenólicos (García, 2003). En general, los polifenoles determinados colorimétricamente tienden a disminuir con el tiempo (Spugnoli et al., 1998; Gutiérrez y Fernández, 2002). Sin embargo, cuando se han analizado individualmente algunos de éstos compuestos, se ha encontrado un comportamiento contradictorio. Así, se ha indicado que tanto el hidroxitirosol como el tirosol aumentan su concentración con el tiempo de almacenamiento (Pagliarini et al., 2002), o bien aumentan durante cierto tiempo y después disminuyen (Montedoro et al., 1992; Cinquanta et al., 1997; Cinquanta et al., 2001).

CAPÍTULO 4: MÉTODO DE OBTENCIÓN

4.1 Resumen

En el siguiente capítulo se va a explicar y describir el método de obtención, del AOVE de la variedad Arauco geolocalizada, realizados en los años 2019, 2020 y 2021 en las instalaciones de la Almazara Don Bosco, ubicada en la ruta Nacional n° 50 de Rodeo del Medio, Maipú, Mendoza.

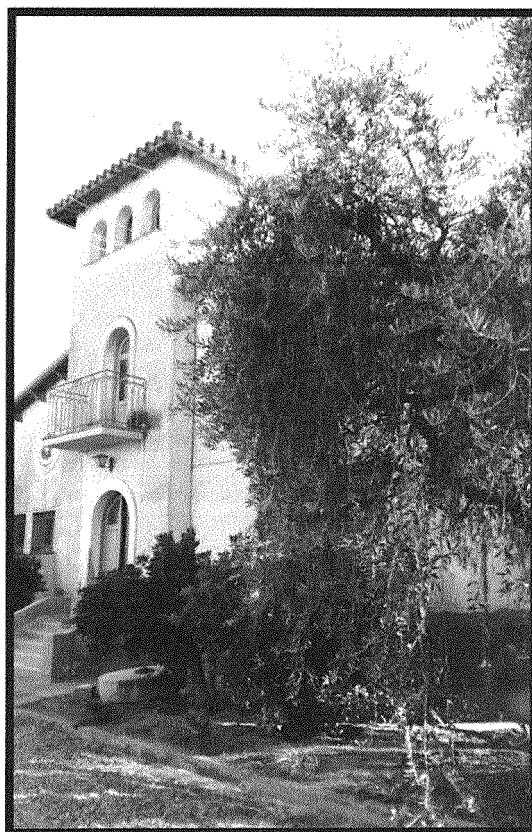
4.2 Obtención del AOVE en Almazara

Con el concepto obtención se expresa el conjunto ordenado de procesos mecánicos o físicos que se utilizan para conseguir la separación de la fracción oleosa del resto de componentes de la aceituna.

Almazara es el nombre que recibe la industria cuyo proceso básico es la elaboración de AOVE.

Figura 11

Frente de la Almazara DON BOSCO

**4.2.1 Recepción**

Las aceitunas son recibidas en la planta directamente en cajas plásticas de 20 Kg., son pesadas e inspeccionadas controlando estado sanitario general, se clasifican según su variedad y se retira una muestra para su análisis según especificación (Índice de Madurez), y, encontrándose la partida dentro de los estándares se procede a la descarga en el sector destinado a tal fin.

Lo normal e ideal es que los frutos entren a la almazara con un mínimo contenido en impurezas, en función del sistema de recolección, constituidas por hojas, tallos, tierra, piedras y algún que otro objeto metálico. Si la materia prima

no cumple con la especificación se evaluará una medida correctiva para su devolución o molienda en condiciones aisladas del resto del proceso.

Una vez recibidos, los frutos deben molerse dentro de las 12 horas siguientes a su recolección, para evitar alteraciones que modifiquen la calidad (Uceda et al., 2004). Considerando esto, luego de cosechada en espera de su molienda se debe considerar un manejo logístico adecuado para lograr tal objetivo, es por ello que el orden de llegada de la materia prima debe ser respetado como orden de prioridad para la molienda.

Las cajas con la materia prima son colocadas en una tolva de alimentación, donde se vuelcan las aceitunas que luego van a ser acarreadas a través de una cinta transportadora.

4.2.2 Deshojado y Lavado

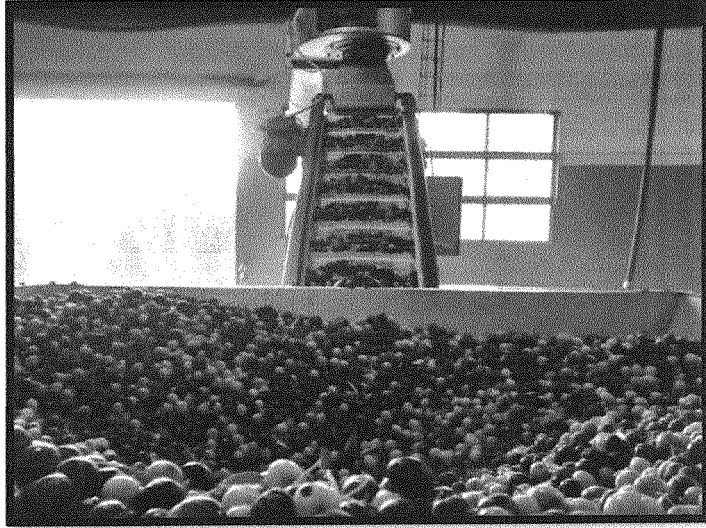
El deshojado de la aceituna se realiza mediante un turbo extractor, que es un sistema de aspiración de aire colocado encima de la cinta transportadora por la que circulan las aceitunas, la aspiración absorbe todas las impurezas de peso inferior a las aceitunas, eliminando todo elemento liviano contenido en las mismas.

Las aceitunas deshojadas pasan por una lavadora vibratoria, ésta, trabaja con agua en circulación forzada, eliminando tierra, hojas remanentes, piedras y otros elementos extraños a la aceituna.

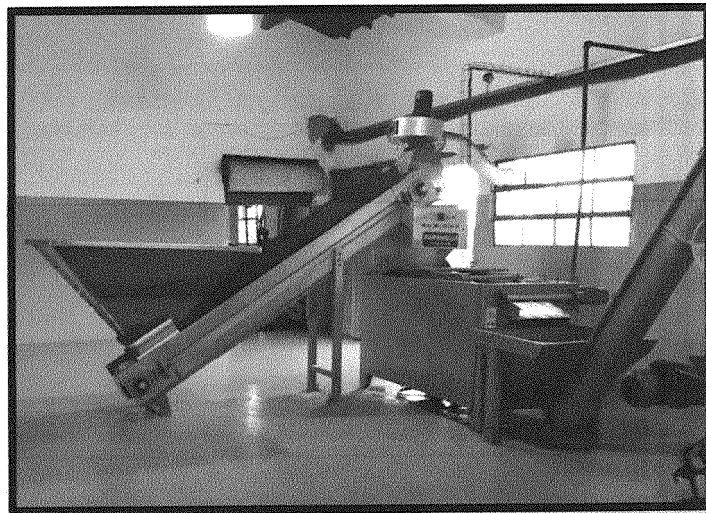
El fruto una vez preparado, limpio y lavado, se almacena en una tolva pulmón o de espera para ser molido.

Figura 12

Imagen de la tolva de recepción, cinta transportadora y deshojadora marca Rapanelli. Almazara DON BOSCO

**Figura 13**

Lavadora marca Rapanelli. Almazara DON BOSCO



4.2.3 Molienda

La aceituna luego de ser lavada cae a una tolva pulmón, para luego ser llevada por medio de un sin fin elevador al molino, ambos se activan del tablero de la lavadora.

La molienda de la aceituna se efectúa por medio de un molino, en este caso de distello, construido en acero inoxidable, el cual contiene una criba que por medio de la fricción causada por las cuchillas sobre la criba provocan la ruptura de la aceituna.

El objetivo es romper íntegramente la estructura vegetal de las aceitunas con el fin de liberar las gotas de aceite que se encuentran en el interior de las células que constituyen el parénquima oleoso del mesocarpio.

La molienda se produce por la acción de los martillos, que giran a un elevado número de revoluciones, que golpean la aceituna introducida por un sinfin en la cámara, y se produce la salida de la pasta a través de las perforaciones de la criba (Hermoso et al., 1991).

Relacionado con el rendimiento industrial está el grado de molienda de la aceituna, reconocible por el tamaño medio de las fracciones de hueso, presencia de hollejos, etc., que es regulable por el diámetro de las perforaciones de la criba (Espínola, 1996; Hermoso et al., 1998).

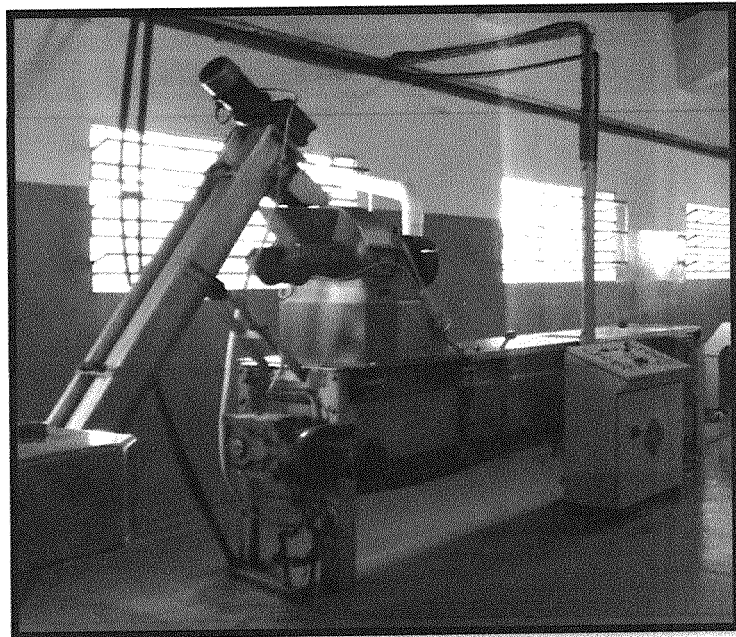
Si el grado de molienda es excesivamente grueso, para el tipo de aceituna que se trata, no se romperán todas las células y, en consecuencia, los orujos tendrán un alto contenido graso. Por otra parte, si el grado de molienda es excesivamente fino se pueden formar sistemas coloidales y emulsiones cuya

consecuencia será un menor rendimiento industrial. Como norma, cuando las aceitunas están verdes o comenzando el envero se suele moler con la criba más fina ya que, aunque se forman emulsiones, se consigue liberar mayor cantidad de aceite que con cribas gruesas.

Conforme avanza la maduración del fruto, unido a la facilidad con que se libera el aceite, se suelen emplear cribas de mayor tamaño de agujero.

