

La aceituna
de Campo Real



Comunidad de Madrid

EQUIPO DE TRABAJO IMIA

Dirección, redacción y fotografías:
Cristina de Lorenzo Carretero

Investigadores:

Gregorio Vergara García
Gloria Iglesias Jácome
M^a Cruces Valiente Moreno
M^a Montserrat González Lorente
Eduardo Lázaro López

Auxiliares de Investigación:

(Planes FINNOVA 1997-1999 IMAF):

Margarita Hermira Herranz
Rosa María Guisado Encalado
Alicia Sonseca Yepes
María Búrdalo Delgado

Auxiliar Técnico de Laboratorio IMIA

M^a Pilar Fernández Barrios

Con la colaboración de:

Órgano Gestor de la Denominación de Calidad
«Aceitunas de Campo Real»

imiDRA



Biblioteca
virtual

Esta versión forma parte de la Biblioteca Virtual de la **Comunidad de Madrid** y las condiciones de su distribución y difusión se encuentran amparadas por el marco legal de la misma.



www.madrid.org/publicamadrid

La Aceituna de Campo Real



iMiDRA



CONSEJERÍA DE MEDIO AMBIENTE

Comunidad de Madrid

La ACEITUNA de Campo Real / [equipo de trabajo IMIA] .— Madrid : Consejería de Medio Ambiente, Dirección General de Educación y Promoción Ambiental, 2000

136 p. ; 24 x 17 cm

ISBN: 84-451-18-33-1

I. Aceitunas-Cultivo. I. Madrid. Consejería de Medio Ambiente, Dirección General de Educación y Promoción Ambiental. II. Instituto Madrileño de Investigación Agraria

634.63 (460.27)

347.2 (460.27)

Prohibida la reproducción total o parcial, incluso citando la procedencia.

imiDRA



Edita: Dirección General de Educación y Promoción Ambiental
I.S.B.N.: 84-451-18-33-1

Depósito Legal: M-34725-2000
Imprime: Grupo Industrial de Artes Gráficas
Ibersaf Industrial, S.L.

Tirada: 1.500 ejemplares
Fecha de edición: agosto, 2000



Se han realizado todos los esfuerzos conducentes a la localización de autores. En algún caso no ha sido posible dicha localización. La Comunidad de Madrid reconoce en cualquier caso la existencia de los citados derechos de autor.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Prólogo	7
Capítulo 1	
Historia de una Tradición: las Aceitunas de Campo Real	9
Capítulo 2	
En el Origen: el Olivo y sus Frutos	15
Capítulo 3	
El Proceso de la Aceituna: Cómo se hace	25
Capítulo 4	
El Final: la Aceituna de Campo Real	37
Capítulo 5	
Un Viaje en Imágenes: la Aceituna y el Microscopio	43
Capítulo 6	
Los Problemas de Conservación	59
Capítulo 7	
La Investigación en el IMIA	67
Capítulo 8	
Las Industrias Aderezadoras y su Control	87
Capítulo 9	
La creación de la Denominación de Calidad	107
Capítulo 10	
El Futuro del Sector: los Consumidores, los Mercados, las Regulaciones y el Medio Ambiente	111
Anexo I	
Metodología Analítica e Instrumentación	119
Anexo II	
Legislación Aplicable	131
Anexo III	
Referencias	133

La creación durante la pasada legislatura del Instituto Madrileño de Investigación Agraria y Alimentaria (IMIA) supuso una importante apuesta de la Comunidad de Madrid por la investigación agroalimentaria, siendo ahora voluntad de esta Consejería ampliar y potenciar dicha labor investigadora en otros ámbitos medioambientales.

El preámbulo de la Ley 26/1997, de 26 de diciembre, de creación del IMIA reconocía la necesidad de fomentar la investigación de tecnología de los alimentos, máxime cuando Madrid constituye el mayor centro de consumo de toda España, con una importante industria de transformación. Era fundamental invertir en investigación agroalimentaria y abrir líneas de trabajo que aborasen, con rigor científico, la mejora de los procesos de elaboración y conservación de los alimentos, así como los programas de incremento de la calidad de los mismos como factor esencial para conseguir un sector más competitivo y una mayor garantía de salubridad alimentaria.

El IMIA emprendió decididamente este camino, transformando sus estructuras básicas y potenciando equipos de investigación capaces de competir con éxito en las convocatorias públicas de investigación.

La estrecha colaboración del IMIA con la empresa privada, la universidad y otras entidades y organismos, ha generado sinergias científicas y facilitado la transferencia de tecnología. La relación con el sector y la implicación del mismo en el desarrollo y la dinámica de los proyectos, garantizan que la investigación responda a las necesidades que el propio sector demanda. Y es seguramente en esta línea de colaboración directa con el sector productor donde el IMIA está apostando de forma especial.

La tipicidad y singularidad de algunos productos de la Comunidad de Madrid exigen, no obstante, un esfuerzo adicional encaminado a incrementar su calidad y su conservación y a facilitar, por consiguiente, su comercialización. Es en este marco en el que hay que inscribir esta publicación que hoy prologo con sumo gusto.

Las aceitunas de Campo Real son, desde hace ya tiempo, un producto emblemático de la Comunidad de Madrid elaborado por un sector que ha sabido generar empleo, fijar población al medio rural, promover desarrollo, promocionar cultura y crear un producto cuya fama traspasa nuestra región.

El equipo de investigación del IMIA, coordinado por la Dra. Cristina de Lorenzo, lleva años trabajando en la aceituna de Campo Real, en íntima conexión con el Consejo Regulador de la Denominación de Calidad. Fruto de ese trabajo es esta magnífica monografía que recoge, de una forma amena y con un rigor científico exquisito, la historia y la actualidad de este afamado producto, ofrece pautas, normas y recomendaciones para mejorar su calidad y conservación, y facilitar así su comercialización.

Mi más sincera felicitación al equipo de investigación del IMIA por la primera monografía de esta nueva etapa que se adivina plena de actividad científica y de resultados prácticos para el sector.

Pedro Calvo Poch
Consejero de Medio Ambiente

Historia de una Tradición: Las Aceitunas de Campo Real

Seguramente, cualquier lector de este libro habrá disfrutado alguna vez de unas aceitunitas de Campo Real, acompañando un aperitivo y con buena compañía. A lo mejor son clásicas en casa. Y es que las Aceitunas de Campo Real son elaboradas, conocidas y muy apreciadas en la Comunidad de Madrid desde hace muchos años.

A lo largo de esta monografía vamos a conocer los frutos del olivo, y sus transformaciones para ser "aceituna de mesa", y sus peculiaridades para ser "Campo Real", y vamos a asistir al desarrollo de la investigación sobre su calidad y conservación, y vamos a ver cómo es una aceituna bajo el microscopio, y vamos a conocer a los industriales de la Comunidad de Madrid que fundaron y promovieron la Denominación de Calidad, y vamos a preguntarnos por los consumidores, los mercados, los problemas presentes y futuros y... antes de todo esto...

... antes de todo esto, merecido es mirar atrás y ver cómo se hacía esta misma aceituna hace muchos años, en un pequeño homenaje a los hombres y mujeres que, con el quehacer diario, hicieron una forma de vida, un estilo y una tradición de la elaboración de la aceituna. De una aceituna que hoy es conocida y lleva el nombre de Campo Real a lugares muy lejanos de las fronteras de la Comunidad de Madrid.



Cerrando un trato en Campo Real

■ **A la aceituna.** Las aceitunas se recolectaban a mano, por el sistema de ordeño: para ordeñar un olivo se desliza la mano por sus ramas, desprendiendo las aceitunas que caen en los *tendales*. ¿Un *tendal*? Pues su nombre lo indica: una gran malla que se tiende sobre el suelo, para evitar los golpes que puedan deteriorar las aceitunas. A la *aceituna* iba la gente en carro, que luego servía para transportar los frutos en capazos, seras y cubas. A pesar de los medios escasos —y hoy diríamos rudimentarios— de transporte, no hay límites para la gente laboriosa y emprendedora: algunos habitantes de Campo Real se dedicaron a comercializar su aceituna ya aderezada y aliñada, lo que generalmente fue unido a la venta de productos típicos de alfarería. Así que llenaban el carro con unas cubas de aceituna "de Campo Real" y unas cuantas orzas, cántaros, botijos y platos, y recorrían los pueblos de la comarca. Después de los carros, cuando ya los hubo, llegaron los camiones.



Yendo y viniendo, cogiendo y vendiendo



Un descanso en el olivar
(¿No preguntaban lo que era un tendal? Mirenlos aquí...)



Campo Real

Al final, los frutos recolectados del olivo llegaban a Campo Real. Esta misma y característica imagen de su iglesia sigue recibiendo al visitante cuando llega. Ahora, claro, ya no se ven esos bocoyes (los toneles de madera, en los que llegaba el fruto) ni las tinas...



■ Conservar y hacer la aceituna.

Desde hace todos estos años, varios cientos, la aceituna se viene conservando en depósitos con agua y sal. Éstos tenían la forma de grandes tinajas, parcialmente enterradas en el suelo. Algún depósito así se conserva aún: miren el Capítulo 8. De ellos se iba sacando la aceituna, durante el año, para ser elaborada al estilo "de Campo Real".



Una vez sacada del depósito, la aceituna es rajada y quemada. Rajada, a mano, por las mujeres, que hacían dos cortes longitudinales para asegurar la entrada de la solución de sosa que desmargaría el fruto. Cuentan los mayores que antes la aceituna venía "más dura"; el rajar no la estropeaba. Ahora, muchos años, muchos productores, no rajan: dicen que el fruto no trae la textura suficiente.

Los depósitos de conservación de aceitunas de Campo Real: una vista general (¿quién será hoy esta niña?), y la visita de un cliente. Seguro que por ahí detrás, entre los olivos, había plantas aromáticas...



Sanrién, para la foto, las mujeres de Campo Real rajando aceituna

El "quemado" es el mencionado tratamiento del fruto con una disolución de sosa, que hidroliza o destruye el compuesto responsable del amargor del fruto fresco del olivo. Luego se lavaba la aceituna, 3 o 4 días, hasta que adquiría un gusto insípido. Y entonces, cuando ya no tenía sabor, se le podía añadir el ajo, el tomillo, el hinojo y el orégano, y todo se ponía en agua con sal, para dar ese sabor característico que distinguía, y distingue, las Aceitunas de Campo Real.

El hinojo, tomillo y orégano son plantas aromáticas, fáciles de encontrar en muchos rincones del municipio de Campo Real. La abundancia de estas plantas aromáticas hizo que, desde una antigüedad remota, los habitantes las utilizaran en el aliñado de sus aceitunas; después, por su popularidad, fama y buen gusto, este tipo de elaboración se extendió y fue incorporada al hacer de otros pueblos y regiones. En Campo Real, los más mayores recuerdan que en cada casa existía, durante todo el invierno, la orza de las aceitunas aliñadas al estilo de Campo Real. Y ello se ha ido transmitiendo, de padres a hijos, durante cientos de años.

■ **A vender.** Como ya hemos comentado, ciertos habitantes emprendedores comenzaron a vender sus preparaciones de aceituna; ya no eran sólo para el consumo en casa. Primero, por los pueblos más cercanos, en carros y a lomos de mulas; después, con la evolución de los medios de transporte (1940), llegando hasta Ciudad Real, Cuenca y Guadalajara.

En esta época ya existían en Campo Real numerosas industrias de aderezo de aceitunas, todas ellas continuadoras de la tradición artesana que cada cual aprendió de sus antepasados. Podemos citar a Francisco González, a Antonio González, a Felipe González Ruiz, a Manuel Martínez, a Telesforo González... todos ellos abuelos o bisabuelos de casi todos los aceituneros que existen en la actualidad en la localidad.

Y así, así, en 1948 se constituye la Cooperativa del Campo, enmarcada en la Hermandad Sindical de Labradores. De los datos que hemos podido comprobar, la cantidad de kilos que se aderezaban en esta cooperativa estaba próxima a los 180.000 anuales. Y ahora, herederos de ese espíritu emprendedor, los asociados a la Denominación de Calidad "Aceitunas de Campo Real" se esfuerzan por mantener la tradición y la industria, compaginando la elaboración artesana del producto, la calidad que el consumidor distingue y las exigencias de la producción industrial de la sociedad actual. Por ello, porque buscan tradición, calidad e innovación, existe un estrecho contacto con el Instituto Madrileño de Investigación Agraria y Alimentaria (IMIA), persiguiendo dotar al producto de mayor vida útil. Por ello, por la capacidad empre-

dedora de estas gentes, crearon la Denominación de Calidad, con el apoyo de técnicos de la entonces Dirección General de Agricultura y Alimentación de la Comunidad de Madrid. Por ello, porque buscan el futuro, en fecha próxima se reconocerá a las "Aceitunas de Campo Real" como Indicación Geográfica Protegida en el seno de la Unión Europea. Por eso su colaboración en este texto, el primero dedicado íntegramente a este producto tan emblemático de nuestro Madrid.



Uno de los aceituneros de entonces, con sus aceitunas.
Su nieto nos proporcionó este recuerdo

Para ver el renombre de la humilde aceituna en Madrid, nada mejor que...

El Menú Real de Navidad

Del cocinero de Felipe IV, Francisco Fernández Montañó.
No es exactamente lombarda y besugo.



*Artalete: empanadilla hecha con carne picada. **Capirozada: guiso de huevos, ajos y hierbas.
Solomo: solomillo. *Camuesas: manzanas dulces. *****Suplicaciones: barquillos de forma alargada y estrecha.

(De: COMERCIO E INDUSTRIA, Publicación de la Cámara Oficial de Comercio e Industria de Madrid).

2 En el origen: El Olivo y sus Frutos

El origen del cultivo del olivo (*Olea europaea sativa*, Hoffg, Link) se puede situar en una ancha franja constituida por el área mediterránea y zonas colindantes, comprendiendo Asia Menor y partes de la India, África y Europa. Desde allí fue llevado a diversos puntos del continente americano (siglo xv) por los colonizadores y misioneros españoles. Otros lo hicieron llegar hasta Australia, África del Sur y Japón. Se completa así su área de distribución actual en ambos hemisferios (Fernández-Díez *et al.*, 1985 y referencias en el mismo).



Olivares en Campo Real

Los frutos del olivo se utilizan, desde tiempo inmemorial, para la extracción de aceite. El empleo de los mismos, elaborados de forma artesanal, como aceitunas de mesa, se pierde también en la antigüedad (Fernández-Díez *et al.*, 1985). Actualmente existen variedades dedicadas exclusivamente, o casi exclusivamente, a su procesado como aceitunas de mesa. Estas variedades son muy diversas, y su número se ha ido incrementando de forma paralela al aumento del consumo de la aceituna de mesa. Una extensiva recopilación de las variedades, propias o importadas, que se cultivan en los distintos países productores, y la descripción detallada de las mismas se puede encontrar en la obra antes citada. En esta monografía nosotros haremos únicamente referencia a las dos variedades más utilizadas en la preparación de la Aceituna de Campo Real.

El fruto del olivo es, botánicamente, una drupa carnosa, más o menos alargada en función de la variedad, de color verde inicialmente y que cambia a morado o negro

en su madurez. El peso medio está comprendido entre 1,5 y 12 gramos, y sus dimensiones medias son de 2-3 cm de longitud y 1-2 cm de diámetro transversal. La pulpa y el hueso se hallan, por término medio, en porcentajes del 70-88% y 12-30% en peso (Fernández-Díez et al., 1985). En esta misma obra pueden encontrarse datos sobre la composición de la pulpa de aceitunas de algunas variedades españolas.

En la preparación de las Aceitunas de Campo Real se acepta únicamente fruto de dos variedades: *Cacereña* (también conocida como *Manzanilla Cacereña*) y *Manzanilla de Campo Real*. Esta última es aceituna de la variedad *Manzanilla* procedente de los olivares situados en el término municipal de Campo Real y próximos. Se describen a continuación las principales características de estos frutos:

Manzanilla (Olea europaea pomiformis). El fruto de mejor calidad de esta variedad se cultiva en zonas de clima suave, como el Guadalquivir y zona sevillana. Es la más apreciada; casi en su totalidad, se destinan a la elaboración de aceitunas verdes aderezadas en salmuera, en lo que se conoce como "estilo español" o "sevillano". Son de tamaño mediano (200-280 frutos/kg) y con forma que recuerda a una manzana, piel fina y excelente textura. La finura de la piel motiva el extremo cuidado que se pone, durante su recogida y elaboración, en que no se golpee o "moleste". El color es verde claro, con ligeras motas blanquecinas, y en la madurez llega a negro algo violáceo.

Cacereña. Sin duda, la variedad preponderante en la elaboración de Aceituna de Campo Real. Es bastante parecida a la *Manzanilla*, aunque de menor tamaño medio y menor textura. Para la elaboración de Aceituna de Campo Real se permite un máximo de 280 frutos/kg, con lo que el tamaño mínimo permitido se iguala al requerido para la *Manzanilla*. Proviene fundamentalmente de las provincias de Cáceres y, en menor medida, de Salamanca. Morfológicamente, presenta una distintiva prominencia en la punta, como se observa en la fotografía:



Frutos de aceituna Cacereña

La composición básica de la pulpa de las variedades utilizadas en la preparación de la aceituna de Campo Real se detalla en la siguiente tabla:

Varietal	Tipo	Relación pulpa/hueso	Humedad % m.f.	Grasa % m.f.	Carbohidratos solubles % m.f.	Residuo insoluble en alcohol RIA % m.f.	Cenizas % m.f.
Manzanilla ⁽¹⁾	Verde	4,86	68,8	15,4	—	—	0,95
Manzanilla ⁽²⁾	—	—	69,7	16,0	3,75	4,03	—
Cacereña ⁽³⁾	Verde	5,81	73,4	12,1	4,47	8,53	0,85

Tabla 2.1. Composición de la pulpa de aceitunas de las variedades empleadas en la producción de Aceitunas de Mesa "Campo Real".

% m.f., composición porcentual sobre materia fresca.

⁽¹⁾Nosti Vega et al. (1983); ⁽²⁾Guillén et al. (1992); ⁽³⁾Valiente et al. (manuscrito en preparación).

Los principales constituyentes cuantitativos son el agua y el aceite; a medida que la maduración de la aceituna progresa, la humedad disminuye y el contenido de aceite aumenta. De todos es sabido que el aceite de oliva es rico en ácido oleico (C18:1), ácido graso monoinsaturado de alto valor nutritivo y biológico. A continuación aparecen los hidratos de carbono solubles en la pulpa, que constituirán la materia prima fundamental para el desarrollo de microorganismos a expensas del fruto. Entre estos microorganismos, citemos a las bacterias lácticas (y concretamente, al género *Lactobacillus*), responsables del proceso de fermentación láctica al que se someten numerosos tipos de aceitunas de mesa. Adelantaremos aquí que las Aceitunas de Campo Real no sufren dicho proceso fermentativo a lo largo de su elaboración.

Otros componentes carbohidratados del tejido vegetal, constituyentes de la pared celular de las células vegetales, son polisacáridos insolubles de alto peso molecular. La pared celular es una estructura compleja, semirrígida, que rodea la membrana plasmática de la célula vegetal, de la cual es característica. Permite que la célula pueda resistir cambios en la presión interna y/o externa; constituye una barrera estructural contra ciertas moléculas y una defensa frente a microorganismos e insectos. Además, es una fuente de nutrientes, enzimas y energía y actúa como un sistema de acomodo entre el ambiente exterior y el citoplasma vegetal. Al constituir una "armadura" que confiere rigidez al tejido vegetal, es fácil comprender que esta estructura es la principal responsable de la **textura** del alimento: en este caso, de la aceituna.

Los mencionados polisacáridos son los responsables del contenido en "**fibra**" de los alimentos vegetales. El contenido en fibra *bruta* en aceitunas de la variedad Manzanilla se ha cifrado en un 1,82% sobre materia fresca (Nosti Vega et al., 1983). Este es, sin embargo, un concepto antiguo y cuya determinación se considera, hoy en día, sujeta a múltiples errores metodológicos. Por ello, y por la creciente importancia de la fibra en la alimentación, como factor de disminución de riesgo de —entre otras— patologías de colon, divertículos intestinales, diabetes, enfermedad isquémica y arterioesclerosis, se han desarrollado técnicas más sofisticadas de determinación de fibra *alimentaria* (conocida antes como *dietaria*). La fibra alimentaria engloba todas las fracciones de fibra y alcanza valores muy superiores a los de la fibra bruta (ver Tabla 2.2).

En aceitunas de la variedad Cacereña para la elaboración de Campo Real se determinó (Valiente et al., manuscrito en preparación) el *residuo insoluble en alcohol* (RIA, ver Tabla 2.1). El RIA comprende toda la fibra alimentaria a excepción de una

fracción de almidón que puede haberse solubilizado. En el fruto de aceituna, no obstante, no se encuentra almidón detectable enzimáticamente (Heredia Moreno, 1976) ni observable ultraestructuralmente (de Lorenzo, resultados no publicados), por lo que el RIA es asimilable a la fibra alimentaria.

Esta fibra alimentaria está constituida, fundamentalmente, por *celulosa*, *lignina*, *hemicelulosas* y *sustancias pécticas*. La celulosa es un homopolímero lineal (poli-β-[1,4]-D-glucosa) que constituye microfibrillas dispuestas en una estructura semi-cristalina, estabilizada por puentes de hidrógeno (Heredia *et al.*, 1995). Las hemicelulosas constituyen, asimismo, redes con las moléculas unidas entre sí y a las de celulosa. La lignina es el componente menos desentrañado, actualmente, de todos los de la pared vegetal. Sus precursores son alcoholes aromáticos cuya polimerización progresa en la pared vegetal desplazando agua y produciendo una red de carácter hidrofóbico, que interactúa con otros componentes de la pared y los mantiene unidos. La presencia de lignina en la pared celular es el principal factor responsable de la dificultad para degradar la fibra vegetal; así, la relación inversa entre contenido de lignina y digestibilidad ha sido descrita en detalle (Engels and Schuurmans, 1992; Jung *et al.*, 1992).

En la tabla siguiente se detalla la composición porcentual en celulosa, hemicelulosas, lignina y sustancias pécticas para frutos de las variedades Manzanilla y Cacereña:

Variiedad	Celulosa % m.f.	Hemicelulosas % m.f.	Lignina % m.f.	Sustancias Pécticas % m.f.
Manzanilla ⁽¹⁾	0,81	0,36	1,16	—
Cacereña ⁽²⁾	1,22	0,48	2,05	0,193

Tabla 2.2. Composición de la fracción de fibra de aceitunas de las variedades empleadas en la producción de Aceitunas de Mesa "Campo Real".

% m.f., composición porcentual sobre materia fresca.

⁽¹⁾Guillén *et al.* (1992). Composición de la fibra insoluble; ⁽²⁾Valiente *et al.* (manuscrito en preparación).

Respecto a las sustancias pécticas, constituyen la fracción más digerible de la pared vegetal. Químicamente son una mezcla compleja de polisacáridos coloidales (polímeros del ácido α-(1,4)-D-metil-poligalacturónico, con una proporción mayor o menor de grupos carboxilo —COO— esterificados por radicales metilo —CH₃—). Pueden ser extraídas de la pared con agua o con soluciones de agentes quelantes, según grupos de solubilidad en los que se basan las técnicas de fraccionamiento de las mismas. A veces se encuentran unidas covalentemente a la celulosa y/o hemicelulosas, requiriendo tratamientos más enérgicos para su extracción. En este caso, aparecen en la forma de un complejo, insoluble en agua y aún poco conocido, llamado *protopectina*. Esta fracción sería, *a priori*, la más directamente implicada en el mantenimiento de la dureza de la aceituna.

Variiedad	Fraccionamiento de sustancias pécticas			Total mg/100 g m.f.
	Solubles en agua mg/100 g m.f.	Solubles en oxalato mg/100 g m.f.	Solubles en NaOH mg/100 g m.f.	
Cacereña	93,04	49,02	51,84	193,30

Tabla 2.3. Fraccionamiento de sustancias pécticas de fibra de aceitunas de la variedad Cacereña para la producción de Aceitunas de Mesa "Campo Real".
m.f., materia fresca. Valiente *et al.* (manuscrito en preparación).

Las sustancias pécticas se encuentran en las paredes celulares y en los espacios intercelulares de los tejidos vegetales. Su presencia en estos últimos presta cohesión al tejido. Son capaces de retener mucha agua, formando geles que se estabilizan (en función de su composición en grupos carboxilo $-\text{COO}-$ libres y de la longitud de la cadena) mediante cationes Ca^{++} (Cheftel y Cheftel, 1992).

Esta capacidad de incorporar Ca^{++} está, como se verá a lo largo de esta monografía, directamente relacionada con el empleo de cloruro cálcico (CaCl_2) como agente endurecedor y recuperador de la textura de los frutos de aceituna. Las transformaciones de las sustancias pécticas juegan un importante papel en el fenómeno de ablandamiento de los frutos, bien durante su preconservación, por la acción de enzimas pectinolíticos (Minguez Mosquera, 1982) o durante el proceso industrial de producción de aceitunas de mesa (Jiménez *et al.*, 1994a; Jiménez *et al.*, 1994b; Jiménez *et al.*, 1995). Es de destacar asimismo que las sustancias pécticas sufren importantes variaciones a medida que avanza el proceso de maduración del fruto, en el que se reducen paralelamente la textura, el contenido en ácido anhidrogálgacturónico y el grado de esterificación (Minguez Mosquera *et al.*, 1982).

