



Applying enzymatic preparations for oil extraction from early harvested 'Arbequina' olives. Effect on extraction yield and the characteristics of virgin olive oil.

Gabriel Beltrán, Araceli Sánchez, Abrahan M. Gila, Antonio Jiménez,

María Paz Aguilera.

FAPACenter Venta del Llano

Mengibar, Jaén, Spain

Andalucía
se mueve con Europa



Instituto Andaluz de Investigación
y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria
y de la Producción Ecológica
Consejería de Agricultura, Ganadería,
Pesca y Desarrollo Sostenible

Antecedentes

Pastas difíciles:

Frutos recolección temprana

Humedad > 52 %

Variedad (Hojiblanca, Arbequina)



Problemática

- Bajos rendimientos
- Formación de emulsiones
- Reducción de la capacidad de molturación de almazara
- Dificultad de clarificación de los aceites

Solución

- Regular molienda y batido
- Reducir el ritmo de inyección de la pasta
- Coadyuvantes tecnológicos

Principales coadyuvantes tecnológicos

- Microtalco Natural
- Arcilla caolinitica
- Carbonato cálcico
- **Enzimas**

Limitaciones del Proceso Convencional

Problemas identificados

Un 15–20% del aceite queda retenido en la pasta tras la malaxación

Las pectinas de la pared celular forman un gel estable que dificulta la liberación del aceite

Los fenoles y tocoferoles ligados a la pared celular no se extraen con eficiencia

Las emulsiones estables aceite-agua reducen el rendimiento en la centrifugación

Oportunidad: enzimas coadyuvantes

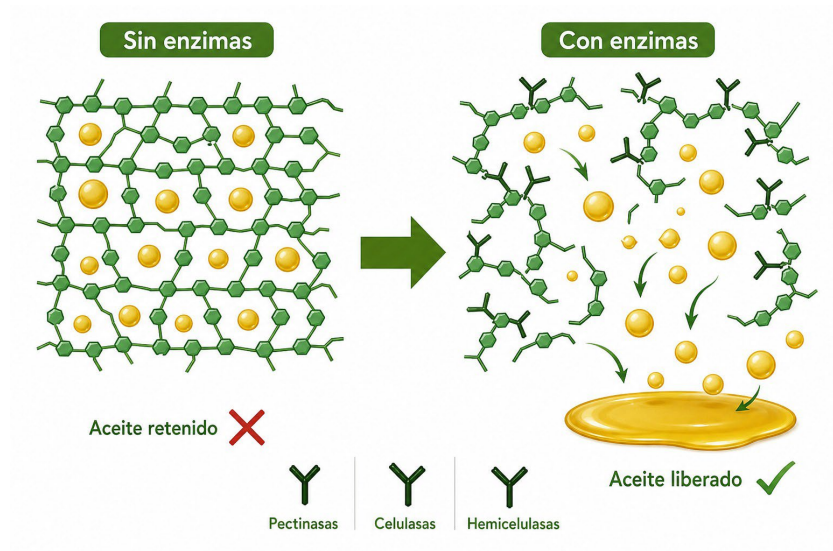
Las enzimas degradan los polisacáridos de la pared celular, aumentando la permeabilidad del tejido

Facilitan la liberación de aceite atrapado en la red de fibras y la coalescencia de gotas

Promueven la transferencia de fenoles y tocoferoles a la fracción oleosa

Actúan como coadyuvantes tecnológicos: no dejan residuo funcional en el aceite final

Mecanismos de Acción Enzimática



1 Degradación de pectinas

Las pectinasas hidrolizan la lamina media reduciendo su viscosidad y aumentando la permeabilidad del tejido.

2 Ruptura de glucanos y hemicelulosas

Celulasas y hemicelulasas complementan la acción pectolítica, liberando gotas de aceite atrapadas en la red de fibras.

3 Reducción de emulsiones aceite-agua

Las proteasas degradan membranas lipoproteicas de las gotas, favoreciendo su coalescencia y separación de fases.

4 Liberación de fenoles asociados a pared

La degradación celular libera fenoles y tocoferoles ligados a la pared y las vacuolas hacia la fracción oleosa.