Figura 14

Molino y amasadora marca Rapanelli. Almazara DON BOSCO



4.2.4 Batido o Amasado

La pasta de aceituna obtenida en el paso anterior pasa a la amasadora, compuesta por tres cuerpos en Bach, en su interior posee paletas que giran a muy baja velocidad. Estas amasadoras constan de una doble camisa por donde circula agua caliente, considerando que la temperatura de la pasta no debe superar los

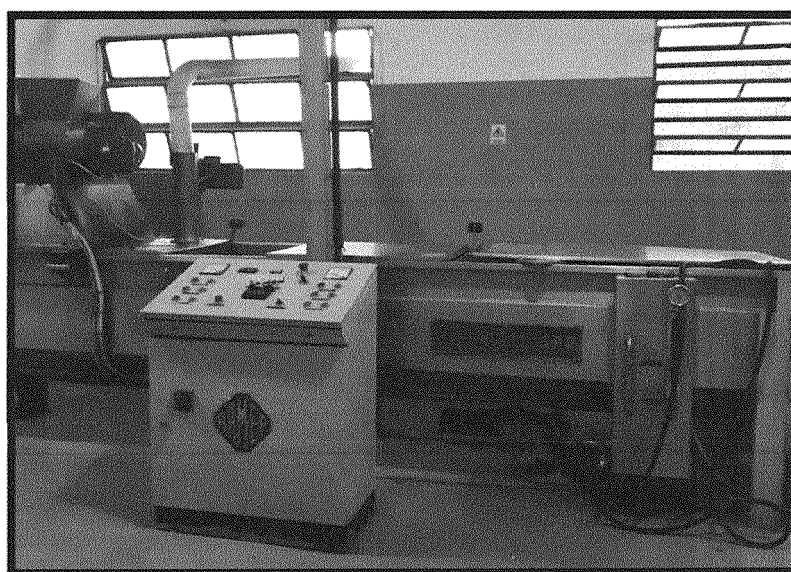
28°C, se debe regular la temperatura de ingreso del agua ya que temperaturas elevadas perjudicarán las características sensoriales.

La operación de batido tiene la misión de fomentar el movimiento de las pequeñas gotas de aceite y de agua que se encuentran casi liberadas por la trituración y facilitar la coalescencia de las fases.

Para alcanzar el objetivo del batido se utilizan básicamente los siguientes efectos: el movimiento lento de la pasta, para promover el encuentro de las gotas, el incremento de temperatura, para disminuir la viscosidad y que se desplacen con más facilidad las gotas, y el tiempo, para que los dos efectos anteriores puedan tener lugar. Tanto la temperatura de batido como la duración de esta operación tienen influencia sobre el rendimiento del aceite extraído (Di Giovacchino, 1991b; Vatigliano y Radogna, 1972) y sobre la calidad del mismo (Hermoso et al., 1991).

Figura 15

Tablero de control y amasadora marca Rapanelli. Almazara DON BOSCO



4.2.5 Centrifugado Horizontal (Decanter)

En esta etapa la pasta de aceituna es enviada a una centrífuga horizontal, por medio de una bomba.

El decanter produce la separación de 2 fases: La “fase semisólida” o “Alperujo”, constituida por trozos de hueso, restos de tejidos de la aceituna y el agua de vegetación, y las “fase líquida”, formada por el aceite y el agua de vegetación también. El alperujo es desechado por medio de una bomba al exterior y es retirado por un contenedor de la Almazara.

El decantador centrífugo que se utiliza consta de un tambor cónico-cilíndrico de eje horizontal que gira a gran velocidad, sometiendo la pasta a centrifugación. Un tornillo sinfin dispuesto dentro del tambor, con velocidad de rotación un poco distinta a la de éste, produce el lento desplazamiento relativo de los sólidos respecto del tambor, lo que permite extraerlos por una salida situada en el lado de menor diámetro del cono. Un separador dispuesto en el lado opuesto del cono permite obtener las dos fases líquidas. La máquina se completa con un cárter externo de protección contra el riesgo que representan las partes giratorias, el motor eléctrico y los mandos de transmisión.

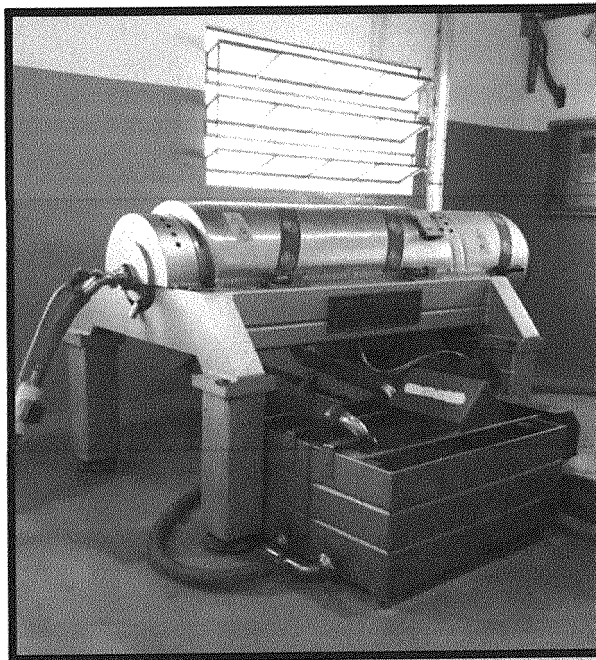
Por efecto de la fuerza centrífuga aparecen tres capas sucesivas, escalonadas de mayor a menor de densidad: una exterior formada por sólidos húmedos, en el centro una líquida, formada principalmente por agua, y la tercera interior, por ser más ligera, que contiene la mayor parte de la fracción oleosa. El tornillo sin fin tiene la misión de recuperar la capa sólida que se deposita continuamente en la pared, desplazándola poco a poco hacia el extremo del cono

hasta la salida y expulsándola debido a la fuerza centrífuga.

La utilización de este sistema de dos fases en la elaboración del AOVE tiene como consecuencia la eliminación de los alpechines del proceso y al mismo tiempo, se produce un orujo de elevada humedad, que lleva las sustancias que, en los sistemas de tres fases, contenía el alpechín.

Figura 16

Decanter de dos fases marca Rapanelli. Almazara DON BOSCO



4.2.6 Centrifugado Vertical

El aceite obtenido del decanter suele arrastrar pequeñas partículas sólidas y algunas gotas del agua de vegetación, por lo que debe ser purificado antes de enviarlo al almacén. Para esto, el aceite pasa a un segundo centrifugado. La centrífuga que se utiliza es una de discos vertical que gira a 7500 rpm aproximadamente. Consta de un cilindro formado por un doble tronco de cono y

un conjunto de platos troncocónicos en su interior que giran solidariamente con el eje central y extrae la pequeña cantidad de agua que quedó contenida en la parte oleosa. En este proceso se controla la temperatura del aceite producido, como así también la acidez del mismo, designando un tanque de destino.

Antes de entrar en el cuerpo de la centrífuga, los aceites se mezclan con un poco de agua y se introducen, por la parte superior, a través del eje hueco hasta llegar a un deflector en el que se reparten. La mezcla aceite-agua va penetrando entre los platos que, actuando como centrífugas elementales, separan las distintas fases:

- Los sólidos son lanzados al radio mayor del cilindro
- El alpechín también es expulsado fuera de los platos
- El aceite queda en la parte de los platos que pega al eje

En pleno funcionamiento, el interior de la centrífuga está completamente lleno de líquido, lo que obliga a las dos fases líquidas a ocupar sus respectivas coronas circulares. Así, el aceite asciende pegado al eje de rotación, saliendo por los orificios practicados a éste. Por el contrario, las aguas de vegetación son despedidas por los platos, buscando su salida junto a la pared interior del bol. Los sólidos quedan en la unión del doble tronco de cono que forma el bol, que es el lugar más distante del eje de rotación.

Las centrífugas poseen un sistema de limpieza manual, que se realiza una vez por semana o en una frecuencia inferior dependiendo de la cantidad de aceituna molida, en donde se desarma la parte superior, se extraen los platos y se limpia profundamente.

4.2.7 Almacenamiento y Decantación

El aceite posterior al centrifugado vertical siempre presenta impurezas, generalmente inferiores al 0,05 %, formadas por agua (en estado libre, en suspensión coloidal, en emulsión o micro emulsión) y sustancias ajenas al aceite que es necesario eliminar, durante el almacenamiento del aceite, para evitar su deterioro (Ranalli, 1989).

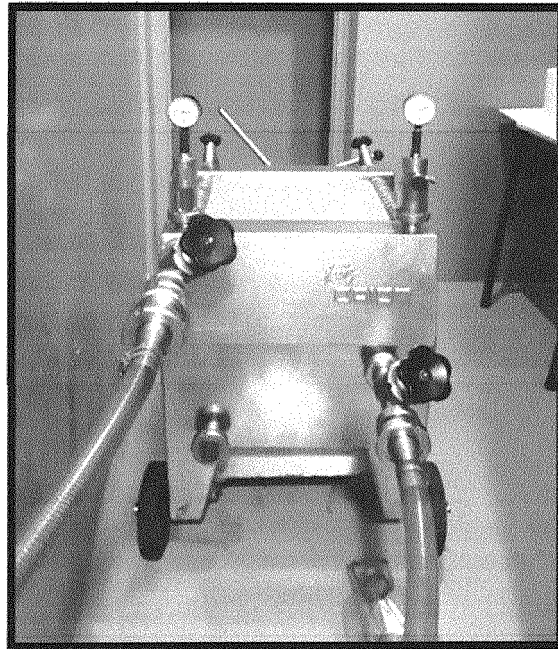
El almacenamiento se realiza en tanques de acero inoxidable de 2800 litros de capacidad, dejando el menor espacio de cabeza posible, espacio que alberga oxígeno, que acelera los procesos oxidativos, allí se dejará el aceite en reposo con el fin de provocar la sedimentación de partículas sólidas pesadas, realizando desborres diarios. La temperatura del sector de tanques no debe superar los 20°C.

4.2.8 Filtración

El aceite posteriormente es sometido a un proceso de filtrado y abrillantado mediante la utilización de un filtro de placas con filtros de celulosa. Con ello se logra dar al aceite la limpidez necesaria para el posterior fraccionamiento.

Figura 17

Filtro de placas marca Orión. Almazara DON BOSCO



CAPÍTULO 5: METODOLOGÍA DE ANÁLISIS

5.1 Resumen

El objetivo de este trabajo es analizar la elaboración de AOVE de variedad Arauco, geolocalizada, relacionando su composición biofenólica con su índice de madurez en tres temporadas diferentes de cosecha.

El AOVE fue elaborado con aceitunas variedad Arauco de proveedores geolocalizados, en condiciones controladas, en las campañas 2019 ,2020 y 2021.