Otro constituyente importante de la pulpa de las aceitunas son los elementos minerales de la misma. En general alcanzan valores entre 0,68 y 1,10 % del peso de materia fresca (Fernández-Díez *et al.*, 1985). De todos los elementos minerales, el predominante es el potasio, como ocurre en todos los tejidos vegetales. Le siguen fósforo, calcio, magnesio y sodio y, ya en mucha menor proporción, hierro, zinc y cobre. En resumen, se trata de un contenido mineral adecuado para la nutrición humana. En este momento cabe apuntar la adición de sodio (5% NaCl) a las salmueras de aliñado final de las aceitunas de Campo Real, factor éste que habrá que disminuir si se pretende ampliar el mercado a consumidores hipertensos.

En la Tabla 2.4 se dan los resultados de las determinaciones de los principales elementos minerales para las variedades aceptadas en la producción de Aceituna de Campo Real. La tendencia antes comentada se mantiene, si bien las cantidades de cada elemento son variables, dentro de unos márgenes, en función del tipo de abonado y manejo del olivar y de la variedad y grado de madurez del fruto.

Variedad	Análisis de Elementos Minerales								
	% m.f.							ppm	
	P	Na	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Zn
Manzanilla ⁽¹⁾	0,029	0,008	0,283	0,051	0,014	0,004	39,0	4,2	5,3
Cacereña ⁽²⁾	—	0,007	0,408	0,020	0,009	—	8,8	2,1	3,8

Tabla 2.4. Contenido en elementos minerales de la pulpa de aceitunas de las variedades empleadas en la producción de Aceitunas de Mesa "Campo Real".

% m.f., composición porcentual sobre materia fresca.

(1) Nosti Vega *et al.* (1983); (2) Valiente *et al.* (manuscrito en preparación).

Con respecto a características organolépticas, el **color** de la aceituna Cacereña es verde más claro que el de la Manzanilla, y su **textura** es inferior. Ambos aspectos han sido caracterizados con detalle en el I.M.I.A., mediante el uso de las técnicas de colorimetría y texturometría que se detallan en el Anexo 1.

El grado de maduración del fruto de aceituna está en relación directa con el color que presenta su epidermis. Así, podemos distinguir entre aceitunas verdes, de color cambiante o moradas. Dentro de la clasificación de Preparaciones Comerciales de Aceitunas de Mesa del I.O.O.C. —correspondiente al concepto de Elaboraciones Comerciales de la Reglamentación Técnico Sanitaria, Real Decreto 1074/1983 de 25 de Marzo, B.O.E. 6/83— las Aceitunas de Campo Real se encuadran dentro del tipo "aceitunas de color cambiante aderezadas en salmuera".

Merece la pena detenerse en el significado preciso de esta definición. Las aceitunas de color *cambiante* se recolectan antes de su completa madurez, presentando tonalidades rosadas, rosa vino o castañas. El Reglamento de la Denominación de Calidad "Aceitunas de Campo Real" acepta hasta un 30% de frutos de color completamente morado. La recolección en *envero*, o estado de color cambiante, supone que en una partida aparecerán frutos en distintos estados de madurez, fácilmente identificables de *visu* y mediante la colorimetría CIE-L*a*b*.



Partida de aceituna Cacereña para la elaboración de Aceituna de Campo Real

Estado del fruto	Parámetros del espacio del color		
	L*	a*	b*
Verde	51,6	-17,8	38,6
Color cambiante	41,1	-0,36	28,5
Morado	24,2	15,7	7,3

Determinación analítica (colorimetría CIE-L*a*b*) del color superficial del fruto

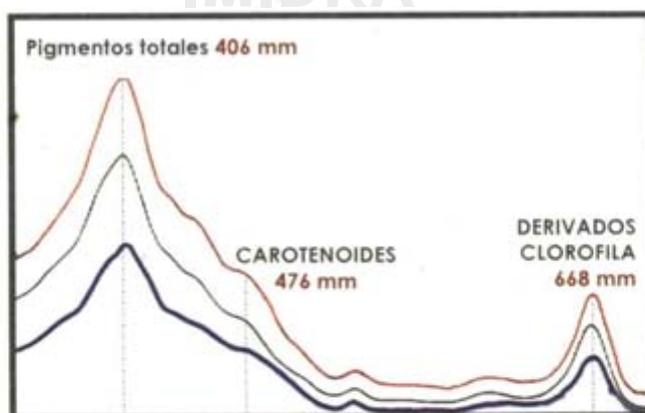
Directamente relacionados con el color de la aceituna se encuentran otros dos aspectos: (i) el contenido en pigmentos del mismo y (ii) la presencia de determinadas actividades enzimáticas, de las cuales las más importantes son la peroxidasa y la polifenol oxidasa.

Los pigmentos del fruto de aceituna y su evolución durante la maduración del mismo han sido estudiados en detalle por Mínguez Mosquera y colaboradores (Mínguez Mosquera *et al.* (1989a); Mínguez Mosquera *et al.* (1989b); Mínguez Mosquera y Garrido Fernández, (1989); Mínguez-Mosquera *et al.* (1990)), en las variedades Manzanilla y Hojiblanca. Valiente *et al.* (manuscrito en preparación) han estudiado el contenido en pigmentos de frutos de la variedad Cacereña mediante el método espectrofotométrico descrito por Mínguez-Mosquera *et al.* (1990):

Fruto	Pigmentos totales	Carotenoides a ^b	Clorofilas y derivados
Verde	27,7 ^a	7,3 ^a	19,1 ^a
Color cambiante	17,0 ^b	4,5 ^b	11,3 ^b
Morado	16,8 ^b	5,3 ^b	7,8 ^c

Tabla 2.5. Contenido en pigmentos en frutos de aceitunas de la variedad Cacereña para la producción de Aceitunas de Mesa "Campo Real" (mg/kg de fruto deshuesado).

Los valores en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren significativamente ($p < 0.05$) según el Test de Rangos Múltiples de Duncan.



Espectros de absorción UV-Vis de extractos en acetona de aceituna Cacereña

Los resultados indican que la concentración de carotenoides y clorofilas desciende con la maduración, de forma más acusada en el caso de las clorofilas. En general, los resultados están de acuerdo con los descritos por Mínguez Mosquera y Gallardo Guerrero (1990) en frutos de aceituna de la variedad Gordal. En el estado "verde" de la aceituna, los carotenoides descienden más que las clorofilas, y posteriormente se produce una degradación más acusada de estas últimas, con lo que se comienzan a observar las coloraciones rosadas y rojizas propias de los carotenoides (frutos de color cambiante y morados).

Estrechamente relacionadas con el color que presentan los frutos de aceituna se encuentran determinadas actividades enzimáticas, de las cuales las más importantes son las **peroxidasas** (PODs) y la **polifenol oxidasa** (PPO). Las peroxidasas pertenecen al grupo de enzimas poco específicos, que provocan al mismo tiempo modificaciones del color, del aroma y de otros caracteres. Son bastante termorresistentes, y se considera que un tratamiento térmico moderado puede provocar una inactivación únicamente de carácter reversible (Cheftel y Cheftel, 1992). En el IMIA se ha estudiado el carácter reversible/no reversible de su inactivación por el tratamiento alcalino con NaOH (ver Capítulo 3), así como su evolución en frutos de aceituna Cacereña durante los sucesivos estados de maduración del fruto.

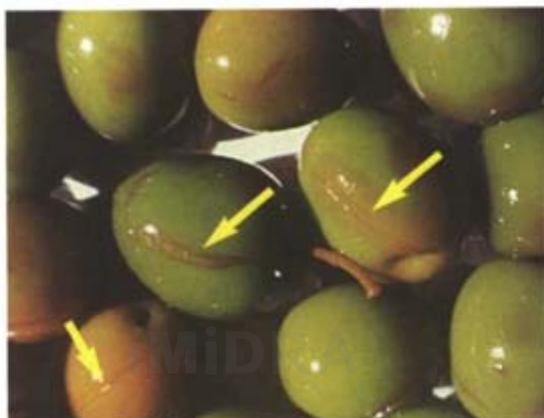
En general, la peroxidasa presenta gran actividad en los tejidos vegetales. Interviene en la síntesis de etileno y, por lo tanto, en los procesos de maduración y envejecimiento de los tejidos (Yang, 1967). Está también implicada en la ya mencionada degradación de las clorofilas (Walker, 1964) y participa en el control de la actividad respiratoria celular en la madurez y senescencia. Asimismo, existen referencias de tejidos vegetales en los que se ha inducido genéticamente la sobreexpresión de actividad peroxidasa, con un rápido *pardeamiento enzimático* por deposición de polifenoles tras inducir una lesión tisular (Lagrimini, 1991) y en ausencia de actividad PPO. Ello indica lo íntimamente relacionadas que se encuentran ambas enzimas, ya que es la polifenoloxidasa la que teóricamente presenta una actividad que origina, específicamente, la alteración del color denominada *pardeamiento enzimático*.

En realidad, esta reacción comprende dos etapas: (i) la hidroxilación de monofenoles y (ii) la oxidación de difenoles, que son dos acciones enzimáticas distintas y separables. Sin embargo, parece que una misma enzima puede catalizar ambas. Estrictamente, se debe hablar de monofenoloxidasa para la etapa (i) y de polifenoloxidasa para la (ii) (Cheftel y Cheftel, 1992). En general, digamos que la acción oxidativa de los complejos PPO sobre diferentes sustratos —entre ellos, de los compuestos fenólicos— origina quinonas que, a su vez, forman unos polímeros insolubles y coloreados (pardos). Estos polímeros parecen impregnar los tejidos y dotarlos de cierta capacidad de resistencia frente a la progresión de infecciones (Vamos-Vigyazo, 1981).

Aunque las polifenoloxidasas sólo están presentes en tejidos vegetales en bajas concentraciones, frecuentemente es el contenido en sustrato (objeto de la reacción) y no la enzima la que limita la velocidad de pardeamiento. El pH óptimo de actividad se sitúa entre 6,0 y 6,5 unidades de pH. El fruto de aceituna presenta actividad polifenoloxidasa y compuestos fenólicos susceptibles de oxidación, de los cuales el más abundante es la oleuropeína (Goupy *et al.*, 1991); sin embargo, y como ocurre en todos los tejidos vegetales, la reacción prácticamente no aparece mientras los tejidos estén sanos e intactos. Este hecho se asocia a la integridad celular de un tejido sin dañar (ver Capítulo 5), en la que la compartimentalización celular asegura la separación de enzimas y sustratos. Sin embargo, cuando un tejido vegetal se lesiona, lace-
ra o infecta, aparecen rápidamente los polímeros coloreados pardos, asociados a la acción de la PPO. Se considera, como ya se ha comentado, que estos polímeros pueden representar un papel de protección contra la penetración y/o proliferación de microorganismos, aunque sin evidencias definitivas (Mayer, 1987).

La actividad difenoloxidasa en aceitunas se asocia a las membranas de los cloroplastos y se solubiliza progresivamente con la maduración. Es por ello posible que su

implicación en el pardeamiento de la aceituna varíe considerablemente con el estado fisiológico (grado de maduración, integridad de los tejidos, sanidad) del fruto (Goupy *et al.*, 1991 y referencias en el mismo). Estos autores correlacionaron positivamente el potencial de pardeamiento enzimático de 10 variedades francesas de aceituna con el contenido de sustrato (oleuropeína), sin encontrar correlación con la actividad de la enzima. Un ejemplo claro de la actividad polifenoloxidasas se puede encontrar en los frutos de aceituna sometidos a la práctica del rajado: en la elaboración tradicional de Campo Real, el fruto de aceituna Cacereña se raja manualmente para permitir una incorporación más rápida e intensa de los aromas y sabores del aliño. El daño mecánico que se ocasiona al tejido induce la actividad PPO, que se delimita como una franja de color pardo alrededor de la fisura:



Frutos de aceituna Cacereña rajados para la elaboración de Campo Real.
Actividad PPO alrededor de la lesión (flechas)

En frutos de aceituna Cacereña se han valorado (Valiente *et al.*, manuscrito en preparación) las actividades peroxidasa y polifenoloxidasas a lo largo del proceso de maduración, encontrándose que la actividad soluble ensayada aumenta claramente con el estado de maduración (Tabla 2.6). Los resultados pueden deberse, bien a una mayor actividad específica de las enzimas, o bien a una mayor solubilización de los enzimas ligadas a membranas, como anteriormente se ha indicado. La actividad soluble detectada aumenta, en todo caso, de forma mucho más acusada en el caso de la POD.

Fruto	Unidades actividad/g fruto deshuesado	
	Peroxidasa	Polifenoloxidasas
Verde	no detectable	5,66 ^a
Color cambiante	1,10 ^a	6,81 ^{ab}
Morado	8,53 ^b	8,48 ^b

Tabla 2.6. Actividades POD y PPO en fruta fresca de aceitunas de la variedad Cacereña para la elaboración de Aceitunas de Mesa "Campo Real" (Unidades de actividad/g de fruto deshuesado).

1 Unidad actividad POD = $\Delta\text{Abs } 460 \text{ nm} / \text{min}$; 1 Unidad actividad PPO = $\mu\text{mol catecol oxidado} / \text{min}$
Los valores en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$), según el Test de Rangos Múltiples de Duncan.

Las actividades enzimáticas mencionadas han sido estudiadas, asimismo, en fruto conservado en salmuera y en congelación (éste último, con la intención de determinar si la congelación a -30°C afectaba a la actividad enzimática, como consecuencia de la rotura interna de membranas y descompartimentalización celular). Los resultados indican que la polifenoloxidasas pierde actividad con gran facilidad, pues tras un mes de conservación en salmuera la actividad enzimática se redujo en un 54%. Sin embargo, la congelación rápida a -30°C mantuvo la integridad de la actividad enzimática.

Fruto	Unidades actividad/g fruto deshuesado	
	Peroxidasa	Polifenoloxidasas
Verde	0,17 ^a	4,78 ^a
Color cambiante	2,05 ^b	6,59 ^{ab}
Morado	3,08 ^c	8,06 ^b

Tabla 2.7. Actividades POD y PPO en fruto congelado de aceitunas de la variedad Cacereña para la elaboración de Aceitunas de Mesa "Campo Real".

Los valores en la misma columna seguidos de la misma letra no difieren significativamente ($p < 0.05$) según el Test de Rangos Múltiples de Duncan.

Un último aspecto del conocimiento en profundidad de la materia prima empleada en la elaboración de Aceituna de Campo Real lo constituye la caracterización de su **textura**. Los frutos excesivamente blandos no son aptos para una adecuada elaboración, pues el tratamiento con la lejía alcalina y los lavados posteriores los ablandan todavía más, resultando aceitunas no apetecidas por los consumidores. La evaluación analítica de la textura del fruto de Cacereña —asociada a la firmeza de piel y pulpa— se realizó en el IMIA mediante el uso de un texturómetro equipado con una sonda que comprimía la pulpa de la aceituna, produciendo una deformación en la misma de 5 mm. El valor (gramos-fuerza) de la fuerza necesaria para producir dicha deformación se adoptó como indicador de la textura del fruto. Todos los detalles sobre este procedimiento analítico se pueden encontrar en el Anexo I.

Es ya conocido que la dureza de frutos y otros órganos vegetales desciende durante la maduración. Por consiguiente, se caracterizaron los valores de textura en frutos verdes, de color cambiante y completamente maduros. Los rangos de valores de textura (en frutos frescos de Cacereña y en las condiciones determinadas del ensayo) aceptables para la elaboración de Campo Real se detallan a continuación:

Fruto	Grado de maduración		
	Verde	Color cambiante	Morado
Textura (g)	5000-7500	4000-6000	2000-3500

Tabla 2.8. Valores característicos de textura (gramos-fuerza) de los frutos de aceituna Cacereña según el ensayo de compresión uniaxial de 5 mm.



Ensayo de determinación de textura de un fruto de aceituna

3 El proceso de la Aceituna: Cómo se hace

En este capítulo vamos a conocer los procesos que transforman los frutos de aceitunas Cacereñas y Manzanillas en Aceitunas de Campo Real. Sin entrar en los secretos de las fórmulas de aliño, conoceremos paso por paso cuáles son las modificaciones que va sufriendo ese fruto amargo y duro para llegar a adquirir los aromas de esta elaboración tan propia de la Comunidad de Madrid.

Cada paso del proceso de la aceituna tiene un porqué; cada paso modifica el fruto, física, química, o microbiológicamente; cada paso tiene sus beneficios y sus riesgos; cada paso debe ser controlado, está sujeto al buen hacer tradicional y es, al propio tiempo, susceptible de modificaciones. Algunas de estas modificaciones son tradicionales en los aceituneros: por ejemplo, disminuir la concentración de la solución de sosa a medida que aumenta la temperatura ambiente. En este capítulo veremos por qué. Otras modificaciones surgen por la inquietud del Sector en abrir nuevos mercados, y éstas las dejaremos para el Capítulo 10; por último, se indicarán algunos cambios en el proceso sugeridos por la propia labor de investigación, en busca de dotar al producto final de una vida útil mucho más extensa.

Los frutos de aceituna llegan a las industrias elaboradoras de la Comunidad de Madrid desde principios o mediados de septiembre, dependiendo del inicio anual de la campaña de recogida. Según haya sido el año, así reflejarán los frutos de aceituna su historia: las lluvias, los abonados, la insolación. Es posible que las partidas de aceituna de excesiva textura o dureza precisen la práctica del rajado. Antiguamente, el rajado de la aceituna (dos cortes en sentido longitudinal) se hacía manualmente. En la actualidad, muchas empresas disponen de una pequeña maquinaria de cuchillas. El rajado se realizará, de efectuarse, inmediatamente antes del aderezo o curado en sosa.

El rajado asegurará la entrada efectiva de la solución de sosa y de los aliños; sin embargo, también es, como ya hemos visto, una vía de entrada para microorganismos contaminantes y una agresión estructural muy localizada al fruto, que le hace perder bastante textura. La práctica del rajado tiene sus defensores y sus detractores entre los productores de Aceituna de Campo Real. Incluso el propio Reglamento de la Denominación de Calidad acepta su exclusión dentro del sistema tradicional de elaboración de Campo Real en las épocas de altas temperaturas, pues sin duda el rajado contribuye al deterioro del producto final.

Algunas aceitunas destinadas a la elaboración de Campo Real se recogen de los olivares del término municipal y colindantes; sin embargo, el volumen comercializado de esta elaboración es, con mucho, superior a la producción de estos pequeños olivares. Por ello, como se ha indicado, la mayor parte de las aceitunas provienen de las provincias de Cáceres, Salamanca y Sevilla.

Es posible que el transporte de las aceitunas se haga en seco, en camiones que descargan en barriles de gran capacidad o directamente a los depósitos de los productores. Sobre estos depósitos hablaremos en el Capítulo 8, dedicado a las Empresas

elaboradoras de Aceituna de Campo Real de la Comunidad de Madrid. Otras veces, las aceitunas se transportan en barriles plásticos, en una salmuera de conservación preparada por el proveedor en origen. En este caso sería deseable el análisis de las características químicas de estas salmueras, para asegurar su aptitud para la conservación del fruto.

Es posible que estas salmueras "de origen" no se usen para el almacenamiento prolongado del fruto en nuestras industrias. Muchos productores cambian las aceitunas a sus propios depósitos de almacenamiento, y algunos aprovechan este proceso para realizar la selección del fruto: por color y por tamaño, para adecuarse a lo requerido por el Reglamento de la Denominación de Calidad y, algunos, en busca de un color verde exquisito y de un calibre alto que garanticen la satisfacción de sus clientes.



*Aceitunas Cacereñas en salmuera de conservación en un depósito abierto
(Campo Real)*

Pero la campaña avanza, y a medida que lo hace, la aceituna que alcanza las industrias aderezadoras de Campo Real está cada vez más madura. Por consiguiente, los tonos verdes de las clorofilas comienzan a dejar paso a los rosados y rojos de los carotenoides, y la proporción de frutos maduros (morados) es cada vez mayor. Con ello, la textura o dureza media de cada partida de aceituna va disminuyendo. Sabemos también que las actividades enzimáticas responsables del pardeamiento del fruto comienzan a expresarse, y que se modifica la composición química de las paredes celulares.

En este momento es posible que sea necesario la utilización de un agente restaurador o, al menos, capaz de mantener la textura de las aceitunas, a las que aún esperan tratamientos tan drásticos como el aderezo en sosa y los lavados. No es posible que el

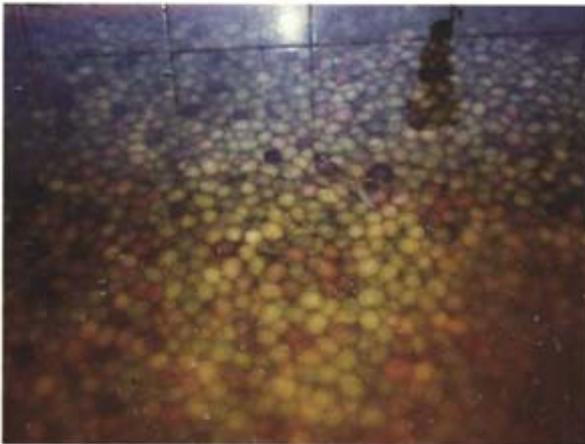
fruto ya esté previamente blando. Los productores de Campo Real saben de la eficacia del uso de cloruro cálcico (CaCl_2) como agente endurecedor. Su utilización es, como el rajado, controvertida; unos lo utilizan para garantizar la textura de los frutos; otros afirman que crea una costra que endurece y amarga la aceituna. Como todo, no se puede establecer una dosis única y permanente para la utilización de este agente. Su uso será en función de cómo venga la aceituna ese año, del tiempo previsto de permanencia en la salmuera de conservación, etc. En el IMIA se han dedicado varias experiencias a establecer el efecto del calcio en el proceso de la Aceituna de Campo Real. En una de ellas se valoró su utilización en la salmuera de conservación de los frutos, que debe hacerse en dosis muy bajas (inferiores al 0,5% en peso) y en función del tiempo de permanencia de los frutos. En la segunda experiencia se valoró, con efectos muy positivos, su inclusión en las aguas de lavado como agente restaurador de la textura degradada por un tratamiento alcalino enérgico. Señalemos también, en este punto, que los análisis de las salmueras de conservación de los propios proveedores de aceituna (en origen) indican la utilización de este agente endurecedor.

Lo que sí es común para los elaboradores de Campo Real es la preparación de las salmueras de conservación, con cloruro sódico (NaCl) en concentraciones comprendidas, de acuerdo al Reglamento de la Denominación de Calidad, entre el 4 y 6 % en peso. Algunos productores vigilan que la disolución de la sal sea homogénea y completa, y periódicamente bombean salmuera del fondo de los depósitos hacia la superficie de los mismos, para evitar acúmulos y diferencias de concentración.

Durante la conservación, los frutos incorporan las sales de la salmuera, especialmente los cationes Ca^{++} y Na^+ , que estabilizan —por diferentes mecanismos químicos y bioquímicos— las paredes celulares de los frutos. Así, en general, y como también se ha comprobado en el IMIA, los frutos de aceituna bien conservados mantienen, e incluso incrementan, ligeramente su textura.

Asimismo, durante la conservación las aceitunas pueden, en el mejor de los casos, sufrir una fermentación parcial por ciertos microorganismos. Los procesos fermentativos

más convenientes están mediados por bacterias lácticas, con preferencia el género *Lactobacillus*. Los lactobacilos se desarrollan fermentando los azúcares del fruto y generando, como consecuencia de esta actividad, gas (CO_2) y ácido láctico. La presencia de ácido láctico en la salmuera va disminuyendo el pH de la misma, haciéndola progresivamente menos adecuada para el desarrollo de otros microorganismos que sí pueden resultar perjudiciales para el producto.



Aceitunas Cacerseñas en salmuera de conservación

En general, debe tenerse presente que las Aceitunas de Campo Real **no son un tipo de elaboración fermentado**. Es decir, la fermentación no es una parte del proceso productivo; de ser así, tendría lugar en grandes depósitos cerrados que mantuvieran las condiciones de anaerobiosis (fermentativas) aptas para el desarrollo de los lactobacilos; con concentraciones de NaCl del 10-12%; tras el aderezo o cocido en sosa, que abre grandes vías de entrada para el acceso de las bacterias lácticas, e incluso, mediante inoculación dirigida de cepas seleccionadas de lactobacilos. Ninguna de estas condiciones se da en la posible fermentación parcial y espontánea de los frutos, sin cocer, mantenidos en salmuera.