Enzimas

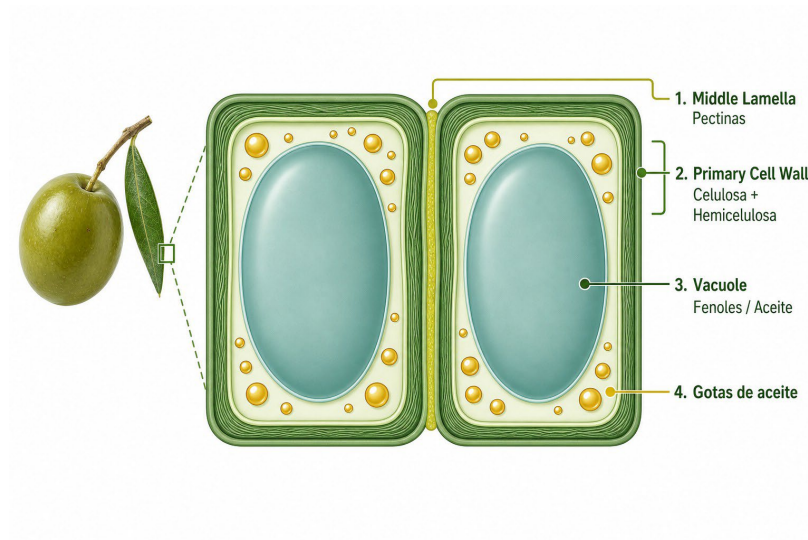
- 1 Complejos enzimáticos pectolíticos autorizados hasta 2001.**
- 2 Nueva definición de aceite de oliva Virgen Extra(CE nº 1513/2001)**
Basado en un requisito de genuinidad, excluía a aquellos coadyuvantes tecnológicos utilizados en el proceso de extracción que tuvieran acción bioquímica
- 3 Uso prohibido dentro de la Comunidad Europea**
- 4 No existen evidencias científicas para su prohibición**
Existe un comentario en una trabajo de Di Giocacchino et al sobre la posibilidad de que la UE debería revisar su uso ante un ligero incremento, no significativo, de algunos componentes.



Enzimas Utilizadas en Almazara

Pectinasas	Pectinas — lamela media	Hidrolizan pectinas, reducen gel, liberan aceite y fenoles
Celulasas	Microfibrillas de celulosa	Rompen la pared primaria, mejoran separación sólido-líquido
Hemicelulasas	Xilanos y xiloglucaranos	Aumentan permeabilidad y liberación de compuestos fenólicos
Proteasas	Membranas proteicas de gotas	Facilitan separación de fases; potencian efecto pectolítico

Preparados comerciales: mezclas de varias actividades enzimáticas



Nuevo escenario

Nuevas variedades



Nuevos compuestos pectolíticos



Recolección más temprana

Niveles elevados de humedad

Temperatura de extracción más baja



Objetivo

El objetivo fue evaluar el efecto de las preparaciones enzimáticas durante el batido de la pasta de aceituna a baja temperatura sobre la calidad, la pureza, los compuestos minoritarios y las características sensoriales del aceite utilizando frutos de aceituna de la variedad 'Arbequina' recolectados en precoz



Materiales y métodos

Material vegetal.

Campaña 2023/2024.

Fruto: 5000 kg variedad 'Arbequina'

Extracción de aceite. Almazara IFAPA Venta del Llano.

Línea de extracción continua Pieralisi (España):

- Molino de martillos (criba circular de 6 mm)
- Batidora Molinova tres cuerpos (500 kg cada uno).
- Decánter de dos fases SPI110 de 60000 kg/dia.
- Centrifuga vertical Plutone sin adición de agua.

Condiciones de extracción

- Batido: **19 °C** y 45 min
- Ritmo de inyección de la pasta en centrífuga horizontal 1000 kg/
- Adición de agua a la centrífuga horizontal 75 L/h