Los parámetros de proceso de obtención de AOVE, como los tiempos y temperaturas de batido se controlaron en el momento de la producción, con las planillas correspondientes.

Las determinaciones de biofenoles totales, oleocantal, tirosol e hidroxitirosol se realizaron aplicando metodología recomendada por el Consejo Oleícola Internacional (COI).

5.2 Objetivos

- Conocer el contenido de los componentes bioactivos biofenoles totales, tirosol, hidroxitirosol y oleocantal del AOVE variedad Arauco, la variedad autóctona argentina.
- Determinar el Índice de Madurez de las aceitunas variedad Arauco con las que se obtuvo el AOVE analizado.

5.3 Materiales y Métodos

Se obtuvieron aceitunas variedad Arauco con trazabilidad en mayo y junio del 2019, mayo del 2020 y mayo y junio del 2021. Las aceitunas de variedad Arauco de proveedores geolocalizados se recibieron en Rodeo del Medio, en el departamento de Maipú-Mendoza.

El AOVE fue obtenido en la Almazara Don Bosco en condiciones de proceso controladas.

El proceso de obtención se efectuó dentro de las 12 horas después de la cosecha, con una línea de 2 fases Marca Rapanelli de 1200 kg/h, con temperatura de proceso de $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, el tiempo de batido fue de 30 ± 2 min y el tiempo de permanencia de la pasta en el Bach de la amasadora no superó los 60 ± 2 min. Una vez obtenidos los AOVE, los mismos fueron decantados, desborrados, filtrados y almacenados en condiciones controladas. Las muestras fueron conservadas a 5°C y al abrigo de la luz hasta su análisis.

El contenido de biofenoles totales, oleocantal, tirosol e hidroxitirosol se determinó mediante HPLC según la técnica del COI/T.20/Doc. No 29/Rev.1 2017 en la Planta Piloto de Ingeniería Química – PLAPIQUI (UNS-CONICET) y Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina.

5.4 Índice de Madurez

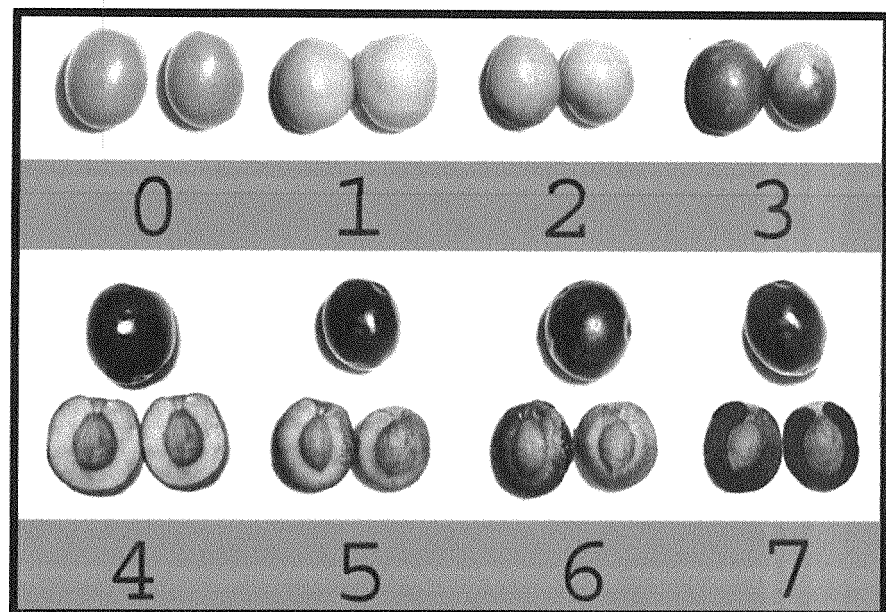
Para determinar dicho índice se toman 100 frutos al azar entre la muestra representativa y se clasifican en 8 grupos y se denotan las fases externas e internas de coloración de la pulpa. La clasificación tiene las siguientes

categorías:

0. Piel verde intenso.
1. Piel verde amarillento.
2. Piel verde con manchas rojizas en un tercio del fruto. Inicio de envero.
3. Piel rojiza o morada en más de la mitad del fruto. Final envero.
4. Piel negra y pulpa blanca.
5. Piel negra y pulpa morada sin cubrir aún la mitad de la pulpa.
6. Piel negra y pulpa morada sin llegar al hueso.
7. Piel negra y pulpa totalmente morada.

Figura 18

Cambio de coloración de la aceituna en diferentes estados de maduración¹⁴



¹⁴ Referencias numéricas de cada uno de los estados para evaluar el Índice de Madurez de la aceituna. Imagen cedida por Victorino A. Vega Macías (Investigador del IFAPA de Córdoba). Fuente: Elaboración de aceite de oliva virgen de calidad. Consideraciones desde la experiencia y el conocimiento. Marzo 2019. Fundación Caja Rural de Jaén www.fundacioncjr.es

El IM se calcula como:

$$\text{IM} = \frac{Ax0+Bx1+Cx2+Dx3+Ex4+Fx5+Gx6+Hx7}{100}$$

*Donde A, B, C, D, E, F, G y H son el número de frutos de las clases 0, 1, 2, 3, 4, 5,6 y 7, respectivamente.

El IM es la sumatoria de los productos del número de frutos de cada clase por el valor numérico de cada clase dividido en 100.

Este tipo de información es de fundamental importancia si el propósito es aceite de oliva, ya que el inicio de la madurez del fruto (envero de las aceitunas) coincide con el rendimiento máximo de aceite y su mejor calidad. Es categórico apuntar a la obtención de AOVE, lo que obliga a recoger los frutos en el momento óptimo de cosecha; esto es, el estado de maduración en que se alcanza el mayor contenido de aceite posible y de excelente calidad (características físico-químicas y sensoriales). Durante la maduración de los frutos ocurre en su interior una diferenciación bioquímica importante que determina las características del aceite.

5.5 Cromatografía de líquidos HPLC

5.5.1 Principios de la técnica

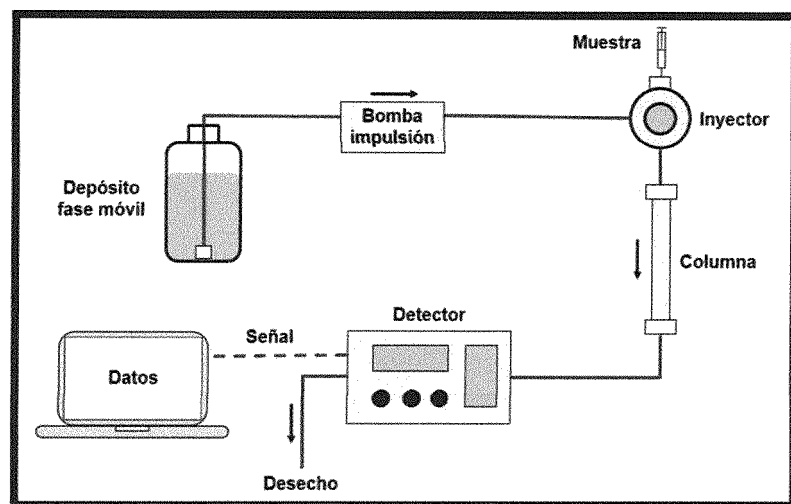
La cromatografía líquida HPLC (High-Performance Liquid Chromatography), es una técnica utilizada para separar los componentes de una

mezcla. Consiste en una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil. La fase móvil actúa como portador de la muestra, esta es inyectada en la columna, los componentes de la solución emigran de acuerdo a las interacciones no-covalentes de los compuestos. Estas interacciones químicas, determinan la separación de los contenidos en la muestra.

En la HPLC, un disolvente líquido que contiene la mezcla de las moléculas a identificar se hace pasar a través de una columna densamente empaquetada con pequeñas esferas de resina insoluble. Es necesario emplear bombas de alta presión de precisión, ya que la resina está densamente empaquetada y el líquido debe ser bombeado a través de la columna a elevada presión.

Figura 19

Funcionamiento de un sistema HPLC¹⁵



Físicamente, una columna de HPLC es un tubo de acero inoxidable con un diámetro interno uniforme y dentro del cual se encuentra la fase estacionaria.

A diferencia de la cromatografía de gases, la cromatografía de líquidos de

¹⁵ Fuente: https://viresa.com.mx/blog_que_es_hplc

alto rendimiento (HPLC, de high-performance liquid chromatography) no está limitada por la volatilidad o la estabilidad térmica de la muestra.

La HPLC ofrece una mayor variedad de fases estacionarias, lo que permite una mayor gama de estas interacciones selectivas y más posibilidades para la separación.

5.5.2 COI/T.20/Doc. n. ° 29: Determinación de los biofenoles de los AOVE mediante hplc

El método describe un procedimiento para la extracción y la cuantificación de los componentes menores polares de naturaleza biofenólica, como los derivados naturales u oxidados de la oleuropeína y del ligustrósido, los lignanos, los flavonoides y los ácidos fenólicos presentes en el AOVE, utilizando la técnica HPLC. El campo de medición va de 30 mg/kg a 800 mg/kg.

El contenido en derivados naturales u oxidados de la oleuropeína y del ligustrósido, en lignanos, en flavonoides y en ácidos fenólicos se expresa en mg/kg de tirosol.

CAPÍTULO 6: RESULTADOS

6.1 Resumen

En este capítulo vamos a presentar los datos obtenidos mediante las técnicas desarrolladas en el capítulo anterior, que fueron utilizados para el desarrollo de las siguientes tablas y gráficos. Estos datos están sujetos a las condiciones del estudio, por lo tanto, pueden variar de año a año.

En las temporadas 2019, 2020 y 2021 se tomaron 5,9 y 6 muestras, respectivamente, las cuales se detallan en las Tablas 3, 5 y 7, especificando fecha de muestreo, geolocalización (Departamento provincial, Latitud y Longitud), Índice de Madurez, Acidez expresada en % de ácido Oleico, temperatura de proceso, tiempo de batido y contenido biofenolico.

Con estos datos se elaboraron los gráficos que indican las distintas categorías de índice de madurez con los productores, como así el porcentaje de cada una de las categorías.