Los análisis de las salmueras de conservación de los productores de Aceituna de Campo Real realizados en el IMIA indican que, efectivamente, estas fermentaciones espontáneas pueden tener lugar. Así, se encuentran salmueras de conservación con concentraciones del 3,1% en NaCl, pH del orden de 4,5 y una flora microbiana constituida predominantemente por levaduras ovals y lactobacilos, en las que posiblemente se están iniciando procesos fermentativos parciales. En estas salmueras, el ácido orgánico predominante es el láctico.

Como las Aceitunas de Campo Real no son un producto fermentado, algunas de las alteraciones microbianas que pueden darse durante los primeros pasos de las fermentaciones industriales de aceitunas verdes sevillanas aparecen, en nuestro caso, en el producto final, limitando su vida útil. Así, para establecer un proceso fermentativo eficaz es necesario asegurar una rápida bajada de pH por acción de los lactobacilos, que garantice la inhibición del desarrollo de bacterias gram-negativas y ciertos tipos de levaduras, productoras de la alteración denominada "alambrado", o de fermentaciones indeseables (butírica) mediadas por otros microorganismos, que comunican olores y sabores indeseables a los frutos. Para esta rápida bajada de pH hay que eliminar eficazmente la sosa residual del interior de los frutos. Este mismo problema se planteará en la elaboración de Campo Real, con el agravante de que la sosa residual difunde desde los frutos hasta la salmuera de envasado final, en el producto aderezado y aliñado.

Por consiguiente, en la elaboración de Campo Real los frutos de aceituna retienen, cuando son sacados de los depósitos para el procesado, la mayoría de su materia fermentable. Aunque la actividad de los lactobacilos haya existido, su acceso al interior de los frutos íntegros, con la capa cerosa exterior, y con buena organización estructural de los tejidos, es difícil.

Tras sacarlos del depósito, en general los productores limpian los frutos e, incluso, algunos los mantienen en agua hasta 24 horas antes del cocido, curado o aderezo en sosa.

El aderezo o tratamiento con sosa es un punto crucial en el tratamiento de la Aceituna; si es excesivo en concentración, temperatura o duración, probablemente el fruto quede dañado; si es inferior a lo necesario, no se elimina el amargor del fruto e, incluso, no se facilita la extracción de azúcares de la pulpa. En estas condiciones, el fruto será aún más susceptible al deterioro. El control del aderezo debe realizarse de manera sistemática, y deberían ser fundamentales los controles a la hora de preparar la disolución de sosa y de controlar periódicamente el grado de penetración de ésta en los frutos.

El control de la penetración de la sosa en las aceitunas se realiza mediante el seccionamiento transversal de unos cuantos frutos (al menos 25 para asegurar la homoge-

neidad de la partida, según el I.O.O.C., 1990). Es posible observar de visu cuánto ha penetrado la sosa, como un ligero cambio de color y "textura" (tono, brillo, porosidad, aspecto) de la pulpa. Sin embargo, la sencillísima aplicación de una gota de una solución indicadora de pH no deja lugar a dudas:



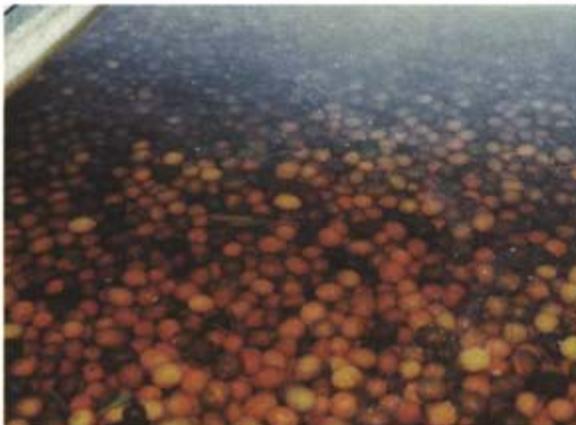
Control del aderezo en frutos de aceituna Cacereña para Campo Real mediante empleo de una solución indicadora de fenolftaleína.

pHs ácidos y neutros: incolora; pHs alcalinos (sosa): rosa intenso.

Primeros estadios: A) Peciolo; B) Piel

La penetración de la solución de sosa se inicia por el único lugar del fruto que no está recubierto de ceras: la inserción del peciolo. A continuación, la solución alcalina comienza a disolver, lentamente, la capa cerosa exterior de la aceituna. Este paso es el más lento. Una vez que la sosa ha conseguido acceder a las capas celulares, comienza por abrir orificios en la epidermis y posteriormente penetra hacia el hueso, por la pulpa. En estos estadios, la progresión del aderezo o curado de la aceituna es

bastante rápido, por lo que se precisa su control estricto si se desea detener en un punto dado.

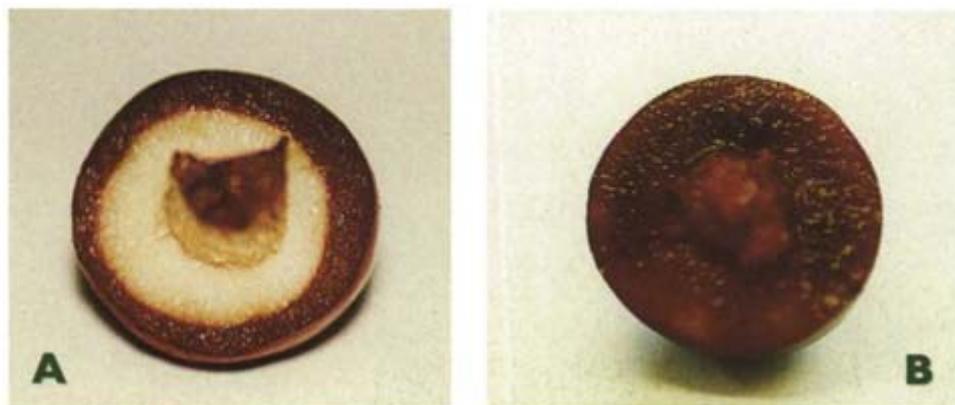


Aceituna Cacereña "cociendo" en la solución de sosa

Si sobre el rajado o el empleo del calcio existe controversia, podríamos decir que la forma de realizar y controlar el aderezo o cocido imprime carácter. Como nos decía un productor de Aceituna de Campo Real "... el cocer es todo..."; y posteriormente, añadía en voz baja: "... y a todos los demás les enseñé yo..."

Valga la anécdota para ilustrar la importancia de este paso en el proceso de la aceituna y, de paso, el apego de cada productor a su práctica tradicional. En general, las soluciones de sosa se preparan próximas al 2% en peso. En las valoraciones realizadas en el IMIA se han obtenido concentraciones en el rango del 1,7 al 2,8%. En general, es práctica aceptada variar la concentración de sosa a medida que avanzan las estaciones, aumentándola en la época fría y disminuyéndola progresivamente en primavera y verano. En efecto, un cocido demasiado drástico, demasiado rápido, puede producir daños en la superficie del fruto (Table Olive Processing, I.O.O.C., 1990). La reducción de la concentración de la sosa se ajusta de forma que la duración del aderezo sea la tradicional en la Empresa, en un lógico intento de mantener los tiempos y las rutinas de producción. A nadie le gusta tener que sacar las aceitunas de la solución de sosa por la noche.

La duración idónea del aderezo se estima, por parte de diversos autores (Fernández-Díez *et al.*, 1985 y referencias en el mismo), entre 4 y 7 horas para la aceituna de la variedad Manzanilla. Aunque cada variedad de aceituna presenta ciertas variaciones estructurales que se reflejan en la mayor o menor consistencia de la pulpa, las similitudes entre Manzanilla y Cacereña hacen pensar que también sea una duración adecuada para el aderezo de esta última. Los resultados de las experiencias realizadas en el IMIA con control del cocido en diferentes soluciones de sosa así lo indican. En general, los productores de Aceituna de Campo Real tienden a utilizar concentraciones de sosa bajas, en muchos casos no superiores al 2%, y tiempos de cocido de 9-12 y hasta de 14 horas. Este grupo de productores cuece la aceituna "hasta el hueso". Otros elaboradores utilizan "lejjias" (soluciones de sosa) más concentradas, cociendo una media de 8 horas y permitiendo que la penetración de la sosa sea de unos 2/3 o 3/4 de la pulpa, como se ilustra en las fotografías:



Control del aderezo en frutos de aceituna Cacereña para Campo Real mediante empleo de una solución indicadora de fenolftaleína.

pHs ácidos y neutros: incolora; pHs alcalinos (sosa): rosa intenso.

Estadios: A) 1/2 de pulpa; B) Hueso

Las experiencias realizadas en el IMIA sobre el control del cocido en sosa indican la conveniencia de utilizar concentraciones un poco más elevadas, en principio no inferiores al 2% en peso. Ello es debido a la necesidad de producir un tamaño suficiente

de laceración u orificio en los tejidos de la aceituna que permita el intercambio fácil de azúcares y otros metabolitos con las aguas de lavado. Además es necesaria la disolución de la cubierta cerosa, con el mismo motivo. Estos aspectos se entienden muy fácilmente al comparar, bajo el microscopio, un fruto de aceituna fresco y cocido en diferentes concentraciones de sosa: el lector puede comprobar el aspecto que presentan en el Capítulo 5.

Si se emplean concentraciones suficientes de sosa, y aunque el aderezo se interrumpa cuando la solución alcalina ha alcanzado 2/3 de la pulpa para iniciar los lavados, éstos no extraen ni toda la sosa, ni tan rápidamente, del interior del fruto. Durante un cierto tiempo, que se estima próximo a las 2 horas, la sosa sigue difundiendo hacia el interior del fruto, movida por su propio gradiente hacia las zonas de menor concentración. Este fenómeno se conoce entre los aceituneros con el nombre de "recocido". Ejemplo de un fruto recocado es el que se muestra en la fotografía anterior cocido completamente (B). Algunos productores de Aceituna de Campo Real hacen uso de este proceso en su elaboración. Otros, como en las meigas, no creen en ello: afirman que no pueden controlarlo y que, por consiguiente, no lo emplean.

Algunos, con razón, señalan que en una misma partida de aceituna coexisten aceitunas de diversos calibres; y que si dejan recocer las aceitunas grandes, las pequeñas acaban destruidas. Al indicarles que dejen recocer las pequeñas, afirman que las grandes se quedan amargas. Y como en las pruebas de cata de sus clientes siempre son elegidos los frutos grandes, la partida de Aceituna de Campo Real no es exitosa. Humor aparte, es difícil conjugar un proceso químico con la dependencia de las condiciones ambientales, con el estado y calibre de los frutos, con un horario aceptable para el arduo trabajo de elaborar aceituna, y con la satisfacción final del cliente. El problema indicado por este productor sólo se consigue solventar con una cuidadosa selección del calibre de la aceituna. En todo caso, el recocido progresa en el interior del fruto durante los primeros lavados, y muchos productores hacen buen uso de ello.

Una vez "cocido" o aderezado el fruto, en el mismo han tenido lugar importantes transformaciones estructurales, químicas, bioquímicas y microbiológicas. Las transformaciones estructurales consisten en la destrucción más o menos total de la organización de los distintos tejidos vegetales: la epidermis (piel) y el mesocarpio (pulpa), junto con la disolución de la capa cerosa que envuelve al fruto. Como la mejor forma de comprender lo que hace la sosa es viéndolo, remitimos otra vez al lector al Capítulo 5. Una imagen vale más que mil palabras... Sólo indiquemos aquí que un tejido sin estructuración es lógicamente más blando: el tratamiento con sosa provoca una pérdida drástica de la textura del fruto.

En el IMIA se han valorado las texturas de frutos de aceituna, de una misma partida inicial, que habían sido cocidos en disoluciones de sosa de diferente concentración, en todos los casos hasta 2/3 de pulpa y permitiendo el recocido. Los resultados dan dos grupos estadísticos de significación: concentraciones inferiores o próximas al 2% en peso, y concentraciones de 2,5 al 3% en peso. La pérdida de textura con estas últimas es mayor, y la razón se puede observar con el microscopio (Capítulo 5).

Toda la destrucción estructural y la pérdida de textura se relacionan, lógicamente, con la modificación o pérdida de los componentes estructurales de las paredes celulares: celulosa, hemicelulosas, lignina y sustancias pécticas, que también se han estudiado en el IMIA para la aceituna Cacereña.

El tratamiento con sosa tiene como fin químico primordial endulzar la aceituna. Los frutos de aceituna son intensamente amargos, debido a la presencia de un glucósido denominado oleuropeína, cuyo descubrimiento por Bourquelot y Vintilescu se remonta a 1908. El tratamiento con sosa provoca la *hidrólisis* o rotura de este compuesto, produciéndose como consecuencia una serie de compuestos secundarios, de los cuales los más importantes son hidroxitirosol y ácido elenoico (Brenes *et al.*, 1995). No solamente es responsable del amargor de las aceitunas frescas; además, la oleuropeína y los derivados de su hidrólisis tienen un efecto inhibitor sobre los lactobacilos (Ruiz *et al.*, 1993) responsables de los procesos fermentativos, así como sobre otros microorganismos (Tassou and Nichas, 1994). Es fácil comprender que, en el caso de aquellas elaboraciones de aceituna de mesa fermentadas (aceituna sevillana, por ejemplo), para garantizar la eficacia de la fermentación hay que garantizar primero la ausencia de oleuropeína y sus hidrolizados; es decir, la eficiencia del tratamiento alcalino y de los lavados posteriores.

El cocido en sosa destruye, parcialmente, los pigmentos que conferían el color inicial a los frutos frescos, valorables analíticamente. Respecto al color superficial, por colorimetría CIE-L*a*b* se observa una pérdida de los componentes verde (eje a*) y amarillo (eje b*) del fruto. Además, la disolución de la capa cerosa trae una lógica pérdida del brillo de la aceituna, que se observa como un descenso del parámetro L* (luminosidad).

Las actividades enzimáticas de los frutos frescos se inactivan tras el tratamiento en sosa, en la medida en la que la solución alcalina ha alcanzado todas las células y destruido su compartimentalización interna. En concreto, las actividades peroxidasa y polifenoloxidasa se pierden tras los tratamientos con sosa (González y De Lorenzo, resultados no publicados). Si estos efectos se producen en el fruto, se comprende que también se vea libre de microorganismos, incapaces de sobrevivir en la solución alcalina.

Los resultados de todas las determinaciones analíticas realizadas en el IMIA en relación al efecto del cocido sobre las características físicas, químicas y microbiológicas de las aceitunas de la variedad Cacerreña se presentan en las tablas del final de este capítulo. Las alteraciones estructurales se pueden observar en el Capítulo 5.

En resumen, el fruto cocido está blando, ha perdido luminosidad y modificado su color superficial, carece —en mayor o menor grado— de su antigua envuelta cerosa protectora, no presenta una actividad metabólica importante, su composición química se ha modificado y está "esterilizado" porque, a pH 13, no sobreviven los microorganismos.

El paso siguiente en el proceso de la aceituna son los *lavados*. Una vez más, cada productor tiene una forma más o menos particular de realizarlos. En general, los elaboradores de Aceituna de Campo Real realizan ya un primer lavado dinámico —es decir, con agua corriendo sobre los frutos—, que debe asegurar una retirada rápida de la sosa del exterior del fruto e iniciar el descenso de pH del interior de los frutos. Lo ideal sería que el lavado fuera efectivamente dinámico y que, en la medida de lo posible para no degradar más la textura, las aceitunas se movieran un poco para que no quedaran zonas con sosa retenida. Algunos productores, para realizar este primer lavado, llenan y vacían los pilones de lavado de las aceitunas tres o cuatro veces consecutivas.

A continuación se dan dos o tres lavados estáticos: es decir, los frutos se dejan sumergidos en agua, en grandes pilones, un número determinado de horas, tras lo cual se retira esta agua y se añade nueva. La mayor parte de los productores dan 3 lavados de 10-12 horas. Alguno introduce lavados más largos, de 24 horas. Un número excesivo de lavados provoca un descenso en la textura del fruto, ya blando desde el tratamiento alcalino, por lo que, en épocas de altas temperaturas, todos restringen el número o la duración de los mismos. Es creencia generalizada que las aguas del manantial de Campo Real restauraban la textura del fruto, efecto achacado a la dureza de las mismas; más concretamente, a su contenido en calcio. Algún productor de Campo Real nos ha manifestado que, en su opinión, este efecto no era tan claro. En la actualidad, utilizan el agua de la red general de la Comunidad de Madrid (Canal YII).

En el IMIA se han ensayado muy distintas formas de lavar, siempre con el objetivo de retirar cuanto antes la mayor cantidad posible de sosa residual del interior del fruto. Tras el lavado dinámico, que retira la sosa externa, se considera conveniente realizar un lavado corto, del orden de 3 horas. En este momento, los frutos contienen mucha sosa, que es capaz de difundir muy rápidamente hacia el agua de lavado. A medida que las concentraciones de sosa en el interior y el exterior del fruto tienden

a igualarse, la velocidad de esta difusión es menor. Por ello, un cambio de agua restaura el gradiente de concentraciones —vuelve a haber bastante sosa en el interior del fruto y nada en el exterior—, y se acelera nuevamente la salida de la sosa residual. Con este sistema se obtienen descensos de pH del orden de 1-1,5 unidades. Posteriormente se dan dos lavados largos (24 y 36 horas), en el último de los cuales se propone la incorporación de cloruro cálcico como agente restaurador de la textura. Los pHs finales de las aguas de lavado oscilaron en torno a 9 unidades, valor aceptable si se considera que en el cocido eran de 13-14 unidades. Las aceitunas así preparadas tuvieron muy buena aceptación entre catadores no entrenados y los propios productores de Campo Real. Una descripción detallada de esta experiencia se encuentra en el Capítulo 7.



Aceitunas Cacerseñas cocidas, lavando en una elaboradora de Campo Real

Y, por último, tras el lavado, viene el aliñado con las especias y condimentos tradicionales en esta elaboración de Campo Real. Según el Reglamento de la Denominación de Calidad, los ingredientes del aliño son:

- de tipo obligatorio: ajo, tomillo, hinojo, y orégano.
- de tipo optativo: laurel, cominos, mejorana, cilandro.



Preparación del aliño: parte de los ingredientes en maceración en la salmuera

Aunque aún no se ha comentado en detalle, la utilización de estos ingredientes naturales y frescos para la preparación del aliño es inmejorable desde el punto de vista organoléptico, pero constituye el punto de partida de los problemas de conservación del producto final que conocemos como "Aceituna de Campo Real", junto con la incompleta eliminación de la sosa residual del interior de los frutos.

En efecto, las especias y condimentos son portadoras de una importante carga microbiana, que se añade a los frutos atacados por la sosa —sin barreras estructurales defensivas—, y con una gran cantidad de azúcares y otros sustratos susceptibles de ser metabolizados por los microorganismos. Recordemos que estos frutos *no se han sometido a ningún proceso previo fermentativo que reduzca su contenido en materia fermentecible*. Además, la sosa que va difundiendo desde las aceitunas cocidas y lavadas hasta la salmuera de aliño coloca el pH de ésta en 6-7 unidades, idóneo para

el desarrollo microbiano. Añadamos a estos factores una temperatura ambiente de 20-25°C y ya tenemos todos los factores para una proliferación microbiana rapidísima; entre otros, para la proliferación de gérmenes responsables del deterioro del producto, bacterias gram-negativas y levaduras, entre otros. A este problema de conservación hemos dedicado el Capítulo 6; y puesto que dicho problema ha sido el eje de la investigación en el IMIA, los experimentos y sus resultados se comentan en el Capítulo 7. Los microorganismos que se añaden con los ingredientes del aliño no representan, en principio, riesgos para la salud, en las condiciones actuales de fabricación y envasado. Entre la flora más usual hay bacterias aerobias, anaerobias gram-negativas, lactobacilos, y una variada representación de levaduras. Los aliños presentan cargas microbianas del orden de 10^5 ufc/g de producto seco para los microorganismos aerobios totales.

Pero volvamos, aquí y ahora, al proceso del aliñado. Cada productor mantiene, en más o menos secreto, su fórmula de aliño, en la que combina según su buen hacer y tradición los ingredientes antes citados. Algunos recolectan las plantas en lugares determinados; otros usan mezclas de especias comerciales. Algunos preparan los ingredientes —todos— en maceración; otros, sólo unos cuantos. Alguno se ayuda de la utilización de esencias. Otro gusta de machacar los dientes de ajo inmediatamente antes de añadirlos al aliño. Aquel añade los condimentos ya en la salmuera de envasado; y éstos los añaden "en seco" a los frutos y, posteriormente, la salmuera de envasado, que al caer va repartiendo las especias más o menos homogéneamente.

Las salmueras de envasado se preparan con un 4-5% de NaCl en peso. Según las valoraciones realizadas en el IMIA, una vez se establece el equilibrio entre la salmuera y los frutos, éstos adquieren parte de la sal, quedando la concentración en la salmuera próxima a un 2,5%. La incorporación del sodio (Na) ayuda a restaurar algo la textura de los frutos, pues este catión estabiliza las paredes celulares por efectos electrostáticos (Jiménez *et al.*, 1997). Algunos productores añaden una mínima dosis de calcio para mantener la textura, especialmente en época de altas temperaturas. Otros incorporan acidulantes (láctico), antioxidantes (ácido ascórbico) o agentes inhibidores de las levaduras (sorbato potásico). Apuntemos aquí que los pHs que se obtienen, en el equilibrio, en las salmueras de envasado rondan las 6-8 unidades. A estos pHs, agentes como el sorbato potásico son completamente ineficaces, porque su equilibrio químico en la disolución está desplazado hacia la forma disociada, inefectiva en el control de las levaduras (Marsilio and Cichelli, 1991).

Problemas de conservación aparte, tras 3 o 4 días de permanencia en la salmuera de aliño, las Aceitunas de Campo Real han incorporado los aromas de todas estas especias y condimentos tan cuidadosamente elegidos. Presentan un ligero regusto a sosa, que, sin embargo, es muy apreciado por el mercado madrileño. Y su líquido de gobierno —la salmuera— es oscura, con tonalidades variables según las especias que haya utilizado cada productor.

Así es como se hace la Aceituna de Campo Real en la Comunidad de Madrid.

EFFECTO DEL COCIDO O ADEREZO SOBRE CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS DEL FRUTO VERDE DE ACEITUNA CACERENA DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE "ACEITUNA DE CAMPO REAL"

Textura (gramos-fuerza)

Fruto fresco: 7000-8000

Fruto aderezado: la textura en función de la concentración de sosa utilizada

1,8%	2,1%	2,5%	2,9%
3447	3355	2347	2386

Destrucción de la textura del fruto

Color (sistema CIE-L*a*b*, valor medio +/- SD)

Parámetros	L*	a*	b*
Fruto fresco	51,8 +/-3,2	-19,2 +/-1,5	37,1 +/-2,4
Fruto aderezado	40,3 +/- 2,9	-8,5 +/-3,6	31,9 +/-4,0

Pérdida de luminosidad, del color verde (emparedimiento) y del tono amarillo

Pigmentos (mg/Kg fruto deshuesado)

	Totales	Carotenoides	Clorofilas y derivados
Fruto fresco	27,7	7,3	19,1
Fruto aderezado	21,3	5,6	15,8

Pérdida de carotenoides y clorofilas

Actividades enzimáticas (Uds. actividad/g fruto deshuesado)

	Polifenoloxidas (PPO)	Peroxidas (POD)
Fruto fresco	5,66	no detectable
Fruto aderezado	0,08 (residual)	0,05 (residual)

Destrucción de actividades enzimáticas

pH, grasa y humedad del fruto (m.f., materia fresca)

	pH	Humedad, % m.f.	Grasa, % m.f.
Fruto fresco	6,9	74,9	12
Fruto aderezado	13,1	79,3	15

El fruto alcanza el pH de la sosa; se produce pérdida de materia seca, lo que se traduce en un efecto de "concentración" de los componentes -entre ellos, la grasa-

Análisis mineral (mg/100 g materia fresca)

	Total(% m.f.)	Na+	K+	Ca++	Mg++	Fe	Cu	Zn
Fruto fresco	0,85	6,7	408,4	20,0	9,2	0,88	0,21	0,38
Fruto aderezado	0,40	101,7	54,0	17,3	3,6	0,34	0,07	0,20

Se incorpora Na+ de la salmuera de conservación y se pierden microelementos del fruto; el que desciende más acusadamente es el K+ (87%), seguido del Mg++ (61%)

Fibra (Composición de la pared celular, % m.f.)

	Celulosa	Hemicelulosas	Lignina	Sust. pécticas	Polisacáridos
Fruto fresco	1,22	0,48	2,05	0,193	1,89
Fruto aderezado	1,15	0,67	0,62	0,057	1,88

Mejora la digestibilidad y se pierde cohesión en los tejidos (descenso en lignina y sustancias pécticas)

Fibra alimentaria (Residuo Insoluble en Alcohol (RIA), % m.f.)