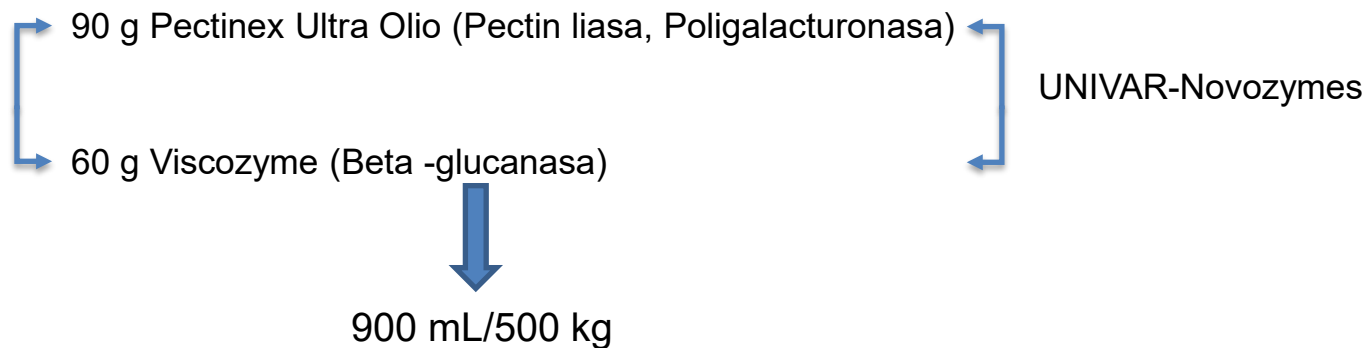


Materiales y métodos

Diseño experimental.

- Testigo

- Preparado enzimático



Para cada tratamiento se emplearon tres cuerpos de batidora (500 kg cada uno), descartándose el inicial y llevando a cabo la toma de muestras en el tercer cuerpo.

Toma de muestras.

Aceituna, orujo y aceite a la salida de la centrifuga horizontal (3x)



Materiales y métodos

Determinaciones analíticas

Aceituna

Índice de madurez (Beltrán et al., 2008), eso medio, humedad y contenido graso.

Orujo: humedad y contenido graso.

Aceites .

Parámetros de calidad reglamentada y pureza:

Acidez, Índice de peróxidos, K_{232} , K_{270} , Composición ácida, esteroides, esteroides etílicos, alcoholes alifáticos, ceras, eritrodioleína, uvaol, estigmasterol, alcoholes alifáticos, monopalmitato de 2-glicerilo, contenido saponificable, 1,2-diglicéridos, 1,3-diglicéridos, isómeros trans (COI, 2022) y pirofocofitina A (ISO 29841:2009)

Aceites .

Compuestos minoritarios. Contenido total de fenoles (Vázquez et al., 1973), Análisis de la fracción fenólica (COI, COI/T.20/Doc.29.), análisis de la fracción volátil mediante SPME-GC-MS (Sánchez et al., 2013), pigmentos clorofílicos y carotenoides (Minguez et al., 1991), Tocoferoles (IUPAC; 1992).

Estabilidad oxidativa Rancimat 120 °C y 20 L/h.

Caracterización sensorial: método del panel test (UE,2022)

Análisis estadístico

ANOVA. Test de Tukey para un nivel de significación p : 0.05. (Statistix 9.0).