Temporada 2019

Tabla 3

Geolocalización, Índice de Madurez, parámetros de proceso y contenido de biofenoles totales e individuales de las muestras obtenidas en la temporada 2019¹⁶

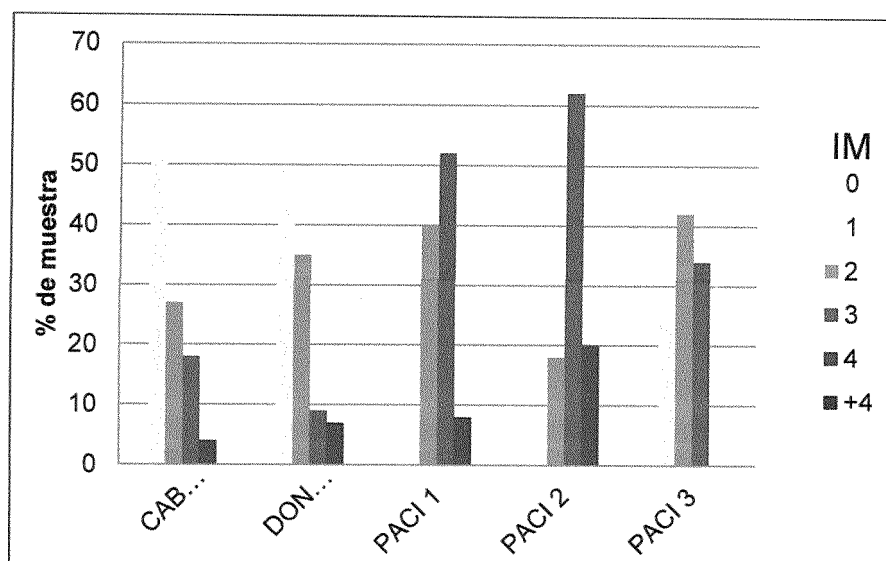
TEMPORADA 2019					
PRODUCTOR	CABALLERO	DON BOSCO	PACI 1	PACI 2	PACI 3
FECHA DE MUESTREO	28-may	29-may	30-may	6-jun	7-jun
Departamento	Rodeo del Medio - Maipú	Rodeo del Medio - Maipú	Rodeo del Medio-Maipú	Rodeo del Medio-Maipú	Rodeo del Medio-Maipú
Geolocalización : Latitud/ Longitud	-32.990162, -68.694361	-32.991824, -68.680516	Sin datos	Sin datos	Sin datos
Índice de Madurez					
0	0	0	0	0	0
1	51	49	0	0	24
2	27	35	40	18	42
3	18	9	52	62	34
4	4	7	8	20	0
+4	0	0	0	0	0
Acidez % de Ácido Oleico	0,15%	0,17%	0,18%	0,21%	0,20%
Temperatura de Proceso	27°C	28°C	26°C	27°C	26°C
Tiempos de batido	30 min	30 min	28 min	30 min	29 min
BIOFENOLES TOTALES	629,26±3,17 ^a	559,92±6,02 ^b	528,04±10,56 ^c	585,65±2,67 ^d	571,95±1,89 ^{db}
Hidroxitirosol	2,69±0,01 ^a	3,73±0,02 ^b	2,34±0,16 ^a	4,75±0,66 ^c	4,87±0,24 ^c
Tirosol	9,64±0,48 ^a	9,13±0,20 ^{ab}	6,71±0,60 ^c	10,50±1,99 ^a	8,04±0,23 ^{bc}
Oleocantal	25,27±0,20 ^a	49,44±2,10 ^b	28,07±3,37 ^{ac}	33,37±0,93 ^c	33,14±1,80 ^c

A continuación en el gráfico 1 podemos observar con respecto a las muestras de aceitunas correspondientes a la temporada 2019, el porcentaje de cada una de las categorías del índice de madurez, de cada uno de los productores analizados.

¹⁶ Valores medios ± S.D. medidos a 280 nm y expresados en mg Eq. de tirosol/kg de aceite según el método COI/T.20/Doc. n°. 29. Diferentes letras en una fila indican diferencias significativas $p \leq 0.05$.

Gráfico 1

Distribución % del índice de madurez de las muestras obtenidas por productor (2019)

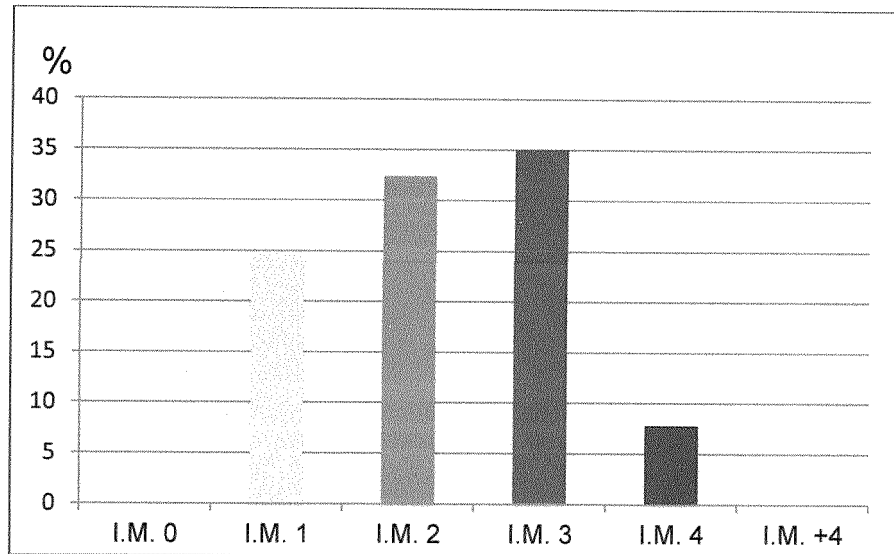


En la muestra de Caballero, la categoría mayoritaria es la 1; en la muestra de Don Bosco, la categoría mayoritaria es la 1, pero con un porcentaje cercano a éste en la categoría 2, en las muestras de Paci 1 y Paci 2, la categoría mayoritaria es la 3; y en la de Paci 3 es la categoría 2.

En el gráfico 2 podemos observar la distribución porcentual promedio de las categorías del índice de madurez en cuanto a las 5 muestras, lo que nos indica que la categoría 3 es la de mayor cantidad, con un 35%, seguida de la categoría 2 con un 32,4% y la categoría 1 con un 24,8%.

Gráfico 2

Distribución % del índice de madurez promedio de las muestras geolocalizadas obtenidas de los distintos productores en el 2019



Teniendo en cuenta los valores de madurez de los frutos expresados en la Tabla 3, y utilizando el cálculo correspondiente, obtenemos para la temporada 2019 el siguiente promedio global: $IM = 2,4$

Con respecto al contenido de biofenoles totales, oleocantal, tirosol e hidroxitirosol determinados mediante HPLC según la técnica del COI/T.20/Doc. No 29/Rev.1 2017, correspondientes a las 5 muestras de la temporada 2019 se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 4

Datos estadísticos obtenidos de todas las muestras analizadas en la temporada 2019¹⁷

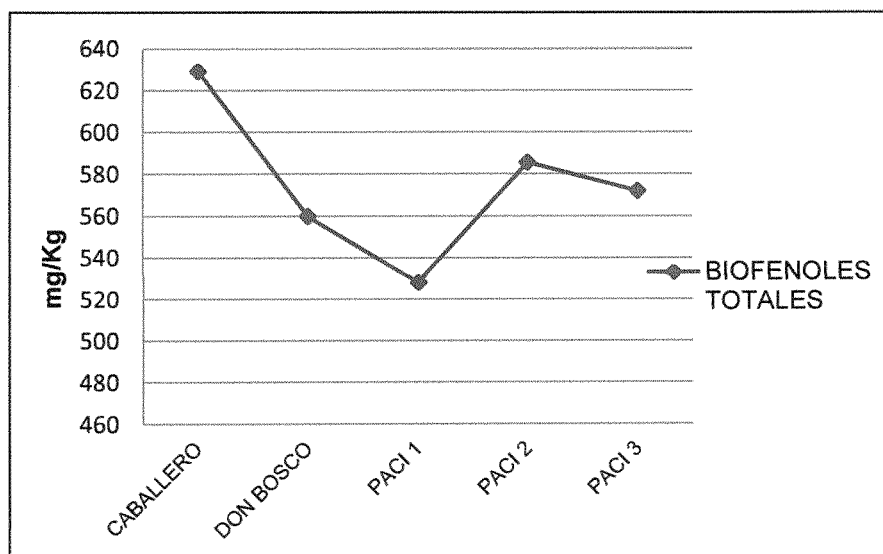
Datos estadísticos	Media	Desviación Estándar	Min.	Máx.	Mediana
Biofenoles totales	574,96	37,08	528,04	629,26	571,95
Hidroxitirosol	3,68	1,16	2,34	4,87	3,73
Tirosol	8,8	1,47	6,71	10,5	9,13
Oleocantal	33,86	9,36	25,27	49,44	33,14

Seguidamente, como podemos notar en el gráfico 3, el contenido de biofenoles totales alcanza un máximo en la muestra correspondiente a Caballero, con 629,26 mg/ Kg, y un mínimo correspondiente a la muestra de Paci 1, con 528,04 mg/Kg.

¹⁷ Valores expresados en mg Eq. de tirosol/kg de aceite según el método COI/T.20/Doc. n°. 29.

Gráfico 3

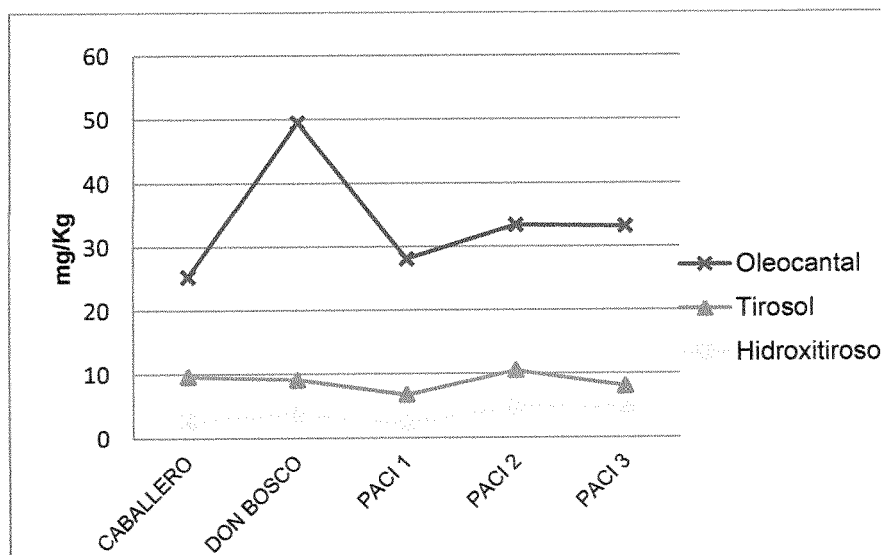
Distribución del contenido de biofenoles totales de cada uno de las muestras



Nota: Elaboración a base de los datos de la Tabla 3

Gráfico 4

Distribución del contenido de oleocantal, tirosol e hidroxitirosol de las muestras



Nota: Elaboración a base de los datos de la Tabla 3

Temporada 2020

Tabla 5

Geolocalización, Índice de Madurez, parámetros de proceso y contenido de biofenoles totales e individuales de las muestras obtenidas en la temporada 2020¹⁸