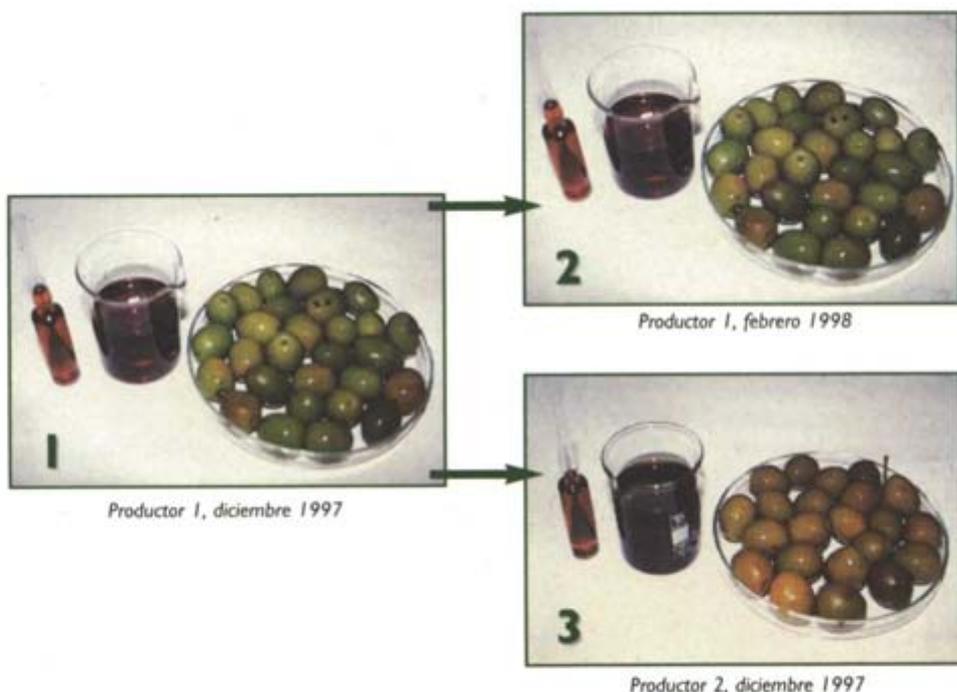
Fruto fresco	8,5
Fruto aderezado	4,0

4 El final: La Aceituna de Campo Real

Tras todo el proceso descrito en el capítulo anterior, nos encontramos con el producto que conocemos como "Aceituna de Campo Real": frutos verdes, de color cambiante a medida que avanzan las fechas de campaña, con una textura elevada, en una salmuera de color intenso, fuertemente aromáticos y adornados con trocitos de tomillo, de orégano, con tallos de hinojo, con alguna pizca de ajo, oliendo a comino y mejorana.

Indudablemente, cada día la sociedad es más exigente en la calidad de los productos agroalimentarios. Los productores de Aceituna de Campo Real son conscientes de ello, y apuestan sin duda por mejorar la calidad del producto que ofertan, pero sin renunciar a las particularidades de elaboración que a cada uno distinguen.

Esta artesanía y estas particularidades traen, como consecuencia, una amplia variedad —también entendible como riqueza y diversidad— en lo que llamamos "Aceituna de Campo Real": ningún productor compra aceituna ni elabora de forma exactamente igual a otro, y todos están orgullosos de ello. Las preparaciones de Aceituna de Campo Real son intrínsecamente heterogéneas: por la heterogeneidad de la materia prima y por la heterogeneidad en su elaboración. Así, tenemos preparaciones de un mismo productor en dos momentos de campaña, y de dos productores en el mismo momento de campaña, tan diferentes como las que ilustran las fotografías:



Buscando factores comunes, de los numerosos análisis de producto final de Aceituna de Campo Real que se han realizado en el IMIA durante estos años, hemos obtenido unos valores medios que se reflejan en la siguiente tabla y que se comentan a continuación. Comprenden muestras suministradas por 7 productores diferentes a lo largo de varios años y en diferentes momentos de campaña.

ACEITUNA DE CAMPO REAL		
DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN PRODUCTO FINAL (2-3 DÍAS DE ALIÑADO)		
VALOR MEDIO +/- S.D.		
FRUTOS		
Textura	4906 g +/- 1105	
Color superficial	L* = a* = b* =	
SALMUERA DE ALIÑO O ENVASADO		
Acidez libre:	0.018 mg láctico /100 mL salmuera +/- 0.019	
Acidez combinada:	0.051 eq NaOH / 100 mL salmuera +/- 0.029	
Azúcares reductores:	96.3 mg /100 mL salmuera +/- 45.6	
Polifenoles:	52.6 mg /100 mL salmuera +/- 23.8	
NaCl, equilibrio:	2.36 % +/- 0.57	
pH:	10.58 +/- 0.70	
Análisis microbiológico (log N° viables/ mL)	Aerobios totales:	4.17 +/- 0.88
	Hongos y levaduras:	3.66 +/- 0.65
	Levaduras:	3.52 +/- 0.52
	Lactobacilos:	3.08 +/- 0.93
	Enterobacterias:	2.30 +/- 1.14

Tabla 4.1: Caracterización analítica de "Aceituna de Campo Real"

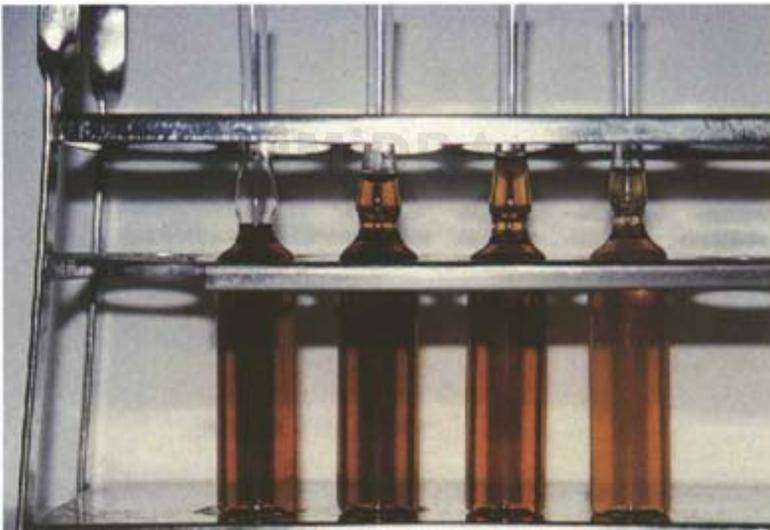
Estas determinaciones reflejan, aparte de la variabilidad deducible por los valores de las desviaciones estándar, una serie de parámetros o aspectos comunes que, curiosamente, son de gran importancia en el mayor problema que tiene planteado este tipo de elaboración, y al que dedicamos el Capítulo 6: la conservación del producto final. En efecto:

- Aparece un valor inicial de pH excesivamente alto. Con la actividad metabólica de ciertos microorganismos, el pH de la salmuera se va reduciendo hasta valores próximos a 5,5-6 unidades, en los que se suele estabilizar. Con estos valores de pH,

la actividad microbiana es extremadamente alta: son valores idóneos para el desarrollo de numerosos microorganismos; entre ellos, los causantes del deterioro de las aceitunas.

- La correspondiente acidez libre es, lógicamente, baja.
- La acidez combinada responde al concepto de la sosa residual que queda en el interior de las aceitunas por lavados incompletos, y que va difundiendo a la salmuera de aliñado para originar ese elevado valor de pH.
- Polifenoles: algunos compuestos fenólicos provienen de los frutos de aceituna, aunque muchos se han retirado con las aguas de lavado, al igual que un elevado porcentaje de azúcares reductores. Los polifenoles que quedan en el fruto van difundiendo progresivamente hacia la salmuera, junto con el elevado contenido en compuestos fenólicos de los ingredientes naturales del aliño.

En relación al contenido en polifenoles, es interesante explicar que el "color" pardo o marrón de estos compuestos aparece en medios alcalinos (de elevado pH); es decir, medios tales como las salmueras de aliño o envasado de las Aceitunas de Campo Real.



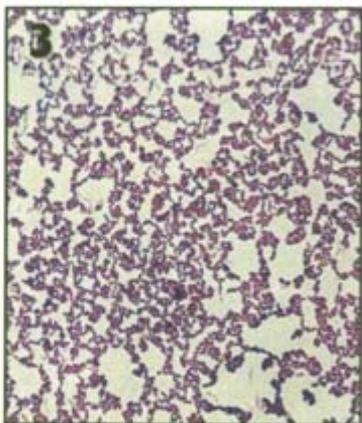
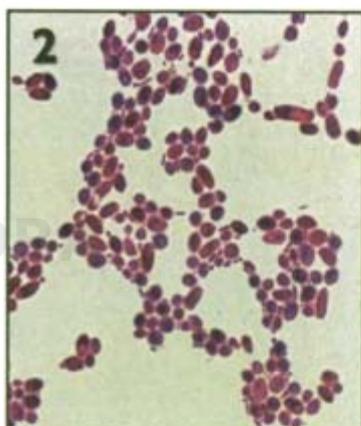
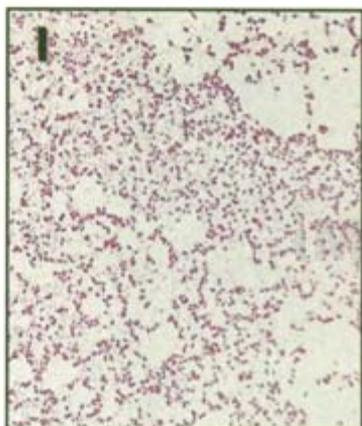
Colores de salmuera de envasado de cuatro productores de Aceituna de Campo Real en el mismo momento de campaña

Los consumidores están —estamos— acostumbrados a este líquido oscuro en el que destacan las aceitunas verdes. Muchos productores afirman que, si la salmuera —el "caldo", en términos aceituneros— no es oscura, sus clientes no gustan del producto. Sin embargo, una misma salmuera, con idéntico contenido en polifenoles, aparecerá clara —amarillenta— u oscura —parda, marrón, color caramelo— dependiendo de (1) los ingredientes de aliño utilizados y, sobre todo, (2) de su valor de pH.

- El contenido en azúcares reductores de la salmuera proviene, también, de los que difunden desde el fruto, a través de las laceraciones u orificios que el tratamiento

alcalino ha provocado en la superficie de los frutos (ver el capítulo siguiente). Con este contenido en azúcares, materia metabolizable por los microorganismos, la salmuera de aliño se convierte en un auténtico "caldo de cultivo". En éste crecen todos los microorganismos que detecta el:

- Análisis microbiológico, que ya de entrada nos proporciona recuentos elevados de las diferentes poblaciones microbianas. Tengamos en cuenta que estas preparaciones sólo tenían 2 o 3 días "de edad" (desde el aliñado). Especialmente importante es la presencia de levaduras, que pueden tener carácter fermentativo y causar deterioros, y, sobre todo, de enterobacterias (bacilos gram-negativos), principales responsables de la alteración que conocemos como "alambrado" (ver Capítulo 6), que destruye completamente los frutos de Aceituna de Campo Real.



Microorganismos aislados de preparaciones de Aceituna de Campo Real:
1) Enterobacterias; 2) Levaduras; 3) Lactobacilos; 4) Hongos

Todos estos factores son la causa del fácil deterioro de las preparaciones de Aceituna de Campo Real, problema al que hemos dedicado un capítulo en esta monografía. Al margen de este problema, la Aceituna de Campo Real goza de un gran renombre entre los consumidores en nuestra Comunidad. Su presentación típica, tradicional, es en graneles de 10 kg y en envases de 5, 1 y 1/2 kg (los menos). Para los envasados de 10 kg se utilizan tambores cilíndricos de plástico. Los envases frecuentes de 5 kg hacen uso de bidones de plástico opaco (foto superior); se venden como graneles. Las restantes presentaciones utilizan tarrinas termoselladas (muy pocos productores), envases de PET con tapa metálica, o pequeños bidones de plástico transparente (foto inferior), que permiten apreciar el contenido interior. Actualmente se van imponiendo, como envase tipo, los tambores cilíndricos de plástico translúcido, con tapa plástica, en contenidos 10, 5, 1 y 1/2 kilo. La producción de Aceituna de Campo Real se vende en un 90% al comercio detallista y en el 10% restante directamente al consumidor.



5 Un viaje en Imágenes: La Aceituna y el Microscopio

En este capítulo se presenta un resumen fotográfico de todo el proceso que convierte a los frutos de aceituna Cacereña en Aceituna de Campo Real. Para realizarlo se ha hecho uso de la macro y la microfotografía. La observación estructural y ultraestructural de los alimentos se convierte, día a día, en una valiosa técnica que ayuda a comprender muchas de sus propiedades físico-químicas y a valorar la severidad o idoneidad de un proceso industrial (Reeve, 1976; Floros *et al.*, 1987).

Existen algunos —escasos— estudios sobre la estructura del fruto de aceituna y sobre sus modificaciones durante el procesamiento (Durán Grande e Izquierdo Tamayo, 1964; Marsilio and Lanza, 1995; Marsilio *et al.*, 1996). Estos últimos autores señalan las diferencias existentes entre distintas variedades de aceituna. En el IMIA, por consiguiente, se estudiaron en detalle las características de la variedad Cacereña, como materia prima fundamental de la elaboración de Campo Real. Así, se estudió el proceso de maduración, observando frutos verdes, de color cambiante y maduros. Posteriormente, se evaluó el efecto del tratamiento alcalino en distintas concentraciones, así como la estructura final de un fruto de aceituna aliñada.

En este capítulo haremos también uso de la fotografía convencional, como instrumento para localizar y entender cual es, en cada caso, el pequeño fragmento de aceituna objeto de estudio. Los factores de escala hacen, a veces, perder la noción de lo que se está observando.

Los estudios estructurales hicieron uso, en primer lugar, de la *microscopía óptica y de las tinciones diferenciales de localización histoquímica* (Jensen, 1962). Estas tinciones localizan, en el seno del propio tejido, componentes de naturaleza química determinada: por ejemplo, las ceras o los carbohidratos. La finura de los cortes ($< 1 \mu\text{m}$ de espesor) permite la observación de una única capa celular.

En segundo lugar, se recurrió a la *criomicroscopía óptica de barrido a bajas temperaturas* (CRIO-SEM). Las espectaculares imágenes que resultan de esta técnica nos acercan, si cabe de forma más intuitiva, a la estructura superficial de un fruto de aceituna. Sin duda la observación por CRIO-SEM es la mejor técnica para las muestras biológicas hidratadas; el procesamiento en frío de un fragmento de aceituna, con una congelación ultrarrápida en condiciones de vacío, garantiza una observación virtualmente libre de artefactos: otras condiciones de procesamiento pueden ocasionar, por su propia naturaleza, determinadas alteraciones estructurales (pérdida de elementos solubles, rotura de membranas, aumento de espacios inter- o intracelulares, otros).

Una vez *criofijada* la muestra de aceituna, deshidratada a -90°C y mantenida a esta temperatura para su observación en el interior del microscopio de barrido, es fácil entenderla como un pequeño bloque sólido. Este bloque se puede romper mediante un impacto controlado y dirigido, mostrando una superficie de criofractura que, examinada en el microscopio de barrido, nos permite observar, en tres dimensiones, el interior celular: el grado de concentración del citoplasma, la integridad de la pared o la presencia de gotas de aceite.

Por último, las actuales técnicas de Análisis de Imagen permiten cuantificar con precisión lo que antes sólo podía referirse como descripción verbal de una imagen: así, es posible determinar el espesor medio de la capa de ceras que rodea el fruto, o la superficie cerosa que destruye un determinado tratamiento con lejía alcalina. El Análisis de Imagen ayuda a eliminar las predisposiciones y subjetividades sobre el efecto de un tratamiento.

Todas las técnicas de microscopía citadas se detallan en el Anexo I. Las inclusiones de muestras de aceituna y la observación por CRIO-SEM se han realizado en colaboración con el Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal del Centro de Ciencias Medioambientales (C.S.I.C., Madrid) y el Servicio de Microscopía Electrónica del mismo Centro. Las microfotografías ópticas se obtuvieron en un fotomicroscopio Zeiss Axiophot del mencionado Departamento, o bien mediante adquisición digital en un microscopio Leica DM R en el Departamento de Agroalimentación del IMIA, donde también se llevaron a cabo los estudios de Análisis de Imagen.

Como introducción a la microscopía hemos incluido, inicialmente, un esquema de la estructura del fruto de Aceituna Cacereña. Posteriormente se muestran las imágenes de los tres procesos que se estudiaron estructuralmente en estos frutos. Para cada uno de ellos se han dedicado una o dos páginas, en las que se ordenan las imágenes de menores a mayores aumentos. En cada caso se indica la técnica microscópica utilizada y la escala de la fotografía. Introducimos brevemente estos procesos, con un comentario sobre su porqué y el objetivo perseguido:

– **5.1. La maduración de la aceituna Cacereña:** El estudio microscópico de los frutos verdes, de color cambiante y morados persigue la identificación de los componentes estructurales más afectados durante la maduración.

La utilidad radica en la posible preservación de dichos componentes, para que el proceso de aderezo no destruya estructuralmente el fruto de aceituna de manera irreversible. Recordamos que en el Capítulo 2 se documentan las características fisicoquímicas y bioquímicas de la aceituna Cacereña a lo largo de su maduración. Con ellas se hallan íntimamente relacionados, y a ellas se refieren, los aspectos estructurales que se describen en las páginas siguientes.

– **5.2. Efecto de los cationes Na^+ y Ca^{++} en la conservación del fruto:** Los cationes Na^+ y Ca^{++} tienen diferentes efectos sobre la estructura de los tejidos vegetales. El Ca^{++} es un catión marcadamente estabilizante por su efecto sobre los componentes de las paredes celulares y de los espacios intercelulares.

La conservación de las aceitunas en presencia de Na^+ o Ca^{++} puede tener consecuencias decisivas sobre la facilidad y el efecto del procesamiento posterior del fruto.



A medida que avanza la campaña de aceituna, los frutos que llegan a las aderezadoras de Campo Real están cada vez más maduros

En el Capítulo 7 se pueden encontrar datos químicos de la acción de estos cationes y la discusión de los efectos observados por otros autores.

- **5.3. El efecto del cocido o aderezo:** la concentración de la sosa.



Sin duda el aderezo (o tratamiento con soluciones diluidas de NaOH) es un punto crucial en el proceso de la Aceituna de Campo Real, que influirá de manera decisiva en sus características de conservación.

El tratamiento alcalino provoca la destrucción estructural, más o menos acusada y parcialmente reversible, del fruto de aceituna.

La disolución de la capa de ceras y las laceraciones en los tejidos más rígidos (la epidermis y el colénquima) deben permitir la salida de las moléculas de azúcares del interior del fruto, a fin de que éste sea algo menos "apetitoso" para los microorganismos causantes del deterioro

El fruto de aceituna Cacereña: cómo lo vemos...

Los frutos de aceituna Cacereña llegan a las industrias elaboradoras de Aceituna de Campo Real con pedúnculos, hojas y alguna ramita. Posteriormente se seleccionarán y limpiarán, aunque la presencia de alguno de estos órganos vegetales en el producto final aliñado se aprecia y valora como indicativo de la tradición y mano de obra artesana de la Aceituna de Campo Real. Los frutos bien recolectados y bien transportados son así de bonitos, sanos y homogéneos en calibre. Entre ellos distinguimos los frutos verdes, los de color cambiante y los ya maduros.

Los frutos seleccionados y limpios nos muestran las características de la variedad Cacereña: algunos se parecen más a una manzana (*), otros muestran claramente la distintiva prominencia del ápice del fruto (flecha).

Unos son completamente verdes; otros comienzan a cambiar de color (**).

La piel muestra unas evidentes manchitas blancas (puntas de flecha).

Estos frutos no han sido golpeados ni dañados en el transporte: no se observan zonas de pardeamiento enzimático debidas a daños mecánicos.



... y cómo lo vamos a ver

Si cortamos uno de esos frutos de aceituna Cacereña observaremos, desde fuera hacia dentro, la piel, la pulpa y el hueso. Cada una de estas zonas está constituida, a su vez, por capas celulares de características específicas y con una denominación propia. Vamos a olvidar, de momento, la zona más interior de la aceituna, y hagamos un esquema de la zona externa, con el que nos familiarizaremos con la terminología propia de la Fisiología Vegetal:

La **CUTÍCULA EXTERNA** es la capa cerosa que recubre al fruto, le confiere su brillo característico y le protege de golpes e infecciones. Es externa a la piel.

La **EPIDERMIS** correspondería a la piel propiamente dicha. Las células que la forman son planas, y están dispuestas en dos capas. La más externa presenta algunas células irregulares, con prominencias. Las células dejan entre sí unos espacios que se denominan **ESPACIOS INTERCELULARES**. Estos pueden estar libres o rellenos de un material intercelular.

La **HIPODERMIS** está constituida por las capas celulares (2 o 3) situadas inmediatamente bajo la piel o epidermis.

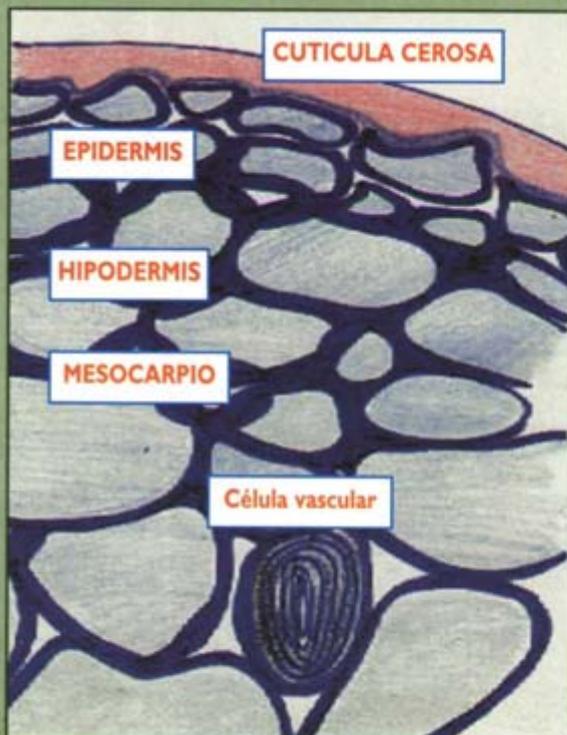
Es una zona de transición. Sus células responden a las de un tejido vegetal característico, denominado *colénquima*.

Son células grandes, con sus paredes celulares más engrosadas: ello confiere rigidez al tejido, ayuda a su textura, presenta una función estructural y de soporte mecánico. Forma parte de la pulpa de la aceituna.

El **MESOCARPIO** constituye la mayor parte de la pulpa. Se extiende hasta el hueso, que es un tejido fuertemente lignificado.

El mesocarpio está formado por un elevado número de capas celulares, cuya organización concéntrica al hueso se pierde a medida que nos acercamos al mismo.

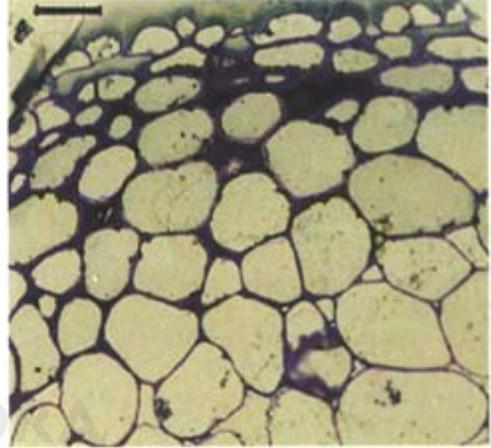
Está constituido por células más grandes, turgentes, que presentan un gran compartimento central llamado *vacuola*. Sus paredes celulares son finas y los espacios intercelulares están libres. En resumen, presenta menor resistencia mecánica. Diseminadas por este tejido aparecen *células vasculares*, cuya misión es el transporte de sustancias al fruto.



5.1. La Maduración de la Aceituna Cacereña:

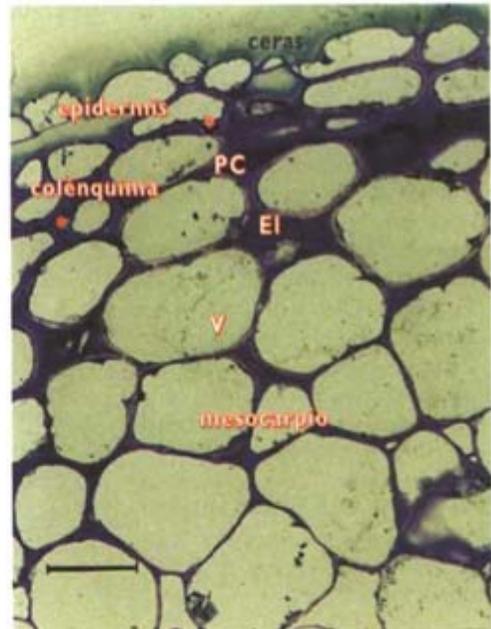
El fruto verde (I)

Como ya se ha avanzado en el Capítulo 2, los frutos de olivas Cacereñas intensamente verdes (entre los que se encuentran algunos con la piel algo deteriorada, flechada), presentan los valores más altos de textura, lo que tiene que ser un reflejo de su organización estructural. La observación al microscopio óptico (barra = 50 μm), nos ofrece la misma disposición que en el esquema anterior.