Results

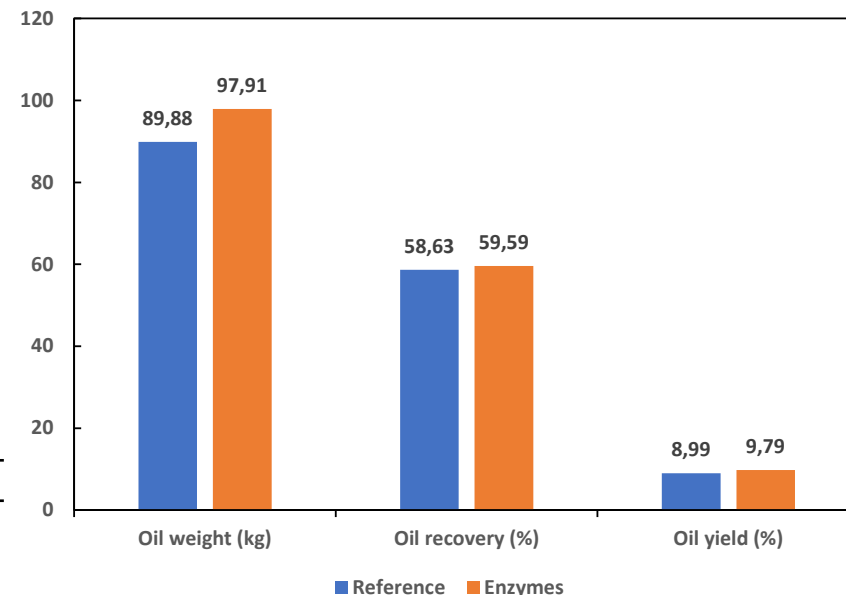
Fruit

Parameter	Reference	Enzymes
Ripening index	2.06	2.04
Fruit weight (g)	1.88	2.13
Humidity (%)	60.63	60.01
Oil content on fresh weight (%)	15.33	16.43
Oil content on dry weight (%)	38.87	41.24

Pomace

Parameter	Reference	Enzymes
Humidity (%)	69.48 ± 0.03 a*	70.74 ± 0.01 a
Oil content on fresh weight (%)	4.30 ± 0.91 a	4.01 ± 1.40 a
Oil content on dry weight (%)	14.09 ± 0.79 a	13.70 ± 0.72 a

Oil yield



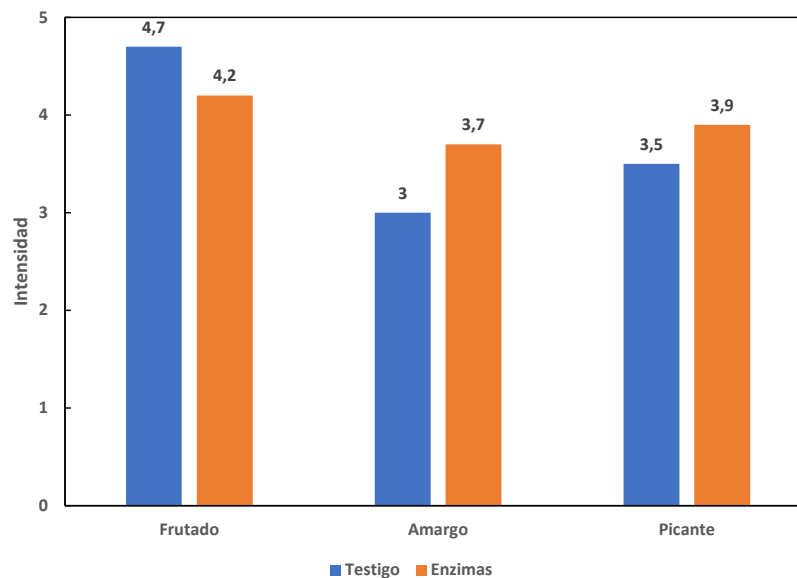
Resultados

Aceite

Parámetro	Testigo	Enzimas
Acidez (%)	0.20 ± 0.03 a*	0.23 ± 0.01 a
Índice de Peróxidos (meqO ₂ /kg)	4.35 ± 0.91 a	4.95 ± 1.40 a
K ₂₃₂	1.79 ± 0.17 a	1.86 ± 0.20 a
K ₂₇₀	0.08 ± 0.02 a	0.08 ± 0.01 a
Esteres etílicos (mg/kg)	< 3	< 3



Caracterización sensorial



Aceite de Oliva Virgen Extra

Resultados

Aceite: Parámetros de pureza

Parámetro	Testigo	Enzimas
Ceras (mg/kg)	207 ± 0.58 a*	180 ± 7.23 b
Esteroles totales (mg/kg)	1607 ± 15.72 b	1641 ± 8.50 a
Colesterol (%)	0.13 ± 0.0 a	0.13 ± 0.0 a
Brassicasterol (%)	<0.1	<0.1
Campesterol (%)	4.30 ± 0.00 a	4.30 ± 0.00 a
Estigmasterol (%)	1.00 ± 0.00 a	1.10 ± 0.00 a
Beta-sitosterol aparente (%)	93.50 ± 0.00 a	93.33 ± 0.06 b
Δ_7 Estigmastenol (%)	0.20 ± 0.00	0.23 ± 0.06
Eritrodiol+Uvaol (%)	1.40 ± 0.00 b	1.53 ± 0.06 a