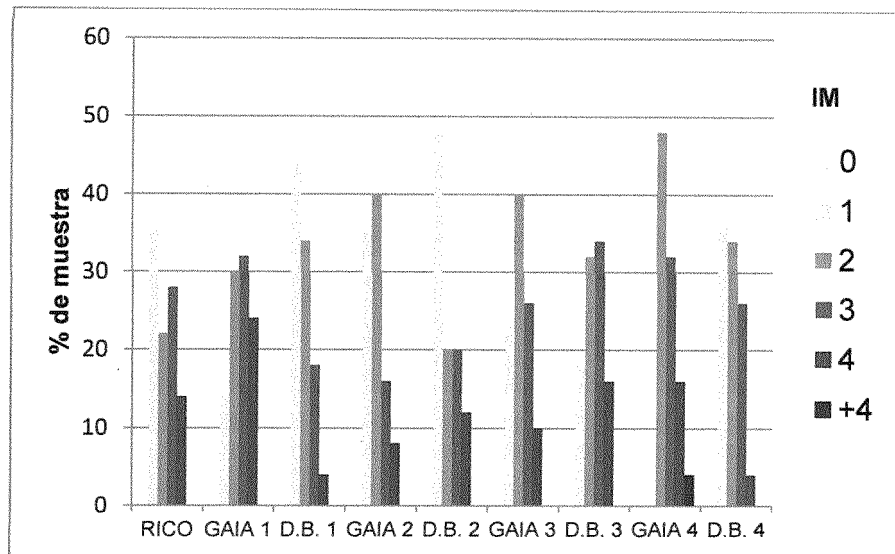
TEMPORADA 2020									
PRODUCTOR	RICO	GAIA 1	DON BOSCO 1	GAIA 2	DON BOSCO 2	GAIA 3	DON BOSCO 3	GAIA 4	DON BOSCO 4
FECHA DE MUESTREO	12-may	13-may	13-may	14-may	14-may	15-may	15-may	19-may	19-may
Departamento	Rodeo del Medio-Maipú	Medrano	Rodeo del Medio-Maipú	Medrano	Rodeo del Medio-Maipú	Medrano	Rodeo del Medio-Maipú	Medrano	Rodeo del Medio-Maipú
Geolocalización Latitud/ Longitud	32.960418, -68.650497	33.219853, -68.506958	32.991824, -68.680516	33.219853, -68.506958	32.991824, -68.680516	33.219853, -68.506958	32.991824, -68.680516	33.219853, -68.506958	32.991824, -68.680516
Índice de Madurez									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	36	14	44	36	48	24	18	0	36
2	22	30	34	40	20	40	32	48	34
3	28	32	18	16	20	26	34	32	26
4	14	24	4	8	12	10	16	16	4
+4	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Acidez % de Ácido Oleico	0,18%	0,11%	0,11%	0,17%	0,15%	14,40%	14,40%	0,20%	0,20%
Temperatura de Proceso	27,4 °C	29,1 °C	29,1 °C	26,8 °C	28,1 °C	28,9 °C	28,9 °C	29,2 °C	29,2 °C
Tiempos de batido	30,4 min	32,8 min	32,8 min	34,9 min	31,1 min	32,5 min	32,5 min	36,9 min	36,9 min
BIOFENOLES TOTALES	487,9±13,5d	566,7±4,6c	561,9±7,1c	699,5±12,5b	574,2±23,2c	726,9±4,7b	736,5±2,8ab	786,0±10,7a	725,6±18,4b
Hidroxitirosol	7,32±0,14d	3,95±0,02e	6,86±0,15d	17,13±0,44a	12,05±0,62c	4,65±0,22e	4,67±0,10e	6,33±0,24d	13,87±0,23b
Tirosol	8,07±0,02c	6,08±0,09d	8,03±0,46c	12,33±0,20a	13,6±0,69a	6,20±0,62d	5,34±0,27d	8,88±0,08bc	9,88±4,35b
Oleocantal	31,08±1,46d	47,86±0,15bc	34,13±1,56d	34,32±2,59d	63,64±4,49a	41,58±1,28c	35,43±0,27d	53,53±0,18bc	50,5±0,12bc

En el gráfico 5 podemos observar con respecto a las muestras de aceitunas correspondientes a la temporada 2020, el porcentaje de cada una de las categorías del índice de madurez, de cada uno de los productores analizados.

¹⁸ Valores medios ± S.D. medidos a 280 nm y expresados en mg Eq. de tirosol/kg de aceite según el método COIT.20/Doc. n°. 29. Diferentes letras en una fila indican diferencias significativas $p \leq 0.05$.

Gráfico 5

Distribución % del índice de madurez de las muestras obtenidas por productor (2020)

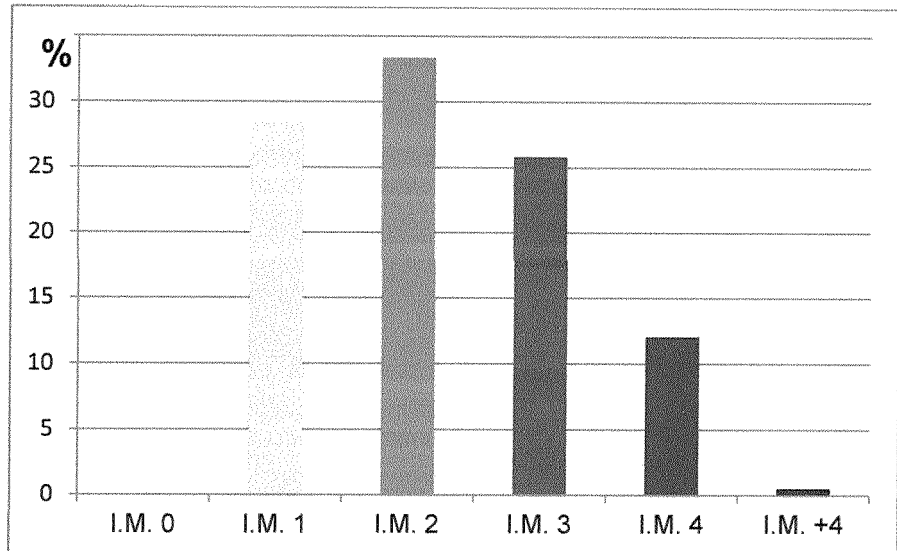


En las muestras de Gaía, la categoría mayoritaria es la 2, en las muestras de Don Bosco, la categoría mayoritaria es la 1, pero con un leve cambio en la categoría 2 al pasar el tiempo; y en la muestra de Rico, la categoría mayoritaria es la 1.

En el gráfico 6 podemos observar la distribución porcentual promedio de las categorías del índice de madurez en cuanto a las 9 muestras, lo que nos indica que la categoría 2 es la de mayor cantidad, con un 33,3%, seguida de la categoría 1 con un 28,4%; la categoría 3 posee un 25,78% y la categoría 4 tiene un 12,0%.

Gráfico 6

Distribución % del índice de madurez de las muestras geolocalizadas, obtenidas de los distintos productores en el 2020



Teniendo en cuenta los valores de madurez de los frutos expresados en la Tabla 5, y utilizando el cálculo correspondiente, obtenemos para la temporada 2020 el siguiente promedio global: $\overline{IM} = 2,2$

Con respecto al contenido de biofenoles totales, oleocantal, tirosol e hidroxitirosol determinados mediante HPLC según la técnica del COI/T.20/Doc. No 29/Rev.1 2017, correspondientes a las 9 muestras de la temporada 2020 se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 6

Datos estadísticos obtenidos de todas las muestras analizadas en la temporada 2020¹⁹

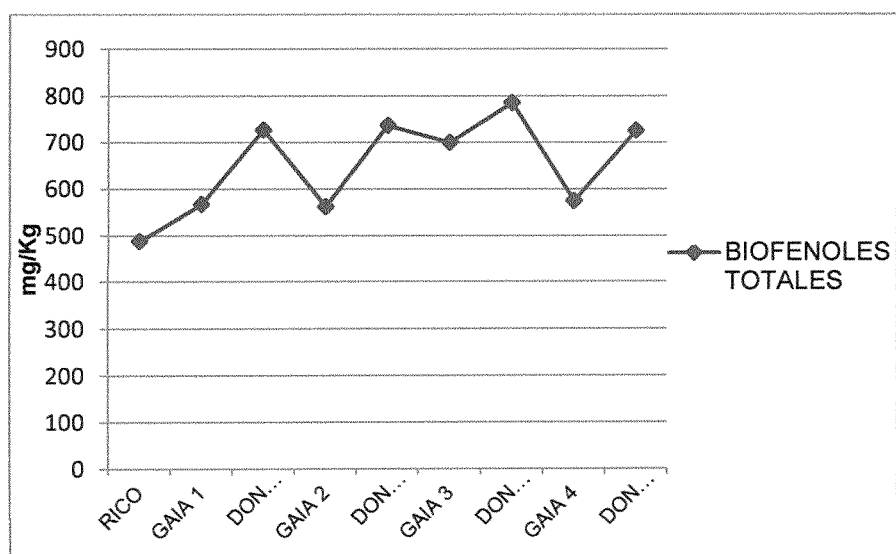
Datos estadísticos	Media	Desviación estándar	Min.	Máx.	Mediana
Biofenoles Totales	651,7	104,14	487,9	786	699,5
Hidroxitirosol	8,54	4,68	3,95	17,13	6,86
Tirosol	8,71	2,83	5,34	13,6	8,07
Oleocantal	43,56	11,01	31,08	63,64	41,58

Como podemos notar en el gráfico 7, el contenido de biofenoles totales alcanza un máximo en la muestra correspondiente a Don Bosco 3, con 786,0 mg/Kg de aceite, tomada el 15 de mayo; y un mínimo correspondiente a la muestra de Rico, con 487,9 mg/Kg de aceite.

¹⁹ Valores expresados en mg Eq. de tirosol/kg de aceite según el método COI/T.20/Doc. n°. 29.