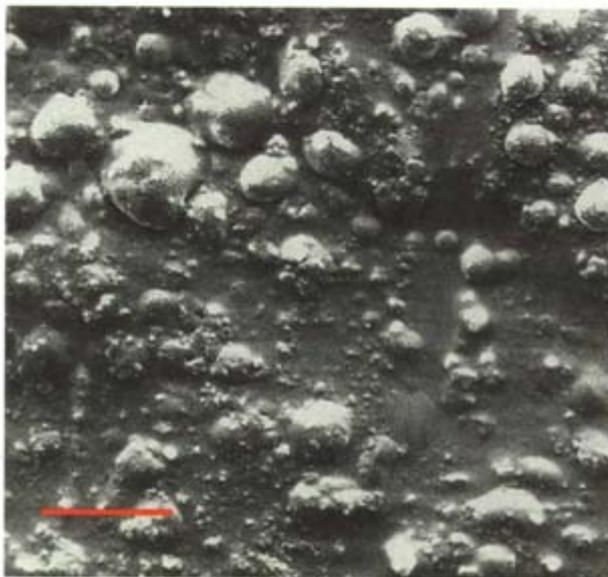
Observando la imagen con más aumentos (barra = 40 μm) se pueden distinguir, desde el exterior hacia el interior:

- La capa de ceras epicuticulares.
- Las dos capas de células epidérmicas, planas y de paredes finas.
- Hasta 4 capas de células de colénquima, con su función de conferir resistencia mecánica. Las paredes celulares (PC) están más engrosadas, y los espacios intercelulares (EI) rellenos por un material que toma intensamente la tinción. El material cementante entre las paredes (sustancias pécticas) se ha puesto de manifiesto también gracias a la tinción (*).
- El mesocarpio presenta células grandes, turgentes, y de formas más regulares. Los espacios intercelulares están libres. Una gran parte de la célula está ocupada por la vacuola (V), por eso parecen células "vacías". El citoplasma es una fina zona periférica



El fruto verde (II)

La técnica de criomicroscopía de barrido es idónea para la observación en superficie de las muestras biológicas. El pequeño fragmento de aceituna (aprox. 4 mm² x 2 mm) que se introdujo al microscopio tenía piel y pulpa. La importancia del estudio en detalle de la piel del fruto quedará de manifiesto con el estudio del proceso de aderezo en NaOH. Pero ahora podemos observar cómo es la piel de un fruto de aceituna verde y en distintos grados de integridad:



Naturalmente, no podemos llegar a observar la epidermis con esta observación superficial.

La capa de ceras, externa a la misma, parece recubrir y envolver toda la aceituna.

El aspecto suave, sin discontinuidades, que presenta la superficie, nos explica la suavidad y el brillo del fruto.

Los glomérulos, algo cuarteados, son bloques de ceras.

Ya los habíamos visto: son las manchas blancas de la piel de la aceituna.

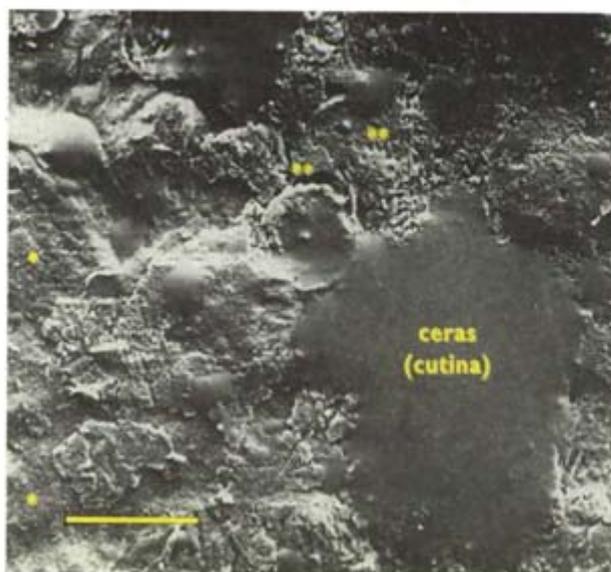
En este caso, la barra son 20 μ m

Como nunca hay que conformarse con una sola observación, hemos elegido este otro fragmento de otro fruto.

Esta aceituna estaba en peores condiciones: la capa cerosa, en algunos lugares íntegra (*), en otros comienza a disgregarse (**).

Hay grandes superficies lisas, probablemente de productos cerosos vegetales como la cutina, que protegen e impermeabilizan los tejidos.

La barra son 40 μ m



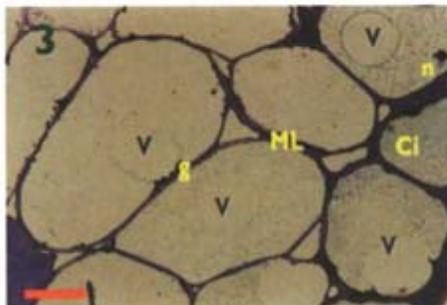
El fruto verde (III)**Algunos detalles.**

La microscopía óptica de campo claro (en la que el corte de la muestra se ilumina desde abajo, haciendo pasar la luz a través del mismo) se ayuda de las técnicas de Histoquímica Vegetal para localizar o determinar la naturaleza química de un componente.

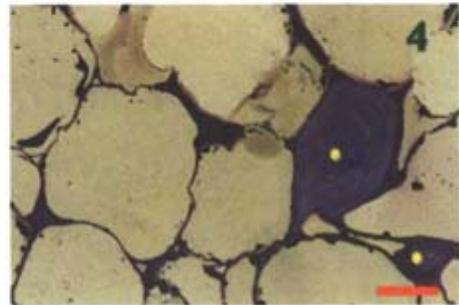
1. La tinción diferencial con colorantes tipo Sudan localiza componentes lipídicos: en este caso, la cutina que impregna la piel de la aceituna. Ningún otro componente celular se ha teñido. Barra = 25 μm



2. La tinción diferencial con la reacción de Schiff es el método más usado y general para localizar componentes carbohidratados. Ha teñido las paredes celulares y el material de los espacios intercelulares. Barra = 25 μm



3. Las células de la hipodermis de este fruto nos permiten observar los distintos grados de concentración del citoplasma (C) celular, y la situación de la vacuola (V). También se ven núcleos (N), gotas de aceite (g), y la media lamela (ML) de unión entre células, factor clave en el mantenimiento de la textura del fruto. Barra = 25 μm



4. Esta micrografía nos muestra cómo son las células vasculares (*), que sirven para el transporte de sustancias al fruto. Muchas veces presentan anillos rígidos que forman a modo de un tubo de transporte. La profundidad de campo del microscopio sólo permite enfocar unos cuantos anillos. Barra = 25 μm

El fruto verde (y IV)

Mirando el interior

La espectacular técnica de la *criofractura* nos permite ver, hasta una determinada profundidad, la superficie de rotura que ofrece la muestra biológica cuando ha sido sometida a un impacto controlado en estado congelado. Vamos a ver, en tres dimensiones, lo que la microscopía óptica o la microscopía electrónica de transmisión nos ofrecen en plano.

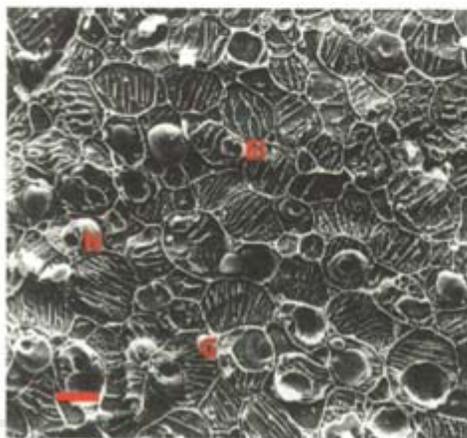
El mesocarpio del fruto de aceituna: las células, bastante regulares, en las que el citoplasma (Ci) se ha coagulado por la congelación bajo vacío y la deshidratación posterior.

Los espacios intercelulares (Ei) también muestran el contenido coagulado.

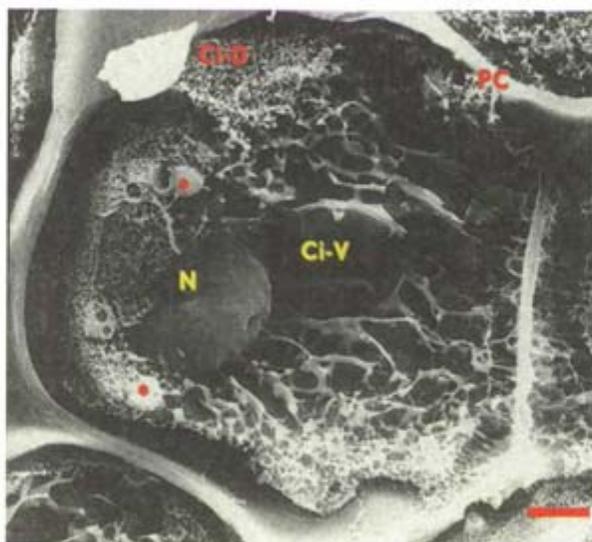
Se ven estructuras globosas, que pueden corresponder a

núcleos (N) o gotas de aceite (G).

Barra = 50 μ m



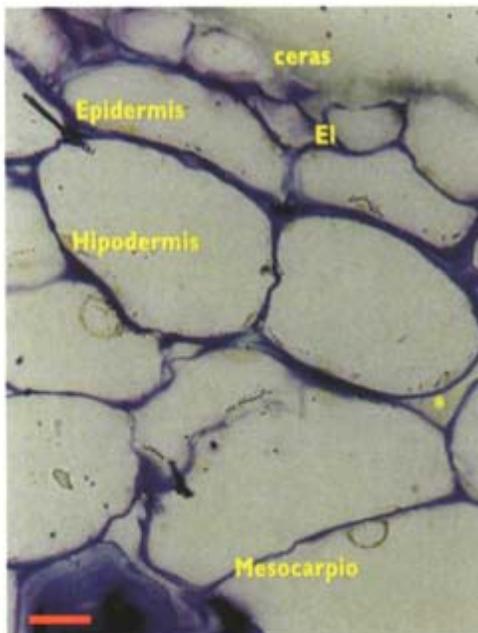
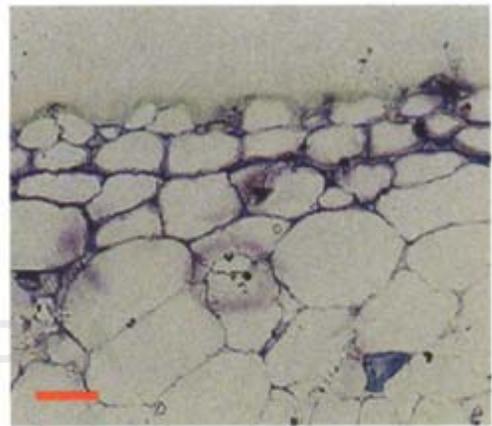
La aproximación a una célula nos muestra en detalle el interior celular: la estructura de las paredes celulares (PC) se mantiene con total integridad, y la imagen da idea de su rigidez. La zona de citoplasma coagulado más densa (Ci-D) corresponde, con probabilidad, a la efectivamente ocupada por el citoplasma, donde se encontraba el núcleo (N). La zona menos densa (Ci-V) es atribuible a la coagulación del contenido de la vacuola, cuya membrana se ha roto. Las estructuras globosas (*) pueden ser orgánulos celulares o granos de aceite. El entramado celular puede tener su origen en el retículo endoplásmico celular, una vía de comunicación entre distintas zonas celulares



5.1. La Maduración de la Aceituna Cacereña

El fruto morado (I)

El segundo estado del proceso de maduración de la oliva, cuando el fruto es de color cambiante es, en todos los aspectos, una etapa intermedia entre el fruto verde y el morado. También es así en lo tocante a los aspectos estructurales. Por ello, y para acentuar las diferencias que el proceso de maduración produce en los frutos, nos centramos ahora en las imágenes del fruto maduro, de color morado, o rojo vino, como los que vemos aquí. Su organización estructural general se observa en la foto contigua (barra = 50 μm), y aunque en general responde al esquema del fruto de aceituna, aparecen diferencias con respecto al fruto verde.



El examen en más detalle (barra = 25 μm) nos permite apreciar cómo el espesor de la capa cerosa externa se ha reducido considerablemente.

La incorporación de la tinción de contraste es mucho peor que en el caso del fruto verde.

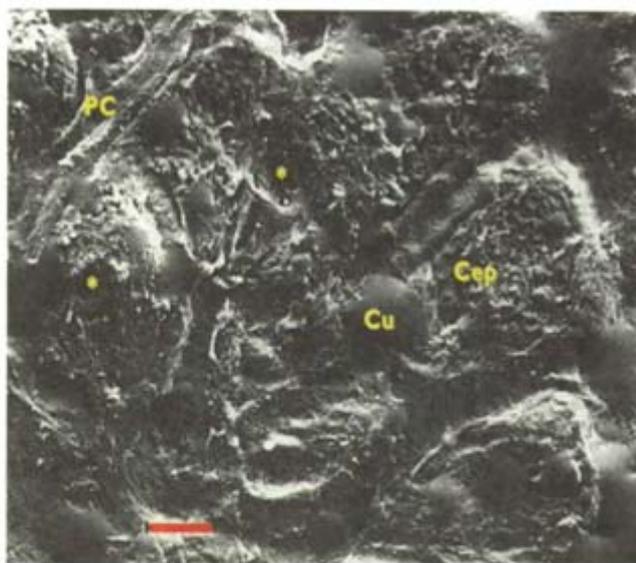
Ello suele deberse a degradación o pérdida de componentes celulares.

Las células de la epidermis (piel) se encuentran íntegras, con su forma plana característica, y bien cementadas, con los espacios intercelulares (EI) ocupados.

Sin embargo, las células de la hipodermis, el tejido de soporte, están alteradas: su forma es más irregular, están menos turgentes; sus paredes celulares aparecen menos engrosadas; y comienzan a aparecer espacios intercelulares libres (*). Ocurre lo mismo en el mesocarpio: la resistencia mecánica de este fruto está disminuida, en comparación con uno verde.

El fruto morado (y II)

La criomicroscopía de barrido nos muestra la superficie del fruto maduro, de color morado, y sus diferencias con el fruto verde. Se corroboran las observaciones de la microscopía óptica que, en lo tocante a la superficie, se pueden describir simultáneamente en las dos imágenes:



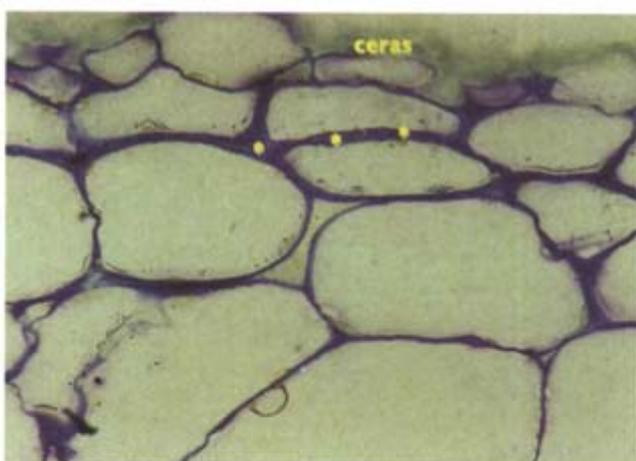
El adelgazamiento de la capa cerosa, que visualmente se aprecia como una pérdida de brillo, bajo el microscopio de barrido (barra = 20 μm) es tan evidente que permite entrever la forma de las células de la epidermis (Cep). Sobre ellas se disponen aún algunos restos de cutina (Cu).

En general, la capa cerosa está alterada, y hasta muestra orificios (*). También se observa alguna pared celular (PC). Todos estos detalles superficiales se ven también en la micrografía óptica (barra = 25 μm).

La alteración de la superficie cerosa, de su integridad y su continuidad, se traducirá en cambios en las características de absorción y reflexión de la luz incidente sobre el fruto; este hecho lo interpreta un colorímetro como un significativo descenso en la luminosidad de los frutos con la maduración (ver Capítulo 2, parámetro L^* de la colorimetría CIE- $L^*a^*b^*$).

El microscopio óptico nos permite ver cómo algunas células epidérmicas e hipodérmicas se comienzan a separar (*).

En resumen, la maduración del fruto se acompaña del conocido descenso en textura y de una modificación de las características del color superficial, ambas explicables con la observación estructural



5.2. La Conservación del Fruto

El efecto del calcio y del sodio

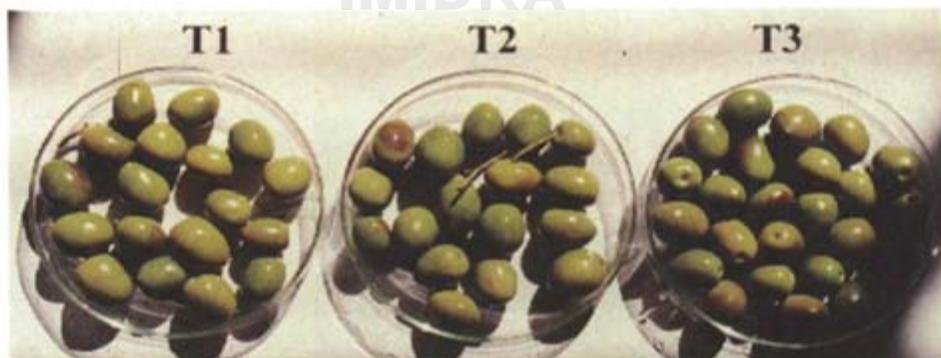
Durante la campaña de recolección de la aceituna, los frutos llegan desde las zonas de origen hasta las industrias productoras de Aceituna de Campo Real de nuestra Comunidad. Naturalmente, no todos los frutos son inmediatamente procesados. La mayor parte se almacenan en depósitos de capacidad variable, en una salmuera con, aproximadamente, un 4-5% de sal (NaCl).

Durante la conservación, los frutos incorporan parte de la sal añadida. El catión Na^+ provoca un cierto efecto endurecedor, que algunos autores atribuyen a una estabilización electrostática de materiales de la pared celular (Jiménez *et al.*, 1997). El calcio tendría el mismo efecto y, además, estabilizaría ciertos materiales celulares (especialmente las sustancias pécticas) mediante complejos de coordinación. El efecto endurecedor del calcio es muy conocido (Lin Tang and McFeeters, 1983; Buescher and Hudson, 1984). Las técnicas de microscopía permiten visualizar el diferente efecto de ambos cationes. El experimento que se diseñó en el IMIA (ver Capítulo 7) hizo uso de tres salmueras de conservación del fruto fresco:

T1, con un 5% de CaCl_2 ;

T2, con un 5% de NaCl y

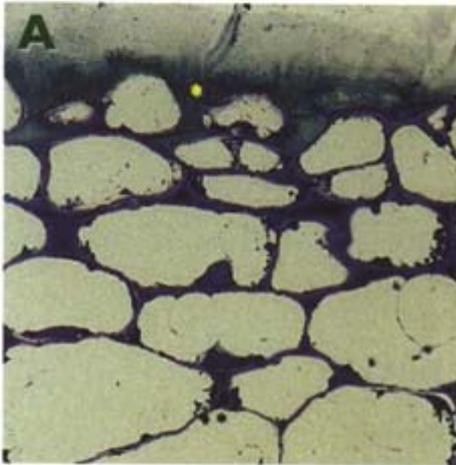
T3, con 2% de CaCl_2 y 3% de NaCl.



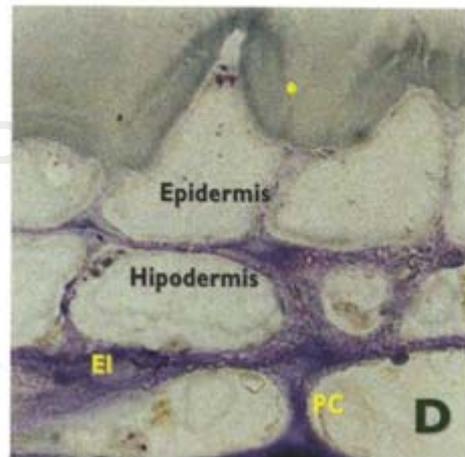
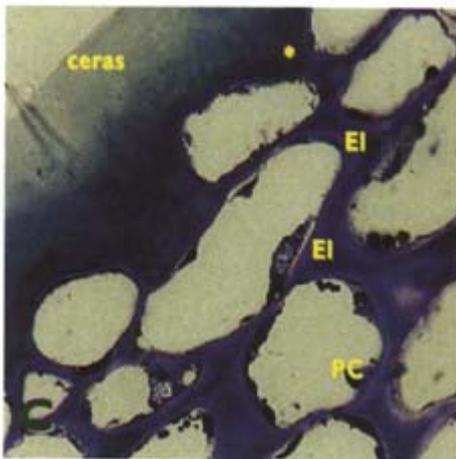
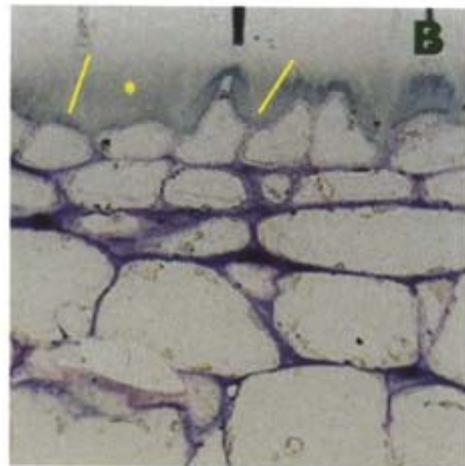
Los frutos conservados en las tres salmueras no presentan diferencias "de visu"

Tras cinco meses de conservación del fruto no había diferencias apreciables entre los tres tratamientos en lo tocante al aspecto y color de los frutos. Sin embargo, las diferencias eran muy marcadas en lo tocante a la textura: las salmueras con calcio aumentaron la textura inicial del fruto y la mantuvieron en 8500-9000 g, mientras que en la salmuera que únicamente contenía sodio se obtuvo una textura de 4000 g. Las condiciones de dureza en las que el fruto llega al tratamiento alcalino con NaOH son determinantes para establecer la concentración y duración de éste

CON CALCIO



CON SODIO

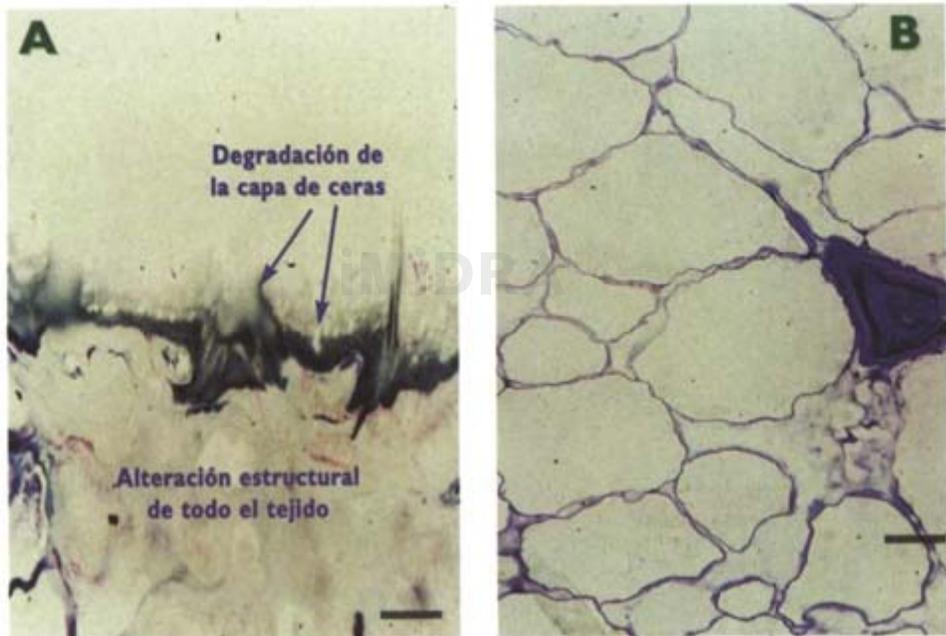


La diferencia entre los dos tratamientos comienza por apreciarse en la incorporación de la tinción de contraste, que es mucho más ligera en el caso del fruto conservado con sodio (B) que en el del calcio (A). La capa de sustancias pécticas (*) dispuestas sobre la epidermis se encuentra más íntegra y continua en el caso del calcio. En (B) se puede ver (líneas) que en ciertas zonas se ha perdido. El espesor de la capa cerosa es, sin duda, mucho mayor en presencia del catión calcio (A,C). Las células de la hipodermis y el mesocarpio no presentan diferencias de tamaño entre ambos tratamientos, aunque el mesocarpio de los frutos conservados en calcio las presente más turgentes. La diferencia más importante, sin embargo, se encuentra en las paredes celulares (PC) y en los espacios intercelulares (EI). En el tratamiento en presencia de calcio (C), todos los espacios están ocupados por un material cementante. Muy probablemente, un componente de este material sea las sustancias pécticas estabilizadas por el calcio. Sin embargo, los frutos conservados únicamente con sodio presentan grandes espacios intercelulares libres (B). Incluso el tejido de soporte (hipodermis o colénquima) no presenta todos los espacios ocupados. Estamos ante la visualización de la pérdida de consistencia del fruto durante la conservación. La presencia de una determinada dosis de calcio ayudará a mantener la textura del fruto. El lector puede encontrar la discusión sobre la cantidad ideal de calcio a añadir en el Capítulo 7. Barras = 25 μ m