Parámetro	Testigo	Enzimas
Estigmastadieno (mg/kg)	<0.02	<0.02
Alcoholes alifáticos (mg/kg)	115 ± 8 a	116 ± 4 a
Monopalmitato de 2-glicerilo (%)	0.70 ± 0.00 a	0.70 ± 0.00 a
Contenido Insaponificable (g/kg)	10.25 ± 0.43 a	10.42 ± 0.59 a
1,2-Diglicéridos (%)	88.47 ± a	88.70 ± a
1,3-diglicéridos (%)	11.53 ± a	11.30 ± a
Pirofeofitina A (%)	< 0.50	< 0.50

Resultados

Aceite: Parámetros de pureza

Acido grasos (%)	Testigo	Enzimas
Láurico (C12:0)	< 0.02	< 0.02
Mirístico (C14:0)	0,02 ± 0.00 a	0,02 ± 0.00 a
Palmítico (C16:0)	17,28 ± 0.18 a	17,12 ± 0.09 a
Palmitoléico (C16:1)	2,11 ± 0.03 a	1,99 ± 0.02 b
Margárico (C17:0)	0,11 ± 0.00 a	0,11 ± 0.00 a
Margaroleico (C17:1)	0,24 ± 0.00 a	0,24 ± 0.01 a
Esteárico (C18:0)	1,77 ± 0.01 a	1,78 ± 0.01 a
Oleico (C18:1)	62,24 ± 0.17 b	62,75 ± 0.05 a
Linoleico (C18:2)	14,66 ± 0.02 a	14,43 ± 0.02 b
Linolénico (C18:3)	0,71 ± 0.00 a	0,70 ± 0.01 a
Araquídico (C20:0)	0,40 ± 0.02 a	0,39 ± 0.01 a
Eicosenoico (C20:1)	0,28 ± 0.01 a	0,27 ± 0.01 a
Behénico (C22:0)	0,12 ± 0.01 a	0,12 ± 0.01 a
Erúcico (C22:1)	< 0.10	< 0.10
Lignocérico (C24:0)	0,07 ± 0.00 a	0,07 ± 0.00 a
Σ Saturados	19,77 ± 0.16 a	19,62 ± 0.08 a
Σ Poliinsaturados	15,37 ± 0.02 a	15,13 ± 0.03 a
Σ Monoinsaturados	64,87 ± 0.15 b	65,25 ± 0.05 a
Monoinsat./Poliinsat.	4,22 ± 0.01 b	4,31 ± 0.00 a
Isómeros Trans	< 0.03	< 0.03

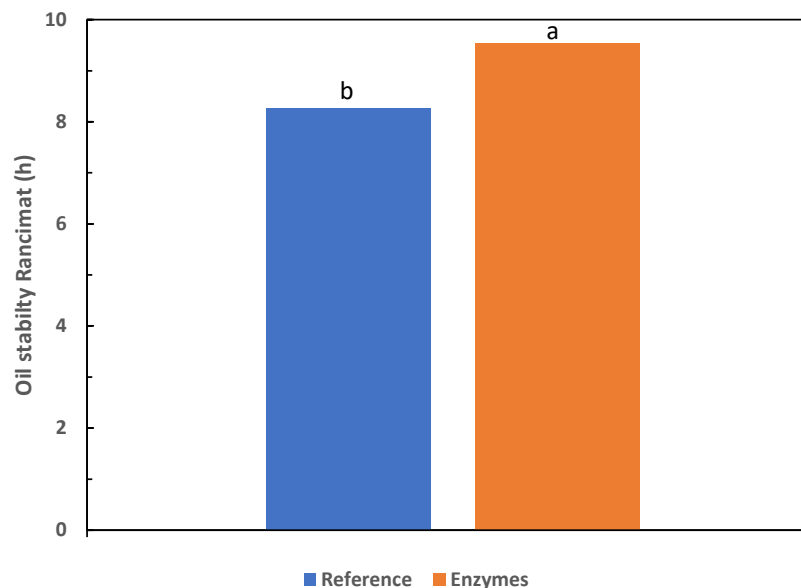


Results

Oil: Minor compounds

Parameter	Reference	Enzymes
Carotenoid pigments (mg/kg)	3.95 ± 0.40 b	5.39 ± 0.29 a
Chlorophyllic pigments (mg/kg)	2.46 ± 0.43 b	4.24 ± 0.19 a
α -tocopherol (mg/kg)	277 ± 2 a	283 ± 5 a
β -tocopherol (mg/kg)	2.00 ± 0.03 a	1.67 ± 0.02 a
γ -tocopherol (mg/kg)	< 1	< 1
Tocopherol content (mg/kg)	279 ± 2 a	286 ± 6 a