Gráfico 7

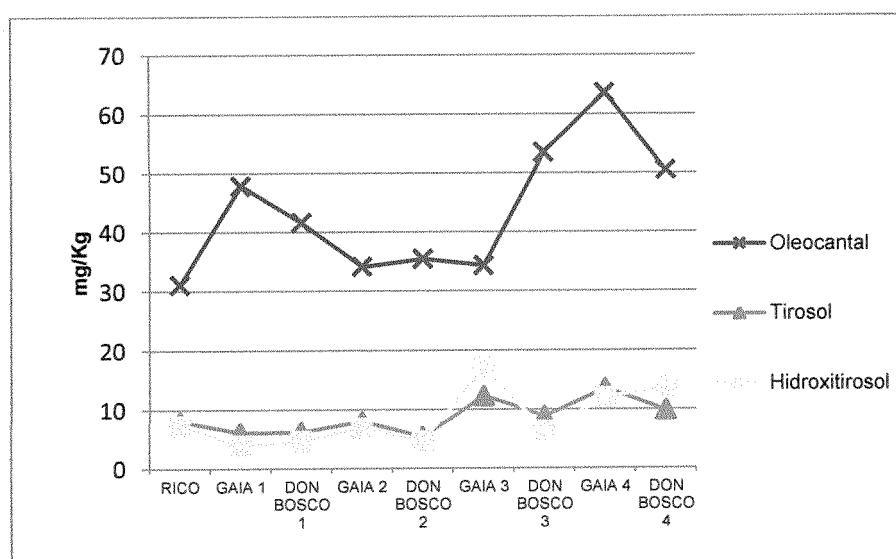
Distribución del contenido de biofenoles totales de cada uno de las muestras



Nota: Elaboración a base de los datos de la Tabla 5

Gráfico 8

Distribución del contenido de oleocantal, tirosol e hidroxitirosol de las muestras



Nota: Elaboración a base de los datos de la Tabla 5

Temporada 2021

Tabla 7

Geolocalización, Índice de Madurez, parámetros de proceso y contenido de biofenoles totales e individuales de las muestras obtenidas en la temporada 2021²⁰

TEMPORADA 2021						
PRODUCTOR	ALBA/ GOULART /D.B.	PELAIA/D. B.	PELAIA	VARGAS/ GOULART / D.B.	GAIA	DEL POPPOLO /CABALLER O/ FIRMANI
FECHA DE MUESTREO	8-may	13-may	14-may	19-may	3-jun	10-jun
Departamento	Rodeo del Medio y Barrancas -Maipú	Rodeo del Medio-Maipú	Rodeo del Medio-Maipú	Rodeo del Medio y Barrancas-Maipú	Medrano	Rodeo del Medio-Maipú
Geolocalización: Latitud/ Longitud	32.991824, -68.680516	-33.037363, -68.707869	-33.037363, -68.707869	32.991824, -68.680516	-33.219853, -68.506958	-32.990162, -68.694361
Índice de Madurez						
0	0	8	1	17	0	8
1	21	15	5	19	0	17
2	27	20	12	24	8	17
3	27	24	36	30	16	27
4	23	29	37	10	44	30
+4	2	4	9	0	32	1
Acidez % de Ácido Oleico	0,12%	0,17%	0,18%	0,11%	0,14%	0,26%
Temperatura de Proceso	29,1°C	28,6°C	28,1°C	28,6°C	29,4°C	29,6°C
Tiempos de batido	26,8 min	29,5 min	32 min	32,5 min	31,1 min	31,5 min
BIOFENOLES TOTALES	253,9±2,9d	524,1±5,3b	515,95±8,89 b	609,9±42,8 a	458,49±3,35 b	349,12±2,09 c
Hidroxitirosol	2,81±0,41d	4,06±0,09c	5,92±0,02b	7,69±0,05a	3,08±0,24d	7,7±0,02a
Tirosol	2,61±1,35c d	4,13±0,01c	6,69±0,05b	8,62±0,94c	2,82±0,02d	8,42±0,21a
Oleocantal	25,36±0,30 c	17,5±0,8d	31,71±0,69b	26,95±1,73 c	52,63±0,14a	15,46±0,87d

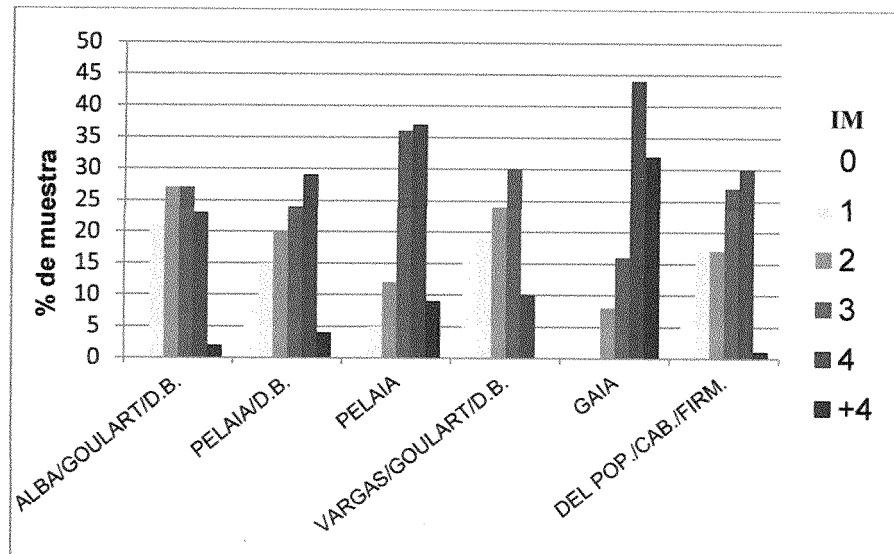
En el gráfico 9 podemos observar con respecto a las muestras de aceitunas correspondientes a la temporada 2021, el porcentaje de cada una de las categorías

²⁰ Valores medios ± S.D. medidos a 280 nm y expresados en mg Eq. de tirosol/kg de aceite según el método COI/T.20/Doc. n.º 29. Diferentes letras en una fila indican diferencias significativas $p \leq 0$.

del índice de madurez, de cada uno de los productores analizados.

Gráfico 9

Distribución % del índice de madurez de las muestras obtenidas por productor (2021)

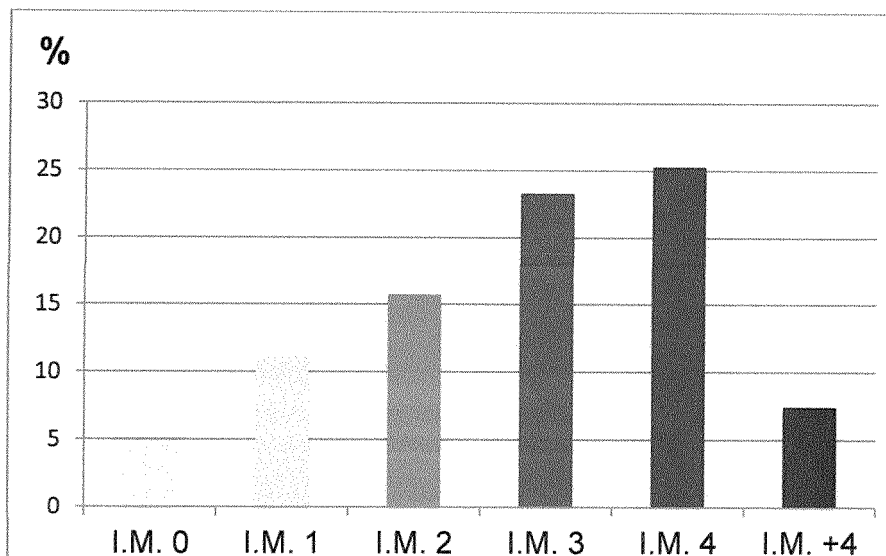


En las muestras de Alba, Goulart y D.B., las categorías 1; 2; 3 y 4 están homogéneas; en la muestra de Pelaia/D.B. la categoría mayoritaria por poco es la 4, en la muestra de Pelaia las categorías predominantes son la 3 y 4, en las muestras de Gaía, la categoría mayoritaria es la 4, con un alto porcentaje, seguida de la categoría +4 con un 32%.

En el gráfico 10 podemos observar la distribución porcentual promedio de las categorías del índice de madurez en cuanto a las 6 muestras, lo que nos indica que la categoría 4 es la de mayor cantidad con un 25,29%; seguida de la categoría 3 con un 23,29%; la categoría 2 posee un 15,71%, la categoría 1 tiene un 11,14%; la categoría +4 tiene un 7,43% y la categoría 0 posee un 4,86%

Gráfico 10

Distribución % del índice de madurez promedio de las muestras geo localizadas obtenidas de los distintos productores en el 2021



Teniendo en cuenta los valores de madurez de los frutos expresados en la Tabla 7, y utilizando el cálculo correspondiente, obtenemos para la temporada 2021 el siguiente promedio global: $IM=2,8$

Con respecto al contenido de biofenoles totales, oleocantal, tirosol e hidroxitirosol determinados mediante HPLC según la técnica del COI/T.20/Doc. No 29/Rev.1 2017, correspondientes a las 6 muestras de la temporada 2021 se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 8

Datos estadísticos obtenidos de todas las muestras analizadas en la temporada 2021²¹

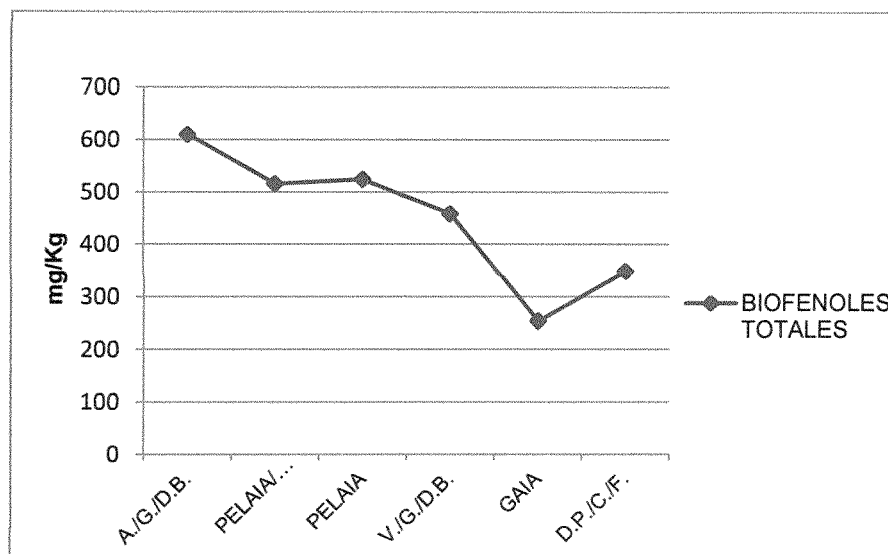
Datos Estadísticos	Media	Desviación estándar	Min.	Máx.	Mediana
Biofenoles Totales	451,91	129,68	253,9	609,9	487,22
Hidroxitirosol	5,21	2,21	2,81	7,7	4,99
Tirosol	5,55	2,72	2,61	8,62	5,41
Oleocantal	28,27	13,38	15,46	52,63	26,16

Como podemos notar en el gráfico 11, el contenido de biofenoles totales alcanza un máximo en la muestra correspondiente a Alba/Goulart/D.B., con 609,9 mg/ Kg de aceite, tomada el 8 de mayo; y un mínimo correspondiente a la muestra de Del Poppolo/Caballero/Firmani, con 253,9 mg/Kg de aceite, tomada el 10 de Junio.

²¹ Valores expresados en mg Eq. de tirosol/kg de aceite según el método COI/T.20/Doc. n°. 29.