5.3. El cocido o aderezo

El efecto del tratamiento con NaOH

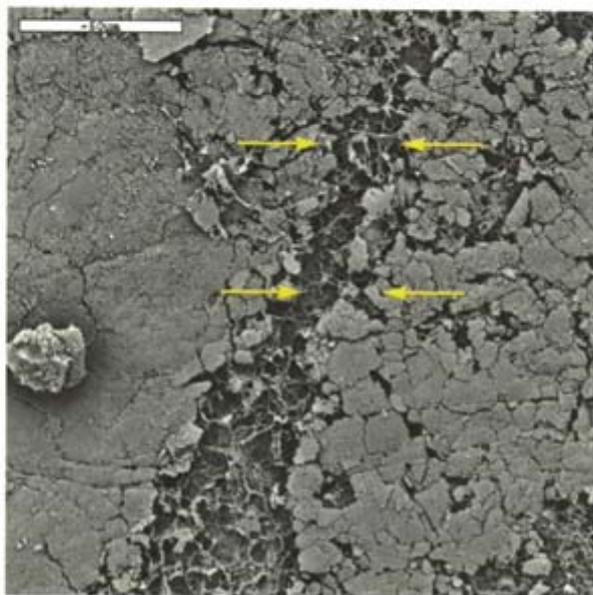
El primer paso del proceso que transformará el fruto de Cacereña en Aceituna de Campo Real es una inmersión en una solución diluida de sosa (NaOH). A este tratamiento se le conoce como cocido, aderezo o tratamiento alcalino. Como ya hemos comentado, su función es hidrolizar el compuesto responsable del intenso amargor de las aceitunas. Posteriormente, los lavados eliminarán —al menos, parcialmente— los compuestos hidrolizados y la sosa residual en el interior de los frutos. Las soluciones de sosa se preparan, aproximadamente, al 2%, con variaciones estimadas por los productores según la forma de realizar el cocido y la época del año. Es fácil hacerse idea de lo drástico de este tratamiento para los tejidos vegetales. La microscopía óptica nos muestra las principales alteraciones:



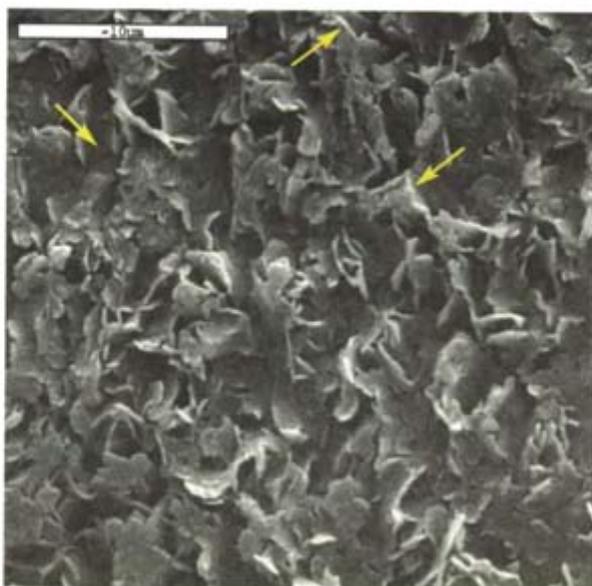
La primera micrografía (A) nos muestra la alteración de la capa cerosa que recubre al fruto. Ya no existe una capa continua, y se han abierto orificios y canales que alcanzan las células epidérmicas. La destrucción de las ceras determina la pérdida de brillo de los frutos cocidos. Es evidente que la sosa ha penetrado hasta el interior del fruto: la organización de los tejidos ya no se puede distinguir. La ultraestructura celular está degradada. Este proceso pone en contacto compartimentos celulares que, normalmente, estarían separados, desencadenándose la lisis y muerte celular. En la segunda micrografía (B) vemos otra zona del fruto, más interior. Las paredes celulares no han llegado a romperse, pero están adelgazadas y sinuosas. Las células están faltas de turgencia y ha desaparecido el material (sustancias pécticas) que las mantenía unidas: el tejido no tiene consistencia. Por ello, un fruto cocido en sosa experimenta una fortísima pérdida de textura. Barras= 50 μ m

Una mirada detallada a la superficie

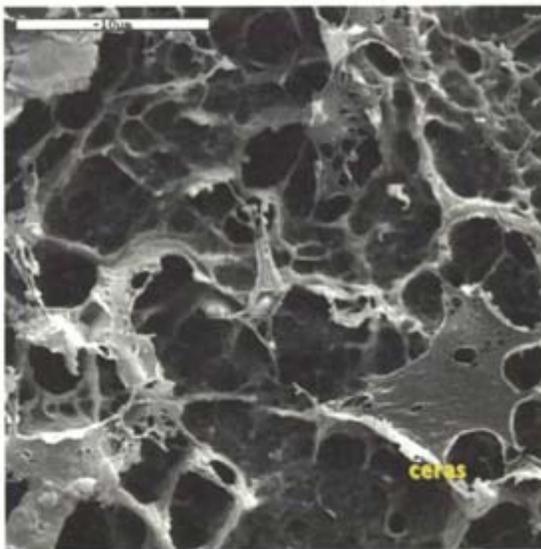
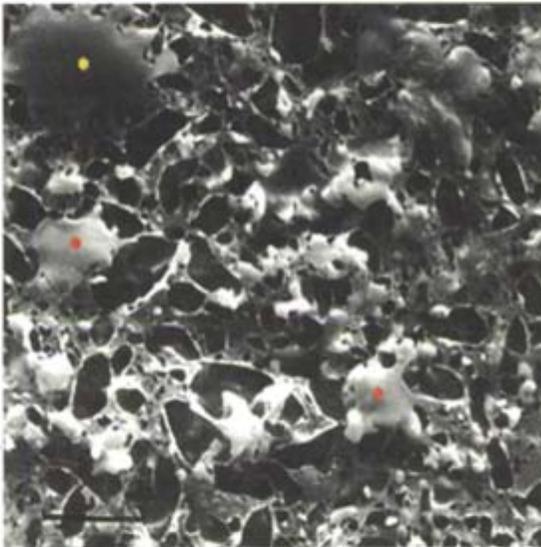
La mejor técnica para la observación de la superficie del fruto aderezado es la criomicroscopía de barrido. Si, como vimos, la superficie de un fruto verde es una capa cerosa continua, el aderezo en sosa abre inicialmente grandes canales en la misma:



Inicio su desprendimiento en forma de "escamas".

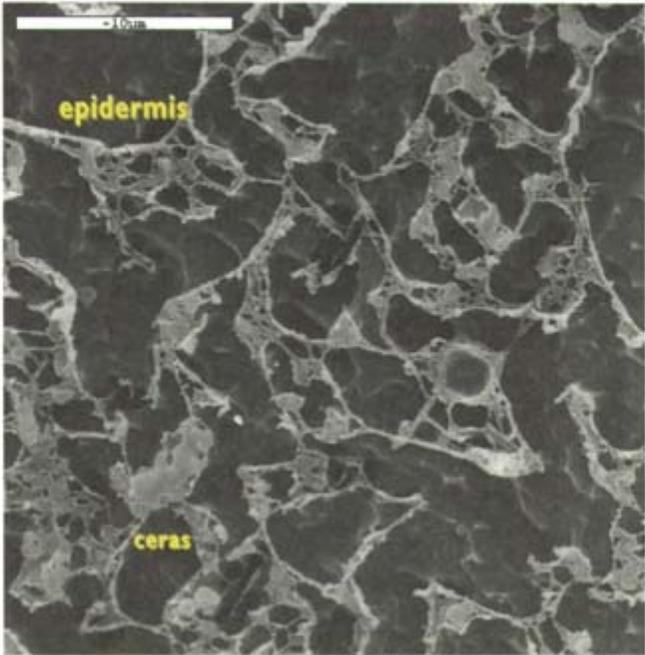


Y acaba disolviendo la capa cerosa, abriendo orificios que permiten entrever las células epidérmicas subyacentes. Este tratamiento con sosa era bastante suave (1,2 %). Aún se observan restos de glomérulos cerosos (*), y la capa cerosa adelgazada se extiende parcialmente, a modo de velo.

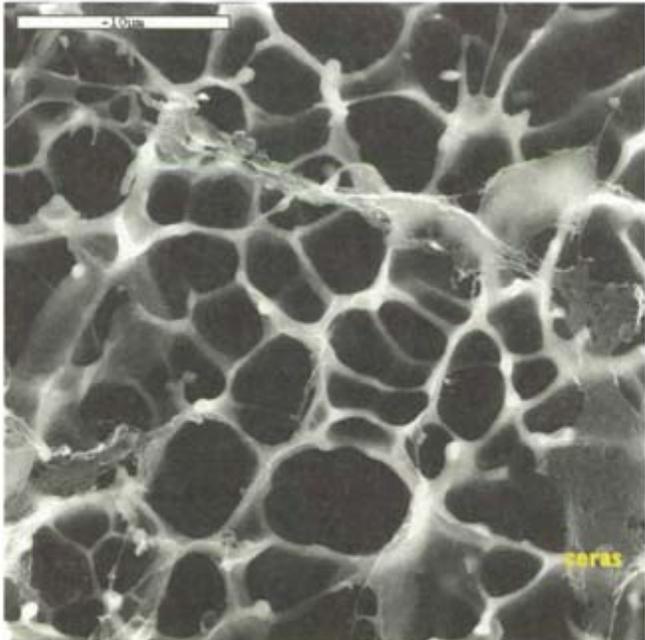


Concentración de NaOH: 2,1%

Las próximas micrografías de barrido nos permitirán observar el efecto estructural de los incrementos progresivos en la concentración de la sosa: la desaparición casi total de la capa cerosa y la apertura de orificios con un diámetro del orden de ηm . Estos orificios permitirán el intercambio químico de azúcares, polifenoles, sosa y otras sustancias desde el interior de la aceituna hacia las aguas de lavado de la sosa. Por un lado, el tratamiento con sosa provoca una fuerte degradación estructural del fruto, pérdida de brillo y pérdida de textura; por otro, del tamaño de las laceraciones producidas dependerá, en gran medida, la efectividad de los lavados. Sobre las soluciones de sosa a emplear hablaremos en el Capítulo 7.



Concentración de NaOH: 2,5%



Concentración de NaOH: 2,9%

6 Los Problemas de Conservación

La Aceituna de Campo Real es, sin duda, una de las elaboraciones más apreciadas y difundidas en nuestra Comunidad, en donde es la preferida de muchos consumidores. Sin embargo, este producto tan típico y tradicional se enfrenta a un importante problema: la limitada vida útil del producto final, una vez aderezado y aliñado.

En efecto, la Aceituna de Campo Real tiene una conservación muy problemática. En periodos de altas temperaturas (junio-septiembre), la mala conservación de las preparaciones motiva incluso el cese de la producción de algunas industrias, con el comprensible perjuicio económico. Estos elaboradores reanudan la producción con la llegada de los primerísimos frutos de la siguiente campaña, intensamente verdes y de muy alta textura. El problema de la conservación de la Aceituna de Campo Real es el limitante de la expansión del Sector, siendo difícil la introducción del producto en grandes superficies, el envío a otras regiones o la exportación.

Este problema de conservación ha sido, y es, el objetivo final de los esfuerzos conjuntos del Órgano Gestor de la Denominación de Calidad y de un grupo de investigadores del IMIA. A las distintas estrategias de conservación se han dedicado ya dos Proyectos de Investigación, cuyos resultados más notables se presentan en el siguiente capítulo. Con estos Proyectos no sólo se ha abordado, desde una perspectiva científica, el conocimiento del fruto (Capítulo 2), del producto final (Capítulo 4) y de los factores responsables del deterioro de este último (Capítulo 7). También se ha producido un estrecho contacto con las Empresas asociadas a la Denominación de Calidad, mediante visitas y toma de muestras en muchas de ellas (Capítulo 8). Los resultados han servido para poner de manifiesto aspectos de producción mejorables e iniciar los intentos de implantación de sistemas de autocontrol en las Empresas. La investigación avanza poco a poco, obteniéndose avances parciales en la conservación del producto.

Decimos avances parciales porque, indudablemente, si el problema de conservación de la elaboración de Campo Real fuera sencillo, hace tiempo ya que se habría resuelto; sin embargo, desde el Órgano Gestor de la Denominación de Calidad y desde el IMIA se ha abordado la conservación de este producto tradicional tal y como lo conocemos y es apreciado por los consumidores. Se desea mantener, ante todo, las peculiares características organolépticas de la Aceituna de Campo Real: el intenso color de los frutos, los aromas y sabores de las especias naturales, el tono oscuro de las salmueras de aliño. Incluso, el particular gusto derivado del proceso de aderezo en sosa que parece ser apreciado por el tradicional consumidor madrileño. Vamos a tener ocasión de poner de manifiesto, a lo largo de este capítulo y del siguiente, cómo estas peculiares características son la causa principal del deterioro.

El problema de conservación de la Aceituna de Campo Real no es nuevo ni único. En su obra *Biotecnología de la Aceituna de Mesa* (1985), Fernández-Díez y colaboradores dedican un capítulo a este tipo de elaboraciones, que denominan "Aceitunas Aliñadas y Aromatizadas de diversos tipos". Textualmente: "... las aceitunas aliñadas

constituyen una elaboración muy apreciada y ampliamente difundida. Sin embargo, su preparación con fines comerciales es fundamentalmente artesanal y está muy restringida a zonas reducidas y cercanas al centro de distribución, debido al rápido deterioro que experimenta este producto".

Como decíamos, el problema ni es nuevo, ni es único.

La principal causa de deterioro de la Aceituna de Campo Real radica en la elevada población microbiana que se añade con las especias y condimentos del aliño. A esta población microbiana se la sitúa, además, en un medio óptimo para su rapidísima proliferación: un medio rico en azúcares que difunden desde los frutos y con un pH próximo a la neutralidad, apto para el desarrollo de todo tipo de microorganismos.



Mezcla de condimentos y especias para el aliño de "Campo Real"

En efecto, los frutos de aceituna para la elaboración de Campo Real se conservan en salmueras del 5% de NaCl en donde, en el mejor de los casos, y tras varios meses de almacenamiento, han sufrido sólo una fermentación parcial. En ningún caso se someten a un proceso fermentativo controlado, como en el caso de la Manzanilla sevillana, que agote los azúcares fermentecibles de la aceituna. El proceso de aderezo en sosa abre, como hemos visto, grandes laceraciones en el tejido, vía fácil de entrada para los microorganismos de las especias del aliño; y este mismo tratamiento con sosa deja una parte residual en el interior del fruto que no se elimina con los lavados, y que lentamente va difundiendo hasta la salmuera de aliño, obteniéndose pHs, en el equilibrio, del orden de 6-7 unidades.

Entre los microorganismos contaminantes de las especias y condimentos naturales se pueden destacar las bacterias saprofitas, termófilas, levaduras, hongos, etc. Los productores de aceituna de Campo Real se encuentran naturalmente orgullosos de sus formas y fórmulas tradicionales de aliño, transmitidas a veces de generación en

generación. Así, la presencia de trocitos de hinojo, de ramas de tomillo o, incluso, de dientes de ajo es apreciada y valorada por los productores y los consumidores como el mejor indicativo de la naturalidad y frescura de la preparación de aceitunas. Indudablemente, no hay sustituto posible para estos ingredientes del aliño en estado natural, muchos de ellos recolectados *in situ* por los propios productores, en determinadas zonas de la Comunidad de Madrid y provincias cercanas. Pero la contaminación microbiana de las mismas es extrema.

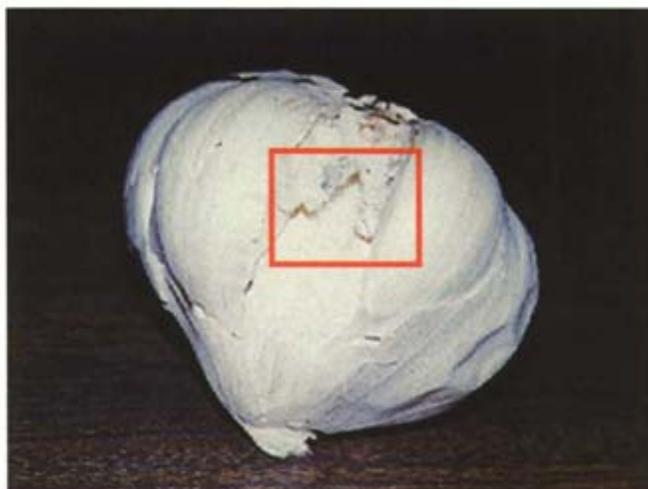
Algunos productores colocan especias y condimentos en maceración en la salmuera unos días antes de proceder al aliñado; otros añaden todos los ingredientes "en seco" y luego vierten la salmuera de aliño para envasar. Algunos añaden al aliño en maceración plantas casi completas que, en su opinión, proporcionan un sabor especial. Aquí como en ningún sitio, *cada maestrillo tiene su librillo*, y sin duda los resultados son organolépticamente inmejorables. Pero aquí es también donde nace el problema de la conservación.



Ingredientes naturales en maceración en la salmuera de aliño

Entre los ingredientes tradicionales del aliño de Campo Real se encuentra, como ya se ha indicado, el ajo. Muchos productores incorporan los dientes enteros y machacados para que el sabor difunda más rápidamente a la salmuera de aliño. Este condimento se encuentra sometido a frecuentes alteraciones microbianas; entre ellas, la denominada "podredumbre azul" o "descomposición fúngica azul" (Fernández-Díez *et al.*, 1985). El nombre se debe al color de las esporas de los hongos del género *Penicillium*. El empleo de ajos portadores de *Penicillium* produce ablandamiento de los frutos por las enzimas *pectinolticas* —es decir, enzimas que degradan las sustancias

pécticas produciendo separación celular y degradación de las paredes celulares— que segregan estos hongos.



Inicio de descomposición fúngica azul en una cabeza de ajos para el aliñado

iMiDRA

La rapidez de la descomposición azul motiva que el ajo, ingrediente considerado como de tipo obligatorio para el aliñado de Campo Real, pueda ser suprimido de las fórmulas de aliñado en periodos de altas temperaturas, según el Reglamento de la Denominación de Calidad.

Algunos productores de Aceituna de Campo Real recurren al uso de mezclas comerciales de especias y condimentos naturales en busca de cierta homogeneidad en el sabor que comunican a sus preparaciones. Aunque todavía no se ha citado, las especias y condimentos vegetales en estado natural son intrínsecamente variables en sus características químicas y por consiguiente, los sabores y olores que comunican a las aceitunas pueden ser muy diferentes en función del origen geográfico, variedad vegetal, tipo de suelo, etc. (Fernández-Díez *et al.* (1985), y referencias en el mismo). Aunque estas mezclas comerciales vienen en estado higiénicamente correcto, también comunican una elevada carga microbiana que no es significativamente diferente de la de los ingredientes recogidos en el campo. Las mezclas comerciales no están esterilizadas, y su carga microbiana puede incrementarse si el almacenamiento en origen, el transporte o el almacenamiento en destino de las mismas no se realiza en las adecuadas condiciones de baja temperatura y escasa humedad.

Existen dos tipos de soluciones para intentar evitar el desarrollo de microorganismos causantes del deterioro de los frutos: (i) eliminar o reducir, hasta niveles aceptables, la contaminación microbiana inicial, y/o (ii) que las condiciones fisicoquímicas del producto final, aderezado y aliñado, no sean favorables al desarrollo microbiano.

Entre el primer tipo de soluciones encontramos, por un lado, la aplicación de tratamientos térmicos que eliminen (esterilización) o al menos, que reduzcan, la carga microbiana (pasterización). Existen otros tipos de tratamientos, novedosos, como la irradiación de alimentos o la exposición a focos luminosos de determinadas características de intensidad y longitud de onda. Estos tipos de tratamiento son actualmente objeto de investigación activa en la Tecnología de Alimentos. Su aplicación se considera, en el momento actual, inasequible para las pequeñas y tradicionales empresas productoras de Aceituna de Campo Real en nuestra Comunidad. Sin embargo, nada es descartable. El estudio completo de los procesos de pasterización es el eje del proyecto SC00-27, financiado por el INIA y actualmente en sus inicios en el Departamento de Agroalimentación del IMIA.

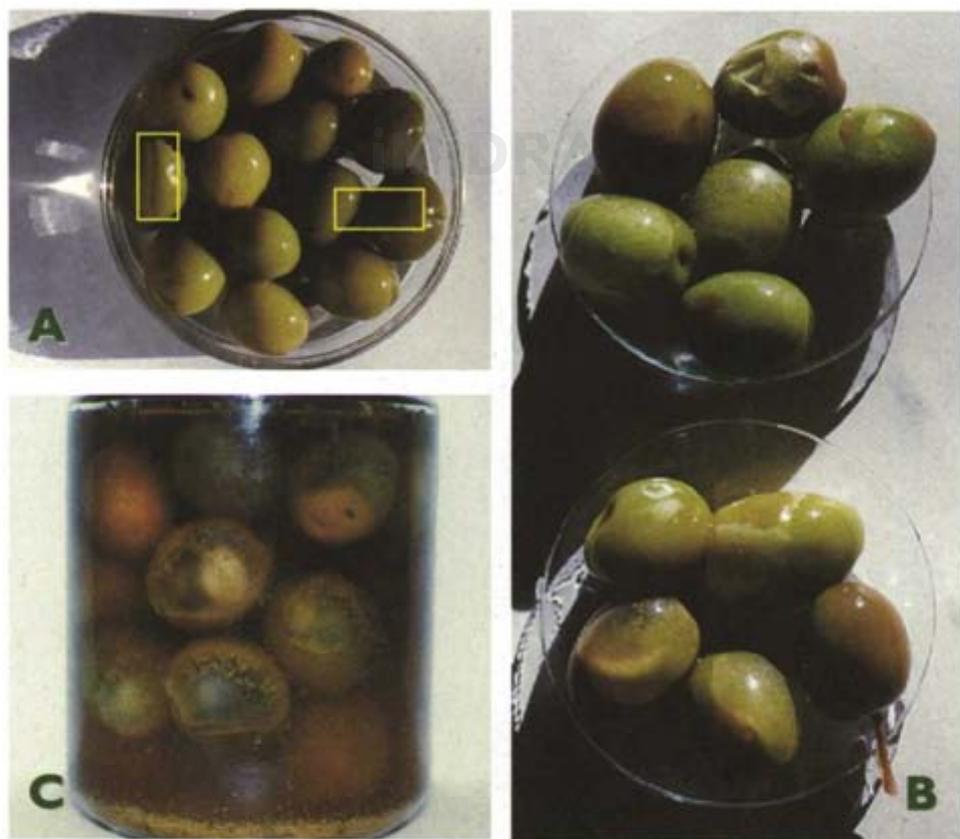
Se puede intentar la sustitución, total o parcial, de las especias y condimentos naturales por extractos dispersados, aceites esenciales o por oleorresinas. Los aceites esenciales se utilizan ya por algunos productores de Aceituna de Campo Real para ayudar a la aromatización del producto. En general, y puesto que se obtienen por destilación, no contienen todos los componentes aromáticos del producto inicial, con el consiguiente perjuicio para el sabor. Como ya se ha dicho, y evidentemente, no hay sustitutivo para lo natural en lo referente a los caracteres organolépticos. Sin embargo, la utilización simultánea de esencias junto con especias y condimentos naturales pasterizados puede ser una vía prometedora de reducción de la carga microbiana inicial. Esta línea de trabajo precisa un estudio de los principales componentes aromáticos (o conjunto de los mismos), que los consumidores asocian a uno u otro sabor (tomillo, orégano, ajo, etc.), y la determinación cromatográfica de su presencia/ausencia en las esencias comerciales disponibles. Estas determinaciones se contemplan en el protocolo de trabajo del Proyecto de Investigación SC00-27 para el cuatrienio 2000-2003.

En el IMIA se ha ensayado la esterilización en seco de una mezcla de especias y condimentos naturales. Los resultados organolépticos no han sido buenos, pues las especias así tratadas comunicaban un aroma conjunto a "cocinado" muy distinto de las notas de frescura e individualidad de los productos vegetales y condimentos sin tratar. Los procesos de pasterización (tratamientos térmicos suaves) se han ensayado bien en las salmueras de aliño, sin los frutos (Proyecto 06G/036/96), o en botes conteniendo frutos y salmuera de aliño (Proyecto FP99-CR-001). Los experimentos y resultados se detallan en el capítulo siguiente. Aquí avanzaremos que la pasterización de los aliños ayudó a mantener los frutos durante dos meses en época de temperaturas bastante altas (abril-junio), con buena textura y apreciables caracteres organolépticos. Los frutos y salmueras pasterizados en el segundo caso se conservan sin ninguna alteración en textura y con aceptables caracteres organolépticos, pero el efecto, en este caso, se puede atribuir al control de pH realizado en las salmueras de aliño. Este aspecto se comentará a continuación.