Oxidative stability

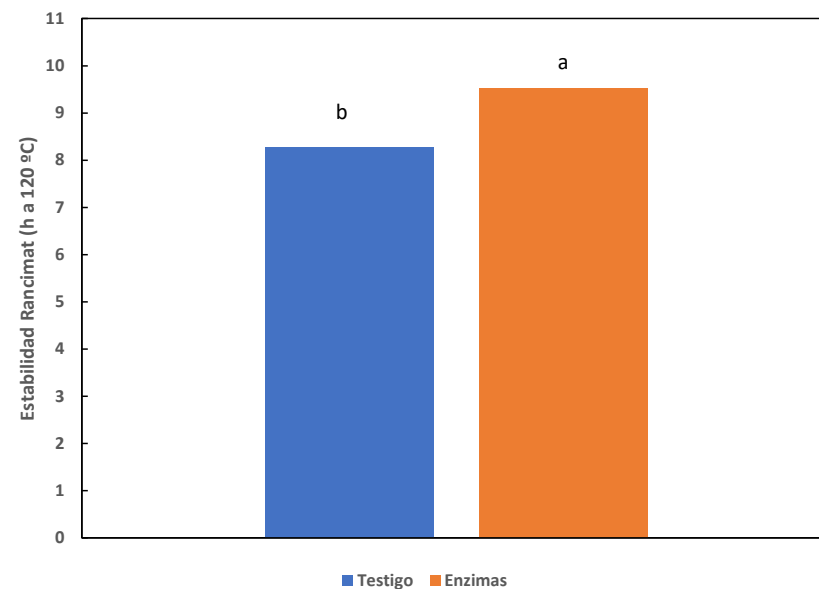


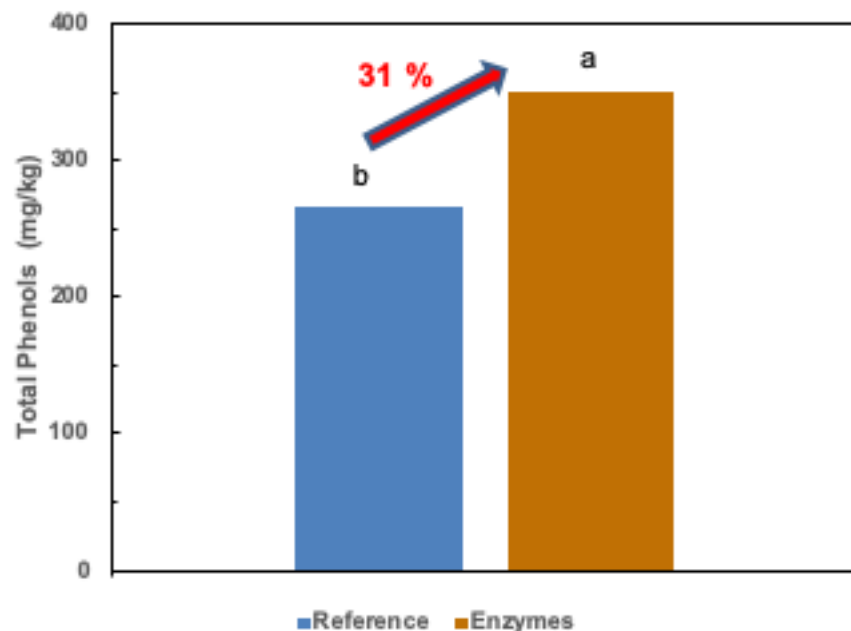
Resultados

Aceite: Compuestos minoritarios

Parámetro	Testigo	Enzimas
Pigmentos carotenoides (mg/kg)	3.95 ± 0.40 b	5.39 ± 0.29 a
Pigmentos clorofilicos (mg/kg)	2.46 ± 0.43 b	4.24 ± 0.19 a
α-tocoferol (mg/kg)	277 ± 2 a	283 ± 5 a
β-tocoferol (mg/kg)	2.00 ± 0.03 a	1.67 ± 0.02a
γ-tocoferol (mg/kg)	< 1	< 1
Tocoferoles totales (mg/kg)	279 ± 2 a	286 ± 6 a