Gráfico 11

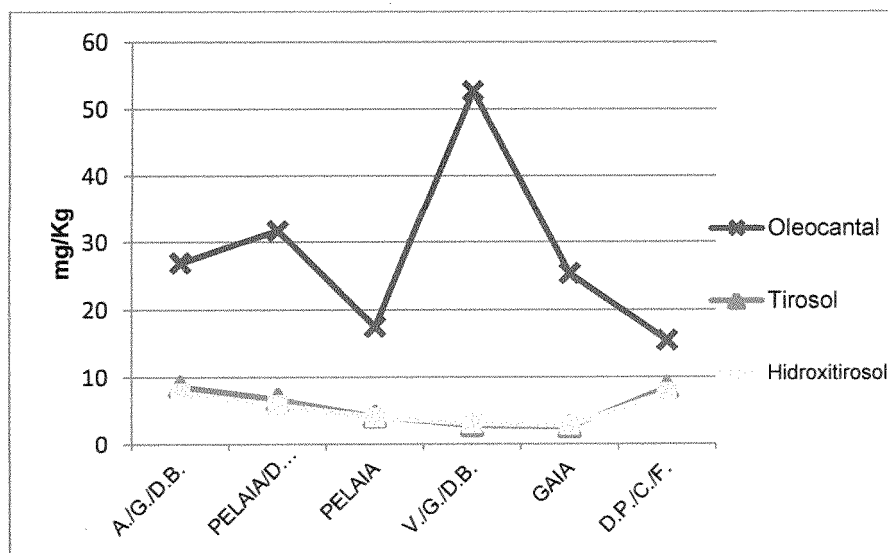
Distribución del contenido de biofenoles totales de cada uno de las muestras



Nota: Elaboración a base de los datos de la Tabla 7

Gráfico 12

Distribución del contenido de oleocantal, tirosol e hidroxitirosol de las muestras



Nota: Elaboración a base de los datos de la Tabla 7

Comparación Anual

A continuación podemos observar la tabla correspondiente a los datos promedio de cada año, de la materia prima y AOVE utilizado respectivamente.

Tabla 9

Promedio anual de Índice de Madurez, parámetros de proceso y contenido de biofenoles totales, hidroxitirosol, tirosol y oleocantal de las muestras analizadas²²

Temporadas	2019	2020	2021
FECHA DE MUESTREO	Mayo-Junio	Mayo	Mayo-Junio
Departamento/ distrito	Rodeo del Medio	Rodeo del medio - Medrano	Rodeo del medio – Medrano-Barrancas
Índice de Madurez	2,4	2,2	2,8
Acidez % de ácido Oleico	0,18%	0,16%	0,16%
Temperatura de Proceso	26,8°C	28,52°C	28,9°C
Tiempos de batido	29,4 min	30 min	30,5 min
Rendimiento Industrial g%g	15,44%	15,03%	14,82%
Biofenoles totales	575±37ab	672,2±89,9a	527,1±60,16b
Hidroxitirosol	3,68±1,16b	8,54±4,68a	6,34±1,74ab
Tirosol	8,80±1,47	8,71±2,83	7,07±1,90
Oleocantal	33,86±9,36	43,56±11,01	34,16±12,6

²² Valor obtenido utilizando referencias numéricas de cada uno de los estados para evaluar el Índice de Madurez de la aceituna.

Valores medios ± S.D. medidos a 280 nm y expresados en mg Eq. de tirosol/kg de aceite según el método COI/T.20/Doc. n° 29. Diferentes letras en una fila indican diferencias significativas $p \leq 0.05$.

Seguidamente podemos ver los gráficos correspondientes a los datos biofenolicos promedio de cada año, en cuanto a biofenoles totales, contenido de hidroxitirosol, tirosol y oleocantal.

Gráfico 13

Promedio anual del contenido de hidroxitirosol, tirosol, oleocantal y biofenoles totales

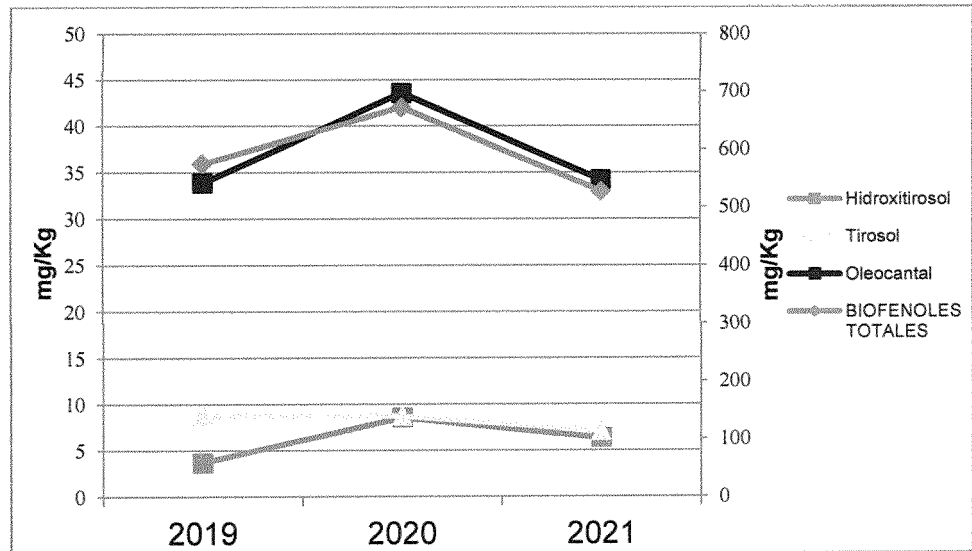
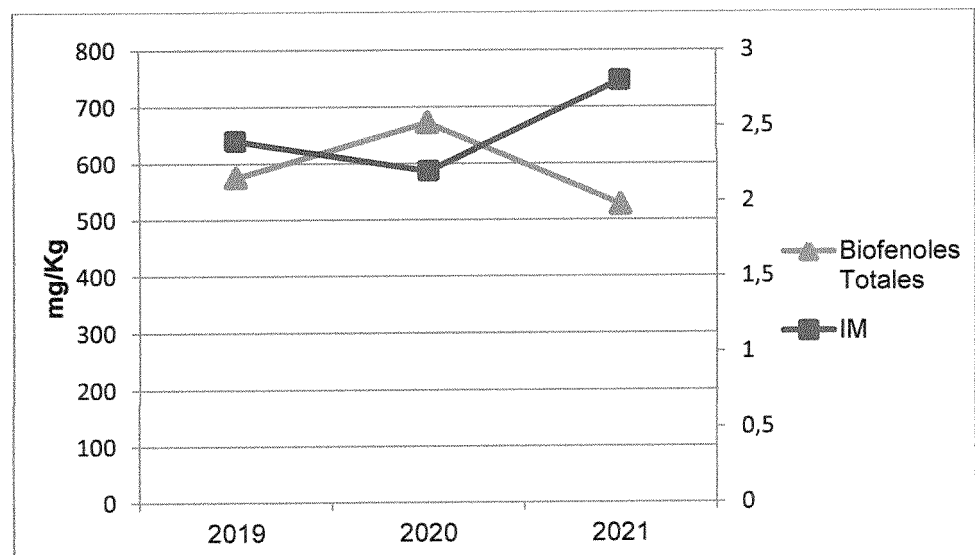


Gráfico 14

Relación entre el contenido de biofenoles totales y el índice de madurez, por año



CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

Con respecto a la temporada 2019 se puede observar que la distribución de las categorías del índice de madurez van aumentando a medida que pasa el tiempo, encontrándose el mayor promedio en la categoría 3, y obteniéndose un IM promedio global de 2,4; los aceites obtenidos en junio presentan un leve aumento en el contenido de compuestos biofenolicos comparado con los aceites obtenidos en el mes de mayo; además se puede observar que el contenido de biofenoles totales disminuye con el aumento del índice de madurez, y a medida que disminuye el % de aceitunas con IM 0, aumenta el contenido de hidroxitirosol, tirosol y oleocantal. En relación con los parámetros de proceso, podemos decir que a medida que disminuye el tiempo de batido, aumenta el contenido de los compuestos biofenolicos.

Con respecto a la temporada 2020, se puede observar que la zona de Rodeo del Medio presenta mayor contenido de biofenoles totales que la zona de Medrano; y en cuanto al contenido de hidroxitirosol, tirosol y oleocantal, las muestras de Medrano son mayores respecto a las de Rodeo del Medio; si bien todas las muestras fueron realizadas en mayo, la distribución de las categorías del índice de madurez van aumentando a medida que pasa el tiempo, encontrándose el mayor promedio en la categoría 2, y obteniéndose un IM promedio global de 2,2.

No se encuentran variables significativas en cuanto a los parámetros de proceso y contenido biofenólico; el promedio del contenido de biofenoles totales en el 2020 es mayor que en el año anterior porque la cosecha de las muestras se concentró en el mes de Mayo.

En cuanto a la temporada 2021, podemos decir que la distribución de las categorías del índice de madurez va aumentando a medida que pasa el tiempo, encontrándose el mayor promedio en la categoría 4, y obteniéndose un IM promedio global de 2,8; además se puede observar que el contenido de biofenoles totales disminuyen con el aumento del índice de madurez, y a medida que disminuye el % de aceitunas con IM 0, aumenta el contenido de hidroxitirosol, tirosol y oleocantal; también se puede notar que los aceites obtenidos en junio presentan un leve descenso en el contenido de compuestos biofenólicos comparado con los aceites obtenidos en el mes de mayo. Acerca de los parámetros de proceso, podemos decir que a medida que disminuye el tiempo de batido, aumenta el contenido de los compuestos biofenólicos.

Con respecto a la comparación general entre las temporadas se puede determinar que el mes de mayo resulta ser el mes más oportuno para la cosecha, donde se presentan mayor contenido y composición de biofenoles. Podemos ver que en la relación que existe entre el contenido de biofenoles totales y el índice de madurez promedio año a año, a medida que el índice de madurez baja, el contenido de biofenoles totales aumenta, y viceversa, como así también el contenido de hidroxitirosol, tirosol y oleocantal.

A medida que disminuye el tiempo de batido y la temperatura, aumenta el contenido de biofenoles totales, como así también hidroxitirosol, tirosol y oleocantal. En las condiciones del proceso de obtención de AOVE variedad Arauco, no se vio afectado significativamente el rendimiento industrial, con el adelantamiento de cosecha.

Como consecuencia del descenso en el índice de madurez, la acidez expresada en % de ácido oleico también baja, y la cantidad de biofenoles totales aumenta.

De acuerdo a la reglamentación de la Unión Europea Reglamento N°432/2012 de la comisión del 16 de mayo de 2012 se considera como alimento funcional a todos aquellos AOVE que contengan 250 ppm o más, debido a esto, los aceites de la variedad Arauco estudiados en este trabajo, son considerados como alimento funcional, con un promedio de biofenoles totales de 591,4 ppm.