Así, entre el segundo tipo de soluciones se encuentran las destinadas a que los microorganismos estén en condiciones de temperatura y/o pH (acidez) que limiten o detengan su proliferación. En el primer caso, el almacenamiento en refrigeración de los productos prolonga, en general, su vida útil, pero los resultados son erráticos tras dos meses de conservación: unos productos se han alterado y otros no. Además, considerar a la Aceituna de Campo Real como alimento necesitado de refrigeración limita su difusión e introducción en nuevas superficies de venta.

El control del pH de la salmuera de aliño merece mención aparte. Esta ha sido una de las principales líneas de trabajo del Proyecto IMIA FP99-CR-001. Como ya hemos indicado, la sosa residual que queda en el interior del fruto de aceituna tras el aderezo va difundiendo progresivamente hacia la salmuera de aliño. Esta, que inicialmente ha podido presentar valores de pH próximos a 3-4 unidades (especialmente si se ha añadido algún conservante o acidulante), ve incrementado el pH hasta valores de neutralidad próximos a 7 o incluso hasta 10-11 unidades. En este último caso, sin presencia de acidulantes, la actividad microbiana reduce progresivamente el pH hasta, otra vez, valores de 6-7 unidades. A estos pHs, todos los microorganismos que se introducen con los ingredientes del aliño se desarrollan y multiplican activamente, consumiendo los azúcares de los frutos y produciendo el deterioro de los mismos como consecuencia de su actividad metabólica.

Cada microorganismo presenta un rango de pH dentro del cual es posible su supervivencia y/o multiplicación. En concreto, una de las alteraciones más desagradables y comunes en la Aceituna de Campo Real es la denominada "alambrado". Recibe el nombre del aspecto que tienen los frutos en las primeras fases de alteración, en las cuales parece que un alambre caliente se hubiera presionado contra la piel del fruto:



Estadios de alteración de aceitunas de Campo Real:
A) "alambrado" de frutos; B) formación de "fish eye"; C) bote alterado

En realidad, esta línea en la superficie del fruto es reflejo de una galería en la pulpa como consecuencia de la actividad de ciertos microorganismos, fundamentalmente bacilos gram-negativos, que consumen los azúcares del fruto liberando gases (CO_2 e H_2) como resultado de su actividad fermentativa. Los gases liberados terminan por acumularse, formando una vejiga o bolsa llena de gas, con la destrucción de la pulpa y la separación de ésta de la epidermis del fruto. El aspecto de estas bolsas recuerda a un ojo de pescado, y de ahí su nombre inglés: *fish eye*. Al final, las bolsas son tan grandes que la densidad del fruto se reduce considerablemente, y las aceitunas deterioradas flotan en la parte superior de los envases. La textura de los frutos está completamente degradada.

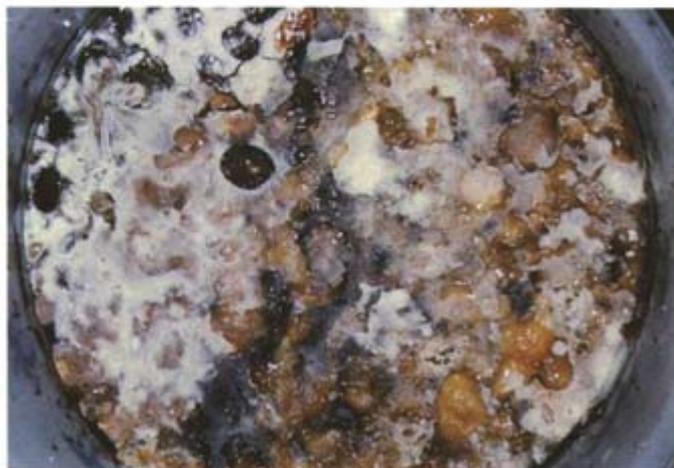


Frutos completamente deteriorados flotando en la salmuera de aliño

El desarrollo de las bacterias gram-negativas productoras de alambra-do se inhibe con pHs inferiores a 4,5 unidades, de ahí la importancia de control de este factor.

Existen otros microorganismos cuya actividad puede causar también síntomas de deterioro; entre ellos podemos citar géneros de levaduras fermentativas. Algunas de estas levaduras se han aislado, en condiciones de esterilidad, del interior de frutos de aceituna de Campo Real aderezados y aliñados y que presentaban síntomas de deterioro. Estos aislados se conservan en la colección de cultivos que se mantiene en el IMIA para su próxima caracterización. Con referencia a las levaduras, digamos aquí que el desarrollo de levaduras oxidativas (comúnmente conocidas como "natas") en la superficie de los graneles de Aceituna de Campo Real no es causa de deterioro ni poco

higiénico para el producto. En general, sólo se puede decir que el desarrollo de estas levaduras resta algo de acidez al producto y por tanto, no ayuda a su conservación, pero sin que éste sea un efecto muy acusado.



Capa superficial de levaduras oxidativas sobre un envasado a granel

Volviendo a la estrategia del control y estabilización del pH de la salmuera de aliño, su implementación en la Aceituna de Campo Real no está exenta de problemas. Entre ellos, citemos una apreciación sensorial inferior, porque la entrada en boca del producto es más ácida, y la incorporación de los aromas y sabores del aliño está, por así decirlo, enmascarada; además, los frutos pierden sus colores verdes o marrones intensos para tomar un color superficial más amarillento que recuerda a la Manzanilla sevillana fermentada; y las salmueras de aliño están claras porque los polifenoles responsables de su color sólo forman compuestos coloreados a pHs alcalinos. Con todo esto, las preparaciones de Aceituna de Campo Real se conservan hasta 5 meses a temperatura ambiente, pero se asemejan parcialmente a las aceitunas "sevillanas" o al "estilo español". Esta línea de trabajo y sus resultados se detallan en el siguiente capítulo. Adelantaremos aquí que el sabor y aroma se mejoraron con la utilización de sistemas de control de pH basados en el ácido láctico y su sal sódica, de la menor concentración posible, y con modificaciones al proceso de producción (lavados neutralizadores de la sosa e introducción de esencias aromáticas).

En cualquier caso, la investigación progresa lentamente, aunque con mucha probabilidad será necesario adoptar una solución de compromiso entre los factores físico-químicos destinados a garantizar la conservación y las características organolépticas del producto. En el mercado madrileño, los consumidores están tradicionalmente acostumbrados al regusto de la sosa residual y al color oscuro de las salmueras de aliño. Pudiera ser posible una elaboración menos intensa en estos aspectos para otros mercados, dado que estas peculiares características se deben al elevado pH, causa, a su vez, del deterioro del producto.

7 La Investigación en el IMIA

La investigación sobre el problema de conservación de la Aceituna de Campo Real ha sido un área de trabajo en el Departamento de Agroalimentación del IMIA desde 1995, año en el que se iniciaron los primeros contactos entre la entonces Sección Agroalimentaria y los responsables del Órgano Gestor de la Denominación de Calidad.

Así, la investigación científica ha tenido un claro objetivo final: aumentar la vida útil de las Aceitunas de Campo Real sin menoscabo de sus preciados caracteres organolépticos. Ya hemos dedicado el capítulo anterior a explicar que, precisamente, el problema de conservación se deriva de las condiciones que comunican al producto su aroma y sabor inconfundibles: el elevado pH de las preparaciones, la falta de fermentación del fruto y el empleo de ingredientes totalmente naturales en el aliñado, portadores de una elevada carga microbiana inicial que se coloca en idóneas condiciones para su desarrollo. Durante estos años de investigación se han abordado muchas estrategias, todas ellas con resultados parcialmente satisfactorios, pero siempre con algún "pero" que impide que surja la solución definitiva: la refrigeración, resultados erráticos; la esterilización del aliño, inviable por comunicar sabor a "cocinado"; la pasterización del aliño, resultados satisfactorios sólo a medio plazo (2 meses); los sistemas reguladores del pH, un sabor más ácido y una salmuera más clara.

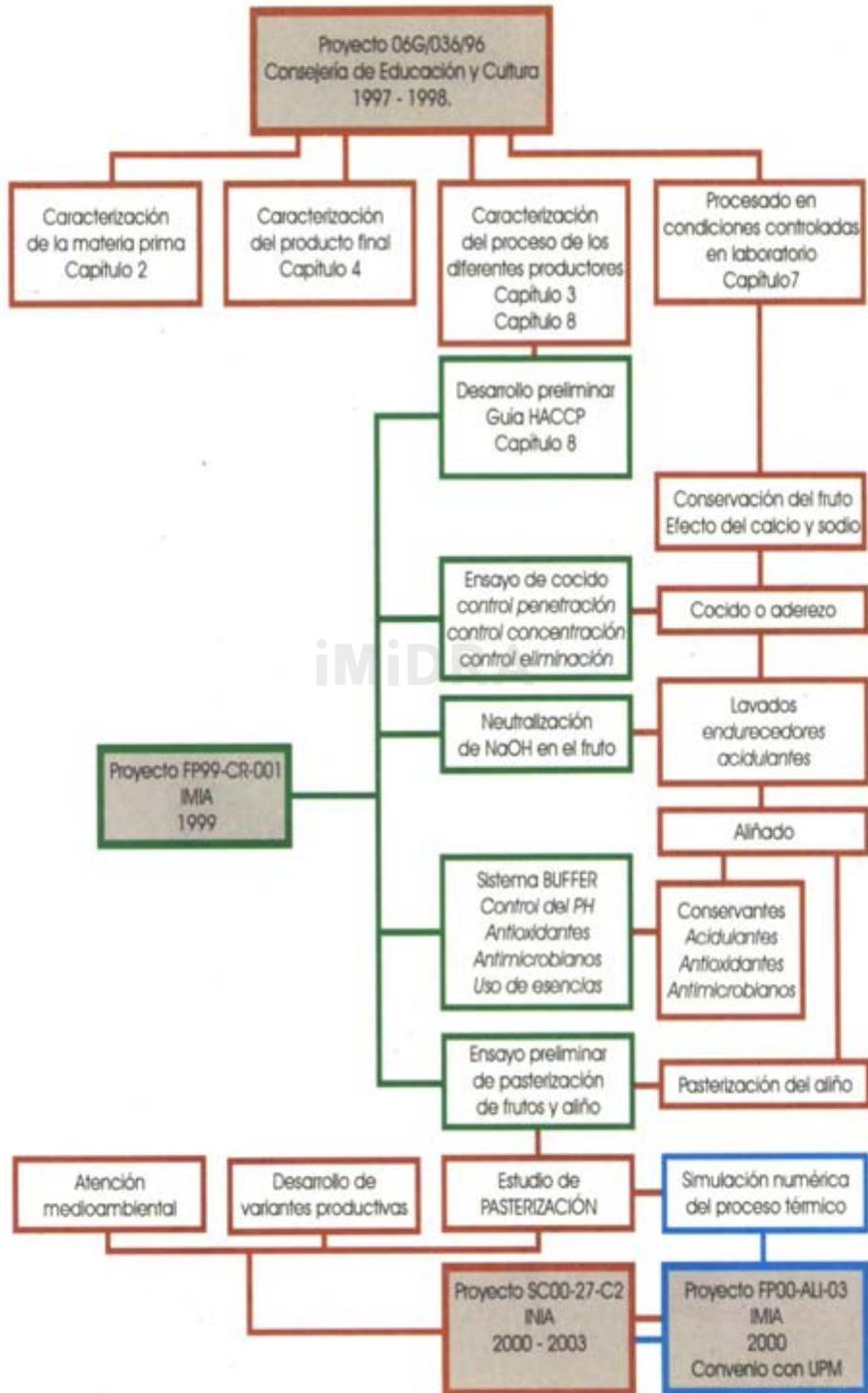
El desarrollo de la investigación científica se realiza mediante su estructuración en Proyectos de Investigación. La concesión de un Proyecto requiere la presentación, al Organismo financiador, de un protocolo científico detallado y una justificación presupuestaria basada en la previsión de gastos que originará el trabajo científico. Tras la evaluación de ambos documentos, el Proyecto es o no, aprobado, y se concede una financiación apropiada al mismo, a juicio de los evaluadores. A lo largo de estos años y de los próximos, la investigación sobre la Aceituna de Campo Real se ha realizado, y se realizará, en el marco de los siguientes Proyectos de Investigación:

- **06G/036/96**, Consejería de Educación y Cultura. 1997-1998.
- **FP99-CR-001**, I.M.I.A. 1999.
- **SC00-27-C2**, Inst. Nacional Inv. Agrarias y Alimentarias (INIA, MAPA). 2000-2003.
- **FP00-ALI-03**, I.M.I.A. 2000. (Convenio con la Universidad Politécnica de Madrid).

La exposición detallada de técnicas, enfoques, objetivos y resultados de estos Proyectos se encuentra fuera de lugar en el ámbito de esta monografía. No obstante, si resumiremos los resultados más relevantes obtenidos, con la explicación de las interrelaciones entre los mismos y de las variaciones en las líneas de trabajo; en el curso de la investigación, unas líneas se acaban y otras aparecen; algunas resultan más prometedoras; otras conducen a puntos muertos. Las nuevas técnicas, las revisiones bibliográficas y el contacto con el sector son elementos de dinamismo en el quehacer científico, que debe estar siempre orientado pero también saber ser flexible.

Muchos de los resultados, ideas, estrategias y acciones de estos Proyectos se encuentran, explícitos o implícitos, en los capítulos de esta monografía, y a ellos no haremos más referencia. El desarrollo organizado de cualquier ensayo de carácter científico exigía, en primer lugar, conocer la materia prima de que se partía (Capítulo 2), el proceso de la aceituna para ser "Campo Real" (Capítulo 3), y lo que los productores ofrecen al mercado (Capítulo 4). El problema de conservación, sus causas y posibles soluciones se encuentran en el Capítulo 6. El conocimiento *in situ* de las industrias aceituneras y sus procesos está en el Capítulo 8, junto con un modelo de aplicación del sistema HACCP de autocontrol. Toda la labor científica que aquí vamos a detallar ha sido siempre apoyada y alentada por el Organismo Gestor de la Denominación de Calidad "Aceitunas de Campo Real"; a ellos y a las Empresas asociadas, nuestro agradecimiento. Sus aportes a esta monografía son reflejo de esta colaboración. Por último, ciertas líneas de trabajo del Proyecto SC00-27-C2 para el cuatrienio 2000-2003 se comentan en el Capítulo 10: el futuro de este Sector pasa por resolver el problema de conservación, pero también por la innovación en el desarrollo de productos, por la extensión del ámbito de sus consumidores y, desde luego, por una —cada día más necesaria— atención medioambiental. A todo esto pretende contribuir este nuevo Proyecto en curso. En la página siguiente presentamos un diagrama de interrelaciones entre los sucesivos Proyectos de Investigación, con sus líneas de trabajo y su desarrollo temporal.





Conocer la materia prima base para la elaboración de la aceituna de Campo Real se consideró un aspecto fundamental en la resolución de la conservación. Así, se obtuvieron una serie de datos químicos, bioquímicos, microbiológicos, físicos y estructurales que se pueden consultar en el Capítulo 2. Especial mención merece la correlación entre el estudio estructural y la composición de las paredes celulares de los frutos, factor clave en el mantenimiento de la textura del fruto. La aceituna Cacereña llega a las elaboradoras de Aceituna de Campo Real en muy distintas condiciones según el año climatológico, la zona de origen, el manejo del olivar y el grado de maduración. La caracterización realizada suministró valores analíticos que precisaban, numéricamente, los gustos y preferencias de cada productor en la compra de aceitunas (más o menos verde, mayor o menor textura...). Unos valores medios idóneos para la materia prima son los que se encuentran en el Capítulo 2.

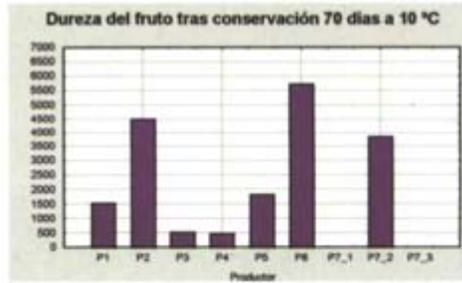
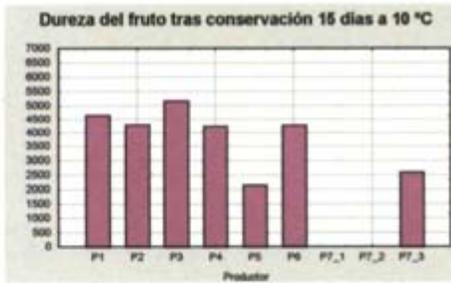
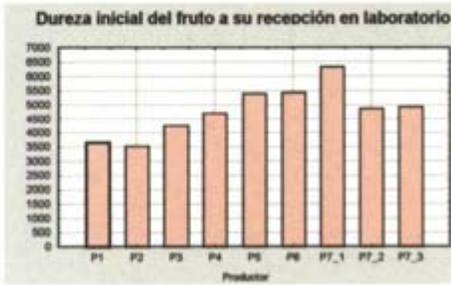
Con esta línea de trabajo se estudió la evolución de los componentes químicos durante la maduración, y se comprobó la existencia de actividades enzimáticas progresivamente inducidas con este proceso. Se observó que es preciso extremar la atención a medida que avanza la maduración del fruto para no perder calidad de aceituna: el uso de calcio como restaurador de textura puede ser aconsejable; cualquier golpe puede provocar la expresión de peroxidasa y polifenoloxidasa y producir un empardecimiento local en el fruto; la capa cerosa está adelgazada y el fruto menos protegido; el material cementante intercelular se va degradando y el fruto pierde textura...

Una vez caracterizada la materia prima, pasamos a determinar analíticamente qué se conoce como "Aceituna de Campo Real". Como ya hemos detallado en el Capítulo 4, los valores del producto ofertado en el mismo momento de la misma campaña por dos productores, o en dos campañas diferentes por el mismo productor, presentan valores muy diferentes. La heterogeneidad es muy elevada; en ello radica parte del carácter artesano de este tipo de producción.

La heterogeneidad de las preparaciones de Aceituna de Campo Real es probablemente la causa de la heterogeneidad en el comportamiento de dichas preparaciones en su almacenamiento en refrigeración. En este ensayo se utilizaron muestras suministradas por 7 productores diferentes, uno de ellos en tres momentos distintos de campaña. Las 9 muestras así obtenidas se dividieron en dos lotes, uno de los cuales se mantuvo en refrigeración en cámara a 10°C durante 70 días, y su correspondiente lote, control a temperatura ambiente en el edificio (tª media 20°C). En lo referente a las características de textura y color, los resultados indicaron:

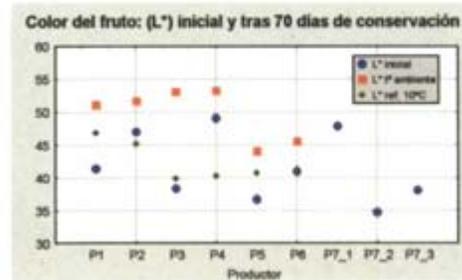
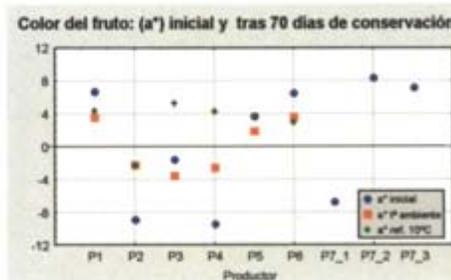
- Existe una gran variabilidad en la dureza de los productos finales de diferentes productores, que oscilaron entre 3500 y 6500 g en las condiciones de ensayo de textura, para el fruto recién lavado y aliñado. Un mismo productor presenta valores de 4500-6500 g en distintos momentos de campaña.
- En periodos cortos (15 días) existe un efecto positivo de la conservación en refrigeración sobre la textura del fruto.
- En periodos largos (70 días) existen muestras que mantienen la dureza inicial en refrigeración (29%), muestras que sufren una pérdida aceptable (14%) o totalmente inaceptable (57%). El comportamiento general, no obstante, es mejor que a tª ambiente.

Los resultados se pueden observar gráficamente:



En lo referente a las condiciones de conservación del color (colorimetría CIE-L*a*b*), volvemos a observar una situación similar:

- Existe una gran variabilidad en el color de los frutos aderezados y aliñados, en función de las características de la materia prima y del proceso de producción.
- La conservación a temperatura ambiente aumenta los valores de luminosidad (parámetro L*). Más tarde comprobamos que este aumento de luminosidad en el aliñado se produce siempre de manera reiterada, y se asoció a un cierto grado de cierre de las laceraciones producidas en el tejido por el tratamiento alcalino, que se traduce en una modificación de las características de reflexión y absorción de la luz (Lázaro *et al.*, enviado). La criomicroscopía de barrido nos permitió confirmar la hipótesis, como se mostrará más adelante.
- La conservación en refrigeración produce, de media, una disminución del color verde (a*) y no parece tener efecto sobre la luminosidad (L*).



En lo referente a la evolución de las salmueras de aliño, se comprobó una disminución de pH mucho más lenta en refrigeración (tras 70 días de conservación las preparaciones presentaban, de media, un pH superior en 1,3 unidades al de las mantenidas a temperatura ambiente), y menor acidez libre. Estos aspectos pueden atribuirse a la menor actividad metabólica de la población de lactobacilos y otras bacterias lácticas. La solubilización al medio (salmuera) de azúcares y polifenoles era, asimismo, algo menor. Los valores de acidez combinada (sosa residual) y concentración de sal en el equilibrio no mostraron diferencias.

Paralelamente a la determinación analítica de las características de la Aceituna de Campo Real, solicitamos a varios productores que nos hicieran llegar lotes de aceituna tras el cocido, en agua de lavado, sin aliñar. En recipientes aparte cada productor suministró la salmuera de envasado final y la mezcla del aliño. Con estas muestras se iniciaron los ensayos de aplicación de tratamientos térmicos encaminados a eliminar o, al menos reducir hasta un nivel aceptable, las cargas microbianas de los productos.

Se estimó que el fruto cocido en NaOH podía considerarse estéril, porque a pH 13 no sobreviven los microorganismos. Si contamos con agua de adecuada calidad microbiológica, y utilizando conducciones, depósitos y pilones en adecuadas condiciones de higiene, podemos pensar que el fruto listo para el aderezo no es una fuente de contaminación microbiana. Esto es también aplicable a la salmuera de aliñado: el agua, la sal y algunos aditivos (ácido ascórbico, sorbato potásico, cloruro cálcico), no portan altas poblaciones microbianas.

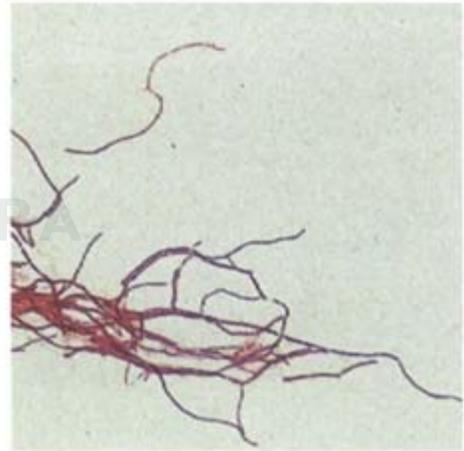
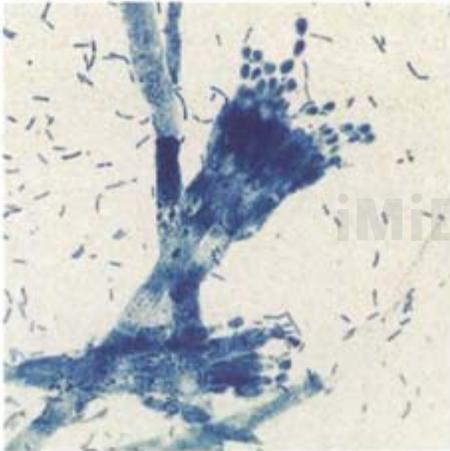
Sí lo hacen, como ya hemos visto, las especias y condimentos vegetales que se utilizan para la preparación de los aliños. Tanto las especias vegetales "en rama" como los preparados comerciales —sujetos a un proceso de molienda— que utilizan algunos productores de Aceituna de Campo Real, son antihigiénicos, se deterioran durante el almacenamiento y, frecuentemente, están contaminados con microorganismos e incluso insectos (Pino y Borges, 1997). Los recuentos de microorganismos en ingredientes de aliño nos proporcionaron valores de estos órdenes, expresados como logaritmo del número de microorganismos viables por gramo de mezcla de aliño:

Aerobios totales: 4,43
Hongos y levaduras: 3,23
Enterobacterias: 2,72
Lactobacilos: 3,71

Una estrategia lógica para la reducción de esta carga microbiana inicial es la aplicación de un tratamiento de pasterización, que reduzca o elimine las formas viables de los microorganismos. Para evitar el posible efecto negativo del calor sobre las características de color y textura de los frutos, se iniciaron ensayos de pasterización únicamente de la salmuera que contenía las especias de aliño y, en su caso, cualquier aditivo utilizado por el productor. Estas salmueras se calentaron a 80 °C en baño maría durante 10-15 minutos, según los ensayos. Tras enfriar la salmuera, ésta se añadió a los frutos aderezados, lavados y colocados en el envase final. En todos los ensayos se introdujeron, lógicamente, lotes no pasterizados como control. Todos los envases se mantuvieron a temperatura ambiente, con la realización periódica de determinaciones analíticas y microbiológicas.