Estabilidad oxidativa





Incremento de los principales compuestos fenólicos con propiedades bioactivas y sensoriales

Parámetro (mg/kg)	Testigo	Enzimas
Hidroxitirosol	8.09 ± 0.21 a*	8.28 ± 0.13 a
Tirosol	1.42 ± 0.10 a	1.44 ± 0.20 a
Vainillina	0.32 ± 0.01 b	0.50 ± 0.05 a
Acido p-cumárico	0.10 ± 0.01 a	0.12 ± 0.02 a
3-4-DHPEAEDA	70.31 ± 6.67 b	118.13 ± 11.09 a
p-HPEAEDA	46.15 ± 1.92 b	62.44 ± 2.77 a
3-4-DHPEA EA	8.09 ± 0.21 a	8.28 ± 0.13 a
Pinoresinol	30.08 ± 0.90 b	35.42 ± 1.86 a
1-Acetoxipinoresinol	36.60 ± 1.25 b	39.32 ± 1.12 a
Polifenoles totales	267 ± 11 b	351 ± 25 a

Resultados

Aceite: Compuestos volátiles

Compuesto (mg/kg)	Testigo	Enzimas
3-Pentanona	0.02 ± 0.01 a	0.02 ± 0.00 a
1-Penten-3-ona	0.33 ± 0.03 b	0.52 ± 0.02 a
Dímeros de penteno	0.84 ± 0.05 a	0.83 ± 0.10 a
Hexanal	3.32 ± 0.08 a	1.71 ± 0.07 b
3-Pentanol	0.06 ± 0.00 b	0.15 ± 0.00 a
(E)-2-Pental	0.02 ± 0.00 b	0.04 ± 0.00 a
Z-(3)-Hexenal	0.26 ± 0.02 a	0.28 ± 0.01 a
Z-(2)-Hexenal	0.60 ± 0.03 a	0.51 ± 0.02 b
E-2-Hexenal	23.83 ± 1.06 a	18.23 ± 0.92 b
(Z)-2-Penten-1-ol	0.08 ± 0.00 a	0.09 ± 0.01 a
Acetato de (Z)-3-Hexenilo	0.67 ± 0.03 a	0.72 ± 0.05 a
Acetato de (E)-2-Hexenilo	0.01 ± 0.00 b	0.02 ± 0.00 a
1-Hexanol	1.17 ± 0.17 a	0.76 ± 0.06 b
(E)3-Hexen-1-ol	0.03 ± 0.01 a	0.01 ± 0.00 b
(Z)-3-Hexen-1-ol	2.31 ± 0.19 a	1.55 ± 0.10 b
Acetato de hexilo	0.14 ± 0.01 a	0.11 ± 0.01 b
Σ Compuestos LOX	33.68 ± 1.67 a	25.55 ± 1.36 b