En síntesis, para la elaboración de AOVE de variedad Arauco geolocalizada, se obtuvieron las siguientes cantidades promedio en compuestos biofenolicos:

- Biofenoles totales: 591,4 mg/Kg de aceite
- Hidroxitirosol: 6,1 mg/Kg de aceite
- Tirosol: 8,2 mg/Kg de aceite
- Oleocantal: 37,2 mg/Kg de aceite

Por lo tanto, concluimos que en la elaboración de AOVE variedad Arauco, logrando mantener los mismos parámetros de proceso como temperatura y tiempo, índices de madurez y geolocalización (Maipú-Mendoza), las cantidades de compuestos biofenolicos expresados determinan las características del mismo.

BIBLIOGRAFÍA

- BARRACO, D; FERNANDEZ- ESCOBAR, R; RALLO, L. (1998). El Cultivo del Olivo. (2da Ed.) Barcelona. Mundi Prens.
- BAUZA, M y otros (2011). 1ra edición. Olivicultura en Mendoza. Argentina. Fundación Manzano.
- CASTILLO, P. (2013). El complejo olivícola argentino: principales tendencias para el aceite de oliva y aceituna de mesa. Recuperado de:
http://bibliotecadigital.econ.uba.ar/download/docuciea/docuciea_n09_07.pdf
- DE LA FUENTE, P; CHAMORRO, P; MORENO, M; POZA, M. (2004). Propiedades antioxidantes del hidroxitirosol procedente de la hoja de olivo (*Olea europaea* L.).Madrid, España.
- GALLARDO MORILLO, E. (2014). Nitrocatecoles derivados de hidroxitirosol. Síntesis, biodisponibilidad y evaluación de su capacidad antioxidante y neuroprotectora. Tesis de Doctorado. Facultad de Medicina- Universidad de Málaga. España.
- GARCÍA RODRÍGUEZ, R. (2013). Factores bioquímicos implicados en la degradación oxidativa de compuestos fenólicos durante el proceso de obtención del aceite de oliva virgen. Tesis Doctoral. Departamento de Bioquímica Vegetal y Biología Molecular- Universidad de Sevilla. España.

- GÓMEZ-RICO RODRÍGUEZ-BARBERO, A. (2008). Influencia de factores agronómicos y tecnológicos en el perfil de los compuestos fenólicos y volátiles del aceite de oliva virgen de calidad. Tesis doctoral. Universidad de Castilla - La Mancha. Facultad de Ciencias Químicas- Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos. España.
- GÓMEZ, E; SALIM ROSALES, C. (2013). Actividad antioxidante de extractos de residuos de poda de olivos, *Olea europaea* L., cultivar Arbequina procedentes del Valle Central de Catamarca. Universidad Nacional de Catamarca. Argentina.
- GOMEZ-PARDO, J. (2020). Propiedades beneficiosas del oleocantal. Trabajo de Fin de Grado. Facultad de farmacia. Universidad complutense. Madrid. España.
- GONZÁLEZ BENJUMEA, A. (2017). Síntesis química y enzimática de biofenoles lipófilos del olivo con actividad antiinflamatoria. Optimización de la reacción de Krapcho. Tesis de Doctorado. Departamento de química orgánica- Facultad de química- Universidad de Sevilla. España.
- GONZÁLEZ PÉREZ, P. (2020). Oleocantal del Aceite de Oliva Virgen Extra y sus efectos en procesos neuro- degenerativos. Trabajo final de grado. Facultad de farmacia y ciencias de la alimentación- Universidad de Barcelona. Barcelona. España.
- HIGUERA CAMPO, J. (2017). Los compuestos fenólicos en el aceite de oliva/hoja de olivo: propiedades beneficiosas. Santander-España.
- Argentina, Instituto de Desarrollo Rural- Olivo-Censo Frutícola Provincial (2010). Mendoza.
- Argentina, Instituto Nacional de Estadísticas y Censos -Censo Nacional Agropecuario (2018): resultados definitivos / 1a ed.
- Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Variedades de olivo cultivadas en las provincias de Catamarca y La Rioja, Argentina. MATÍAS, A; TORO, A; MONTALVÁN, L; MALINA, M.

- Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Programa nacional frutales -Cadena olivo. VITA SERMAN, F. MATÍAS, C.
- LOZANO SÁNCHEZ, J. (2012). Aceite de oliva como alimento funcional: nuevas perspectivas analíticas y tecnológicas. Tesis Doctoral. Universidad de Granada- Facultad de Ciencias- Departamento de Química Analítica -Centro de Investigación y Desarrollo del Alimento Funcional. España.
- MAZZAFORTE, A. (2019). Dinámica de la acumulación de aceite durante el desarrollo del fruto del olivo (*Olea europaea* L. cv Arauco). Tesina. Universidad nacional de Córdoba. Córdoba. Argentina.
- MOSHINSKY, M. (2009). Producción Olivícola en Argentina y Mendoza. Mendoza. Argentina.
- OZORES BELMONTE, M. (2022). Cromatografía de líquidos HPLC. Laboratorio de Técnicas Instrumentales UVa. <https://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/cromatografia-de-liquidos-hplc>
- SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, E; MESA, M. (2018). Compuestos bioactivos del aceite de oliva virgen. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos “José Mataix”, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Granada. España.
- TORRES SÁNCHEZ, A. (2013). Influencia de los factores tecnológicos en la calidad y en el contenido en antioxidantes del Aceite de oliva virgen. Tesis Doctoral. Universidad de Jaén. Andalucía- España.
- TOUJAS, L. (2019), Indicadores de proceso para la extracción de aceite de oliva virgen extra. Mendoza, Argentina.
- ZUCCARDI, M. (2019). Oliva. Argentina. Editorial Catapulta.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:	8
Figura 2	11
Figura 3	13
Figura 4	16
Figura 5	22
Figura 6	23
Figura 7	25
Figura 8	26
Figura 9	28
Figura 10	33
Figura 11	42
Figura 12	44
Figura 13	44
Figura 14	46
Figura 15	47
Figura 16	49
Figura 17	52
Figura 18	55
Figura 19	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Resumen de las características agronómicas y tecnológicas de la variedad Arauco.	19
Tabla 2: Clasificación de los compuestos fenólicos del AOVE.	24
Tabla 3: Geolocalización, Índice de Madurez, parámetros de proceso y contenido de biofenoles totales e individuales de las muestras obtenidas en la temporada 2019.	60
Tabla 4: Datos estadísticos obtenidos de todas las muestras analizadas en la temporada 2019.	63
Tabla 5: Geolocalización, Índice de Madurez, parámetros de proceso y contenido de biofenoles totales e individuales de las muestras obtenidas en la temporada 2020.	65
Tabla 6: Datos estadísticos obtenidos de todas las muestras analizadas en la temporada 2020.	68
Tabla 7: Geolocalización, Índice de Madurez, parámetros de proceso y contenido de biofenoles totales e individuales de las muestras obtenidas en la temporada 2021.	70
Tabla 8: Datos estadísticos obtenidos de todas las muestras analizadas en la temporada 2021.	73
Tabla 9: Promedio anual de Índice de Madurez, parámetros de proceso y contenido de Biofenoles Totales, Hidroxitirosol, Tيروسol y Oleocantal de las muestras analizadas.	75

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1.....	61
Gráfico 2.....	62
Gráfico 3.....	64
Gráfico 4.....	64
Gráfico 5.....	66
Gráfico 6.....	67
Gráfico 7.....	69
Gráfico 8.....	69
Gráfico 9.....	71
Gráfico 10.....	72
Gráfico 11.....	74
Gráfico 12.....	74
Gráfico 13.....	76
Gráfico 14.....	76

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	3
INTRODUCCIÓN	5
CAPÍTULO 1: HISTORIA	7
1.1 La Olivicultura en la Argentina	7
1.2 La olivicultura en Mendoza	9
1.3 Producción Nacional.....	11
1.4 Producción Provincial	12
1.5 Sector Industrial	13
CAPÍTULO 2: MORFOLOGÍA Y TAXONOMÍA	14
2.1 Generalidades.....	14
2.2 El fruto.....	15
2.3 Biogénesis y acumulación del aceite	16
2.4 Madurez del fruto	17
2.5 Variedad Arauco.....	17
2.6 Caracteres morfológicos y agronómicos generales	18
CAPÍTULO 3: BIOFENOLES	20
3.1 Composición química del AOVE y Biofenoles	20
3.2 Hidroxitirosol y Tirosol.....	25
3.3 Oleocantal.....	26
3.4 AOVE como alimento funcional.....	27
3.5 Propiedades funcionales de los Biofenoles del AOVE	28
3.5.1 Actividad Antioxidante.....	29

3.5.2	Actividad Neuroprotectora	29
3.5.3	Actividad antiinflamatoria	29
3.5.4	Capacidad cardioprotectora	30
3.5.5	Prevención de la osteoporosis.....	30
3.5.6	Actividad antimicrobiana.....	31
3.5.7	Actividad anticancerosa.....	31
3.5.8	Actividad antidiabética	31
3.6	Cantidad de Biofenoles para considerar al AOVE como alimento funcional	32
3.7	Factores que afectan a la presencia de Biofenoles en el AOVE.....	34
3.7.1	Factores Agronómicos	34
3.7.2	Factores tecnológicos.....	36
CAPÍTULO 4: MÉTODO DE OBTENCIÓN		41
4.1	Resumen.....	41
4.2	Obtención del AOVE en Almazara	41
4.2.1	Recepción.....	42
4.2.2	Deshojado y Lavado	43
4.2.3	Molienda	45
4.2.4	Batido o Amasado.....	46
4.2.5	Centrifugado Horizontal (Decanter)	48
4.2.6	Centrifugado Vertical	49
4.2.7	Almacenamiento y Decantación	51
4.2.8	Filtración.....	52
CAPÍTULO 5: METODOLOGÍA DE ANÁLISIS		53
5.1	Resumen.....	53
5.2	Objetivos	53
5.3	Materiales y Métodos.....	54
5.4	Índice de Madurez	54
5.5	Cromatografía de líquidos HPLC	56
5.5.1	Principios de la técnica	56

5.5.2	COI/T.20/Doc. n. ° 29: Determinación de los biofenoles de los AOVE mediante hplc	58
	CAPÍTULO 6: RESULTADOS	59
6.1	Resumen.....	59
	Temporada 2019.....	60
	Temporada 2020.....	65
	Temporada 2021.....	70
	Comparación Anual.....	75
	CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES	77
	BIBLIOGRAFÍA.....	80
	ÍNDICE DE FIGURAS.....	83
	ÍNDICE DE TABLAS.....	84
	ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	85
	ÍNDICE	86