Compuesto (mg/kg)	Testigo	Enzimas
1,4-Pentadieno	0.12 ± 0.00 a	0.09 ± 0.00 b
Heptano	0.09 ± 0.01 a	0.09 ± 0.03 b
Dimetil sulfida	0.01 ± 0.00 a	0.01 ± 0.00 a
Octano	0.04 ± 0.00 a	0.05 ± 0.00 a
Acetona	0.02 ± 0.00 a	0.02 ± 0.00 a
UK-1**	0.02 ± 0.00 b	0.02 ± 0.00 a
Metanol	0.25 ± 0.07 a	0.30 ± 0.05 a
2-Metil-butanal	0.03 ± 0.00 b	0.04 ± 0.00 a
3-Metil-butanal	0.02 ± 0.00 b	0.02 ± 0.00 a
Etanol	0.10 ± 0.01 b	0.17 ± 0.01 a
2-Etil-furano	0.01 ± 0.00 a	0.01 ± 0.00 b
Metil isocianida	0.03 ± 0.00 a	0.02 ± 0.00 b
UK-2	0.04 ± 0.00 a	0.04 ± 0.00 b
Hexanoato de metilo	0.01 ± 0.00 a	0.01 ± 0.00 a
Heptanal	0.02 ± 0.00 a	0.02 ± 0.00 a
UK-3	0.06 ± 0.01 a	0.05 ± 0.00 a
Octanal	0.20 ± 0.02 a	0.17 ± 0.04 a
6-Metil-5-hepten-2-ona	0.005 ± 0.001 a	0.006 ± 0.003 a
Nonanal	0.82 ± 0.08 a	0.80 ± 0.10 a
(E,E)-2,4-hexadienal isómero 1	0.48 ± 0.03 a	0.48 ± 0.12 a
(E,E)-2,4-hexadienal isómero 2	0.48 ± 0.03 a	0.46 ± 0.02
UK-4	0.02 ± 0.00 a	0.02 ± 0.00 a
5-Methyl-1-hexanol	0.004 ± 0.000 a	0.003 ± 0.000 a
UK-5	0.042 ± 0.004 a	0.037 ± 0.002 a
UK-6	0.006 ± 0.002 a	0.005 ± 0.001 a
Benzaldehído	0.045 ± 0.002 a	0.042 ± 0.005 a
UK-7	0.006 ± 0.001 a	0.005 ± 0.001 a
UK-8	0.012 ± 0.002 a	0.008 ± 0.003 a
UK-9	0.021 ± 0.001 a	0.021 ± 0.003 a
Methyl benzoate	0.014 ± 0.001 a	0.008 ± 0.002 a
UK-10	0.044 ± 0.004 a	0.044 ± 0.004 a
Alcohol bencílico	0.085 ± 0.008 a	0.073 ± 0.007 a
Σ Compuestos No LOX	3.14 ± 0.05 a	2.74 ± 0.53 a
Volátiles totales	36.80 ± 1.47 a	28.29 ± 0.73 b

Conclusiones

- El empleo de preparados enzimáticos da lugar a un incremento del rendimiento industrial del proceso de extracción del aceite de oliva virgen, si bien no se aprecian diferencias significativas en el contenido graso en base seca del orujo.
- Los parámetros de calidad reglamentada no se vieron afectados por el empleo de los preparados enzimáticos ensayados.
- Los parámetros de pureza analizados en los aceites procedentes del empleo de preparados enzimáticos se mantuvieron dentro de los límites establecidos para la categoría virgen extra.
- Las concentraciones de pigmentos, clorofílicos y carotenoides, y tocoferoles del aceite se incrementaron de forma significativa por el empleo de preparados enzimáticos.
- Los aceites extraídos con el empleo de preparados enzimáticos fueron más estables que los obtenidos mediante las condiciones control.
- Los compuestos fenólicos se encontraron en una concentración más elevada en los aceites elaborados con preparados enzimáticos.



Conclusiones

- La fracción volátil se vió afectada por el empleo de enzimas durante la extracción del aceite. Así, se aprecia como los aceites elaborados sin enzimas presentaron una concentración ligeramente superior respecto de los extraídos con preparados enzimáticos.
- Desde el punto de vista sensorial, los aceites extraídos con la aplicación de preparados enzimáticos mostraron un ligero descenso en la intensidad del frutado, mientras que en el caso de los atributos amargo y picante se perciben con un ligero aumento de su intensidad.
- En definitiva, el empleo de preparados enzimáticos no afectó a la calidad del aceite ni a los parámetros de pureza analizados mientras que algunos de los compuestos minoritarios aumentaron su concentración. Los aceites son más estables y desde el punto de vista sensorial, no se aprecian diferencias significativas respecto de los aceites del tratamiento control.



¡Gracias por su atención!

Gabriel Beltrán

IFAPA Centro Venta del Llano

Ctra Bailén-Motril km 18,5

23620 Mengibar, Jaén

gabriel.beltran@juntadeandalucia.es

+34 671532213



Junta de Andalucía

Consejería de Agricultura,
Pesca, Agua y Desarrollo Rural

Instituto Andaluz de Investigación
y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria
y de la Producción Ecológica



www.ifapa.es

Agradecimientos. A la empresa UNIVAR-Novozymes por el suministro de los preparados enzimáticos. A nuestros maestros de almazara Justo Cárdenas y Cristobal Cárdenas