La reducción de la carga microbiana inicial por la pasterización del aliño fue satisfactoria, proporcionando, a modo de ejemplo, los siguientes recuentos microbianos, correspondientes a los valores medios de 5 productores diferentes en la campaña 97/98:

Microorganismos	log N / mL salmuera de envasado	
	Antes de pasterización	Después de pasterización
Aerobios totales	4.17	1.31
Levaduras	3.52	0.25
Hongos y levaduras	2.66	0.00
Enterobacterias	2.30	0.00
Lactobacilos	3.08	0.00



Hongos (*Penicillium* spp.) y lactobacilos aislados de ingredientes del aliño utilizado para la preparación de Aceitunas de Campo Real

Esta misma estrategia se aplicaría, posteriormente, en combinación con la adición de conservantes (agentes acidulantes, antimicrobianos) a lotes de aceitunas preparadas en condiciones controladas de laboratorio. Una descripción completa de los resultados de este experimento se puede encontrar en De Lorenzo *et al.*, (1998). El planteamiento del mismo abordó todos los puntos susceptibles de control en el procesamiento tipo Campo Real: la composición de la salmuera de conservación del fruto fresco, el control del aderezo o cocido en sosa, los lavados, la eficacia del lavado restaurador de la textura, la pasterización del aliño y su posible sinergismo con la utilización de aditivos, potencialmente mejoradores de las características del fruto en esta salmuera de aliño. En cada paso se realizaron analíticas extremadamente detalladas, incluyendo el análisis de las fracciones componentes de la pared vegetal del fruto, con el fin de evaluar detalladamente sus modificaciones durante el proceso. Un esquema del mismo se presenta en este capítulo.

Las siguientes imágenes ilustran la eficacia del proceso de pasterización de los aliños:



Crecimiento en medios microbiológicos (de izquierda a derecha: CRB, hongos y levaduras; MEA, levaduras; VRBG, enterobacterias; MRS, lactobacilos; PCA, aerobios totales) inoculadas con salmuera de aliño no pasterizada (fila superior) y tras su pasterización (fila inferior)

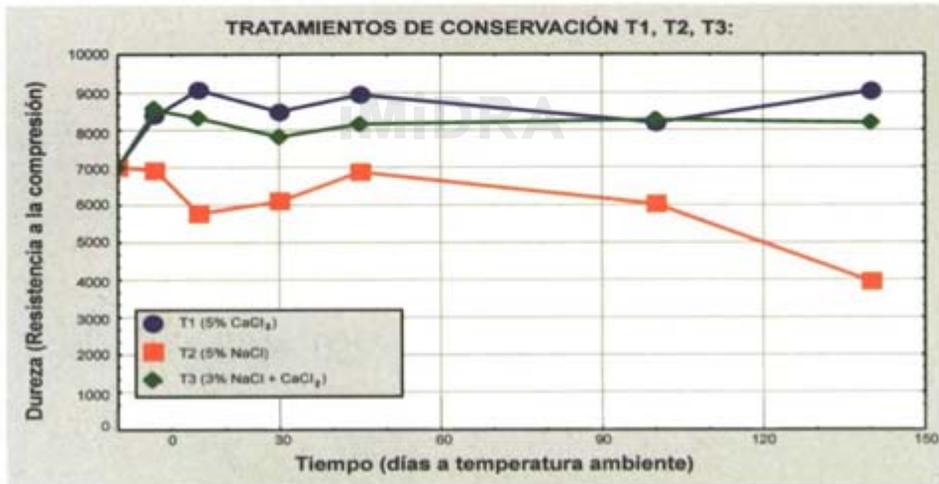


Preparaciones realizadas con frutos cocidos y lavados por el mismo productor (campeña 98/99), colocados en su salmuera de aliño pasterizada (izquierda) y no pasterizada (derecha), tras 90 días de conservación a temperatura ambiente. Los frutos en salmuera no pasterizada se han "alambrado" con formación de vejigas o bolsas de gas que les hacen perder densidad y flotar en la salmuera. Su textura está completamente destruida

El proceso completo de la "Aceituna de Campo Real" en condiciones controladas de laboratorio. Las aceitunas (frutos frescos) correspondían a un camión recibido por un productor en la campaña 97/98. Se seleccionó de visu la aceituna verde, que se repartió en tambores (8 kg/tambor) a los que se añadió salmuera de conservación (7 litros), preparada con agua destilada para evitar interferencias y con las siguientes composiciones:

- T1: CaCl_2 al 5% (*)
- T2: NaCl al 5%
- T3: CaCl_2 al 2% + NaCl al 3%

El objetivo perseguido era discriminar el efecto de los cationes Ca^{++} y Na^+ en la conservación del fruto, determinando las diferencias físicas, químicas y estructurales entre frutos así conservados. No se perseguía una aplicación industrial inmediata, de ahí el uso de una disolución conteniendo únicamente CaCl_2 . Los ensayos se realizaron por duplicado. Los controles incluyeron pH y control microbiológico de las salmueras textura, color superficial, fraccionamiento de la fibra y análisis mineral de los frutos. Paralelamente se realizó el estudio estructural por microscopía óptica de campo claro y tinciones diferenciales que se encuentra en el Capítulo 5.



- La presencia de calcio ocasiona, ya a los 7 días, un aumento de la textura.
- Esta dureza se mantiene durante todo el periodo estudiado (150 días).
- Las aceitunas conservadas únicamente con el catión sodio (T2) mantienen una dureza aceptable durante aproximadamente 3 meses, para experimentar después un descenso cada vez más acusado en la misma.
- Por consiguiente, es suficiente la adición de 2% de CaCl_2 a la salmuera de conservación para mejorar la textura del fruto. Como luego veremos, esta cantidad es excesiva, ocasionando en problemas en el aderezo del fruto y malas características organolépticas. Se recomienda una adición de, aproximadamente, 0,2-0,3% del peso del fruto a conservar.

(*) Todas las concentraciones se expresan en porcentaje peso/volumen (g / 100 mL)

En lo tocante al color superficial del fruto, los valores de la colorimetría corresponden a un color verde intenso (a^* negativo), claro y luminoso (b^* y L^* positivos). No se observan diferencias analíticas ni de visu entre el color de las aceitunas mantenidas en las distintas salmueras tras los 150 días de conservación, en las que se produjo un ligero descenso de luminosidad y pérdida del color verde intenso, con tonos más pardos y amarillentos. La muestra con más variabilidad fue la mantenida en la salmuera T1 (calcio).

Aceitunas	Parámetros de color		
	L^*	a^*	b^*
Frescas	51,7 +/- 3,2	-19,2 +/- 1,5	37,1 +/- 2,4
T1, 150 días	46,2 +/- 10,1	4,7 +/- 7,6	29,5 +/- 6,9
T2, 150 días	48,6 +/- 2,1	1,9 +/- 1,9	33,1 +/- 2,4
T3, 150 días	47,1 +/- 2,8	1,4 +/- 2,1	31,2 +/- 2,3



Aceitunas tras 150 días de conservación en diferentes salmueras

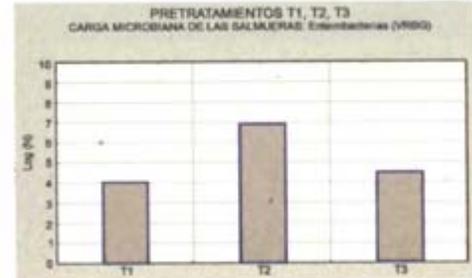
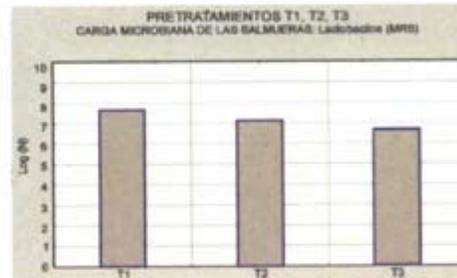
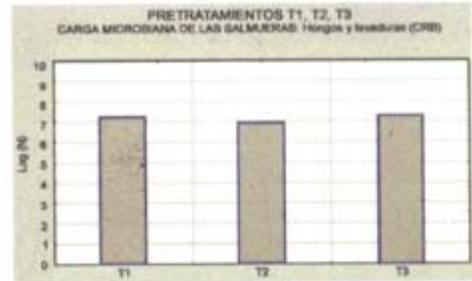
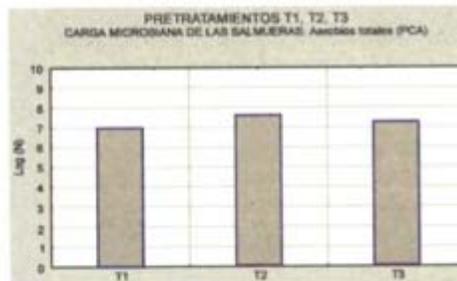
En lo tocante a la evolución de los componentes químicos de los frutos conservados en las distintas salmueras, resumimos a continuación los resultados más importantes obtenidos:

- Las aceitunas mantienen una humedad en torno al 75% en peso.
- Las mantenidas en T1 (calcio) presentan, al final del periodo de conservación, un mayor contenido en compuestos solubles. Ello implica una menor solubilización de dichos compuestos al medio, que se explica por el efecto "cementante" del ión calcio sobre las paredes celulares, puesto de manifiesto por la microscopía óptica (Capítulo 5).
- El contenido mineral aumenta con el tiempo de conservación, debido a la incorporación de cationes procedentes de la salmuera.

- La incorporación de calcio desde las salmueras T1 y T3 a las aceitunas se detecta desde los 7 días de conservación. Dicha incorporación es espectacular en el caso de los frutos conservados en T1: a los 7 días el calcio supone un 18% en peso del contenido mineral total, y a los 15 días un 43%. En T3 se observa la competencia del ión sodio, y la incorporación de calcio es mucho menor.
- En lo tocante a las fracciones de pectinas cabe destacar que el mantenimiento de las aceitunas en cualquiera de estas salmueras ocasiona la solubilización al medio por parte de las pectinas solubles en agua. El efecto en las aceitunas mantenidas en T1 (calcio) es, curiosamente, más acusado que en las otras dos, y parece que el tiempo de permanencia en la salmuera favorece la solubilización de esta fracción.
- Es notable el comportamiento de la fracción de protopectina (ver Capítulo 2), que permanece, en las aceitunas T1, prácticamente inalterada durante las dos primeras semanas de conservación. Posteriormente también disminuye, para igualarse con los valores que presentan los frutos T2 y T3 a partir de, aproximadamente, 100 días de conservación.

Por último, los controles realizados en las salmueras de conservación pusieron de manifiesto:

- Un comportamiento opuesto en la evolución del pH en los tratamientos que contienen calcio (T1 y T3) que en el que solo contiene sodio (T2): en el primer caso, desciende el pH, mientras que el segundo aumenta. Ello se debe al efecto acidificante del catión Ca^{++} , que se une a dos moléculas OH^- liberando dos protones H^+ .
- En lo tocante al análisis microbiológico, tras 150 días de conservación no había diferencias entre salmueras en las poblaciones de aerobios totales, hongos y levaduras y lactobacilos. Sí las había en las enterobacterias, con una población mil veces superior en la salmuera T2.





La superficie de los tambores estaba cubierta por una espesa capa de levaduras oxidativas. La salmuera T2 presentó, en una de las repeticiones, olor desagradable, color marrón oscuro, turbidez y extrema densidad

El control de las condiciones de cocido o aderezo en sosa. El cocido de las aceitunas mantenidas en las salmueras T1, T2 y T3 se realizó en condiciones controladas y utilizando una solución de sosa bastante diluida (1,2% p/v). Se obtuvo una relación de 10 g NaOH/Kg de aceituna. El cocido se controló por la prueba de la fenolftaleína (ver Capítulo 3), y se prolongó hasta que la sosa penetró 2/3 del espesor de la pulpa. Como la dureza de las aceitunas era diferente según el pretratamiento, los tiempos requeridos de cocido fueron muy variables:

- T1: 13 horas 30 minutos
- T2: 3 horas 30 minutos
- T3: 11 horas

iMiDRA

Ninguno de los tiempos obtenidos es aceptable. Como ya se ha indicado, la duración óptima del cocido debe durar entre 4 y 7 horas. Sin embargo, estos resultados pusieron de manifiesto la enorme influencia de la composición de la salmuera de conservación.

Las condiciones de lavado. Uno de los principales problemas detectados en el producto final aderezado y aliñado es, como se ha indicado en el capítulo anterior, el pH excesivamente elevado de las muestras. Por ello, otro de los objetivos del proceso realizado en el laboratorio fue la evaluación de la eficacia de distintos tipos de lavado en la eliminación de la sosa que queda en el fruto. Para todos los lavados se utilizó agua destilada. La valoración de la calidad química del agua utilizada por cada productor requerirá su análisis, al encontrarse en distintas zonas de la Comunidad de Madrid y utilizar, bien agua de la red general, o bien de pozos y manantiales. Los lavados realizados fueron:

1. Lavado "ducha" o dinámico, para el arrastre de la sosa superficial.
2. Lavados cortos, de 7-8 horas de duración.
3. Lavados largos, de 24 horas de duración. En éstos se evaluó la posibilidad de introducir:
 - 3.1. agentes endurecedores (5% CaCl_2), y/o
 - 3.2. agentes acidulantes, a fin de bajar el pH a 3,5-4 unidades



Como resumen de los ensayos de lavado se puede adelantar que la presencia de una mínima cantidad de calcio, inferior a la utilizada en esta experiencia, resulta muy útil para restaurar la textura de las aceitunas. Los lavados endurecedores se volvieron a aplicar en el ensayo posterior de control de pH de la salmuera de envasado. En la fotografía: C1, control; C2, con Ca^{++} ; C3, con Na^+ ; C4, con Ca^{++} y Na^+ .

Sin embargo, la utilización de lavados acidulantes debe manejarse con precaución, pues una bajada excesiva del pH provoca la destrucción de las moléculas de clorofila, por sustitución del catión Mg^{++} por un H^+ . El tono de estos compuestos es un verde amarillento. Otros tipos de alteración de las clorofilas conducen a la aparición de colores pardos. En la fotografía: C5, con ácido láctico; C6, con láctico y acético; C7, con cítrico; y C8, con acético

Es de destacar la importante disminución de pH que se obtuvo con el lavado dinámico, de más de 1 unidad en sólo 15 minutos. Los siguientes lavados cortos consiguieron continuar una rápida disminución del pH. Se planteó la posibilidad de que lavados aún más cortos consiguieran establecer mayores gradientes entre la concentración de sosa en el interior del fruto y en el agua de lavado, mejorando la eficacia de los mismos. Por ello, en la siguiente experiencia se introdujeron lavados cortos de sólo 3 horas de duración. Los pHs finales de las aguas de lavado (largos) fueron, respectivamente, de 6,7, 7,5 y 9,9 para los tratamientos T1, T2 y T3, reflejo de la diferente permeabilidad de los frutos a las soluciones de procesado.

Los lavados endurecedores, como se ha indicado, se mostraron muy efectivos en recuperar la textura perdida de las aceitunas. Como las mantenidas en la salmuera T1 estaban muy duras, no se aplicaron lavados con calcio. Las T2 sufrieron una drástica reducción de textura con el cocido, que se colocó en valores de 1000 g del ensayo de texturometría, completamente inaceptables. Los lavados con calcio recuperaron la textura hasta 3900 g, pero estos niveles no se pueden considerar adecuados para que la aceituna pueda mantener buenas características texturales en el aliño durante un tiempo razonable. Las mantenidas en la salmuera T3 vieron reducida la textura en el cocido hasta valores de 6000-7000 g, apropiada para el aliñado y conservación.

Todos estos resultados pueden verse en los gráficos que se presentan al final de esta sección, en los que se representa la dureza de las aceitunas a lo largo de su procesamiento y conservación.

El aliñado. Los tratamientos de conservación. Tras los procesos de cocido y lavados, las aceitunas de cada tratamiento de conservación fueron repartidas, al azar, en 4 lotes de aproximadamente 750 g de peso, a los que se añadió una salmuera conte-

niendo NaCl 5%, CaCl₂ 0,1%, especias comerciales molidas (hinojo, tomillo, orégano, laurel y comino) y ajo natural pelado, siguiendo aproximadamente la receta suministrada por un productor de Campo Real. Adicionalmente, este líquido podía o no contener conservantes en las siguientes proporciones: ácido cítrico, 0,3%; ácido láctico, 0,18% y ácido ascórbico, 0,06%. En los casos en los que se realizó, se añadió un tratamiento de pasterización del aliño a 80°C durante 10 minutos. De esta forma, para cada pretratamiento se obtuvieron cuatro lotes:

- (++) Pasterizado con Conservantes,
- (+ -) Pasterizado sin Conservantes,
- (- +) No pasterizado con Conservantes, y
- (- -) No pasterizado sin Conservantes (control),

cuya evolución química y microbiológica (aliños) y características texturales y de color superficial (frutos) fue seguida a lo largo de 60 días de conservación a temperatura ambiente durante los meses de abril y mayo, registrándose en este periodo temperaturas medias de 20 a 25 °C. Los resultados detallados de este ensayo se encuentran fuera del ámbito de esta monografía, pero en las páginas siguientes resumimos las principales conclusiones que se derivaron del trabajo.

Como una imagen vale más que muchas palabras, este era el aspecto que presentaban los lotes del pretratamiento T2 al final del periodo de conservación (60 días):

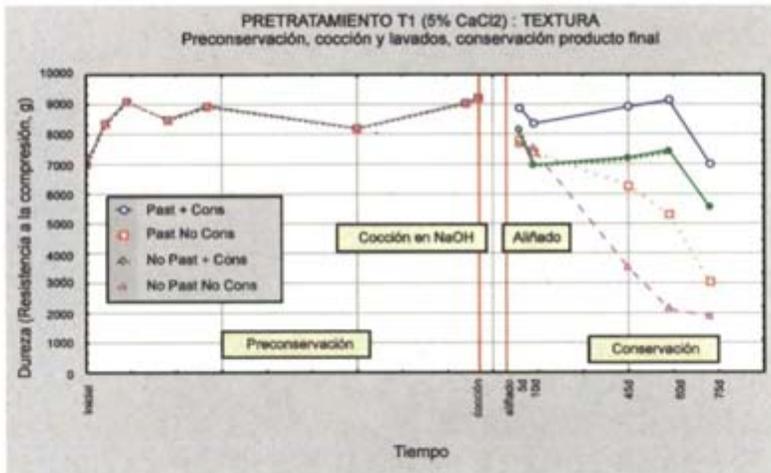


Resultaron aceptables, tras 60 días de conservación a temperatura ambiente, los tratamientos T2 (salmuera de conservación con sodio) envasados en aliño con conser-

vantes, tanto pasterizados como no pasterizados, y siempre que se hayan efectuado los lavados endurecedores. Respecto a los tratamientos T3 (salmuera de conservación con sodio y calcio), resultó aceptable el lote pasterizado y con conservantes. Los tratamientos T1 (salmuera de conservación con calcio) se eliminan por excesiva dureza y amargor de los frutos.

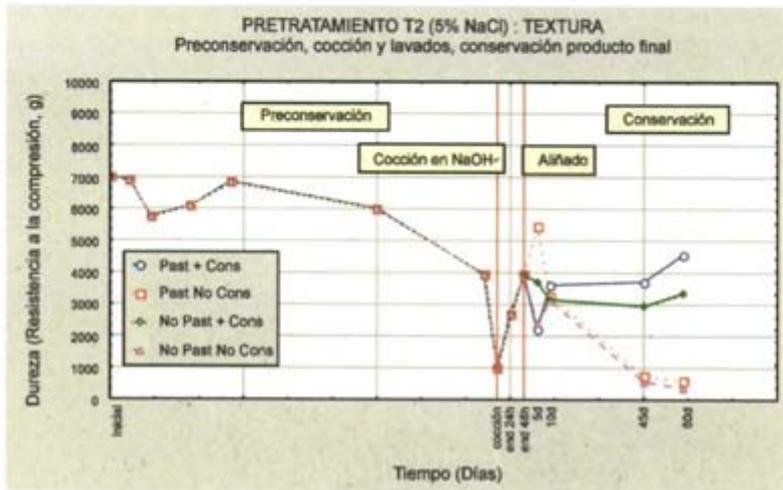


En cuanto al color, las aceitunas en aliños con conservantes presentan valores del parámetro a^* más bajos: es decir, se mantienen más verdes. La pasterización únicamente del aliño, como la que aquí se realizó, no afecta al color de la aceituna aunque éste se vierta caliente sobre los frutos.

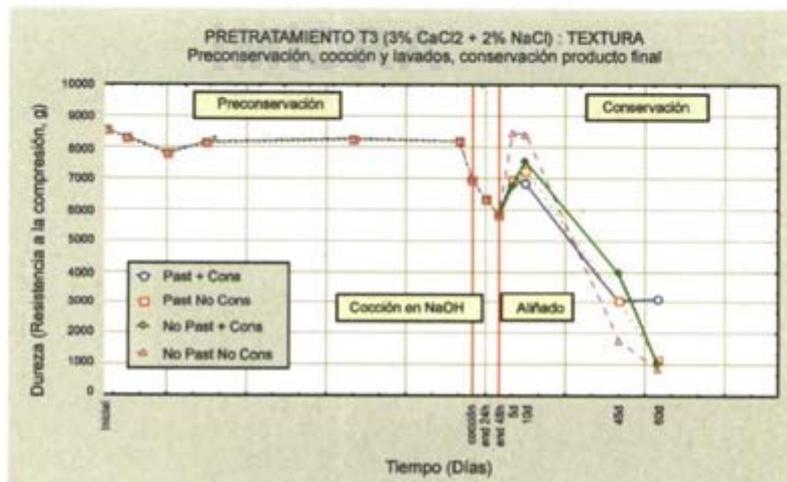


Con las aceitunas del tratamiento T1 se eleva inicialmente la textura, que se mantiene durante todo el periodo de conservación del fruto.

El cocido apenas afecta a la textura. Tras 60 días de conservación, son aceptables los lotes No pasterizado con conservantes y Pasterizado sin conservantes



Descenso, paulatino al principio y muy acusado después, de la textura inicial de los frutos durante la conservación en la salmuera T2 (Na). El cocido afecta muy significativamente a la textura, que se recupera con los lavados endurecedores. En la conservación, son aceptables los lotes con conservantes



Elevación y estabilización inicial de la textura de los frutos en la conservación. El cocido afecta muy ligeramente a la textura. Tras el aliñado, a los 60 días de conservación sólo existe un lote aceptable, correspondiente al pasterizado con adición de conservantes

La continuación de la investigación sobre el procesamiento de la aceituna. Durante el Proyecto FP99-CR-001 se profundizó en varios aspectos relativos al procesamiento de la aceituna en condiciones controladas, encaminadas a conseguir un producto en las mejores condiciones posibles con vistas a su conservación. Entre los ensayos realizados se incluyó un control completo de las condiciones de cocido, con el empleo de

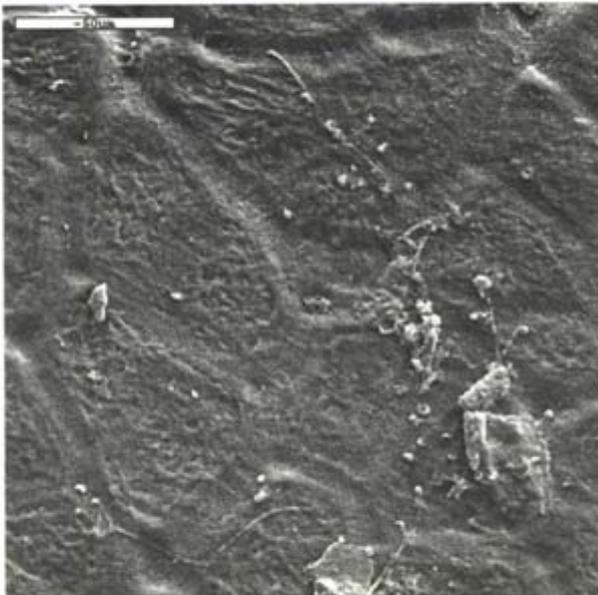
cuatro diferentes concentraciones de sosa: 1,8%, 2,1%, 2,5% y 2,9%. Además, se ensayaron dos tipos de lavados:

- tipo A): dinámico 15 min/ corto 3 horas/ largo 16 horas/ largo 24 horas + Ca
- tipo B): dinámico 15 min/ corto 3 horas/ largo 24 horas/ largo 36 horas + Ca,

con dos diferentes concentraciones de cloruro cálcico, 0,5% y 1% en el agua del último lavado. Los tiempos de cocido sí se ajustaron en este caso al margen deseado, obteniéndose una gama de 5 horas 45 minutos, en el caso de la solución de sosa más concentrada, hasta 8 horas 15 minutos para la más diluida. Se concluye que no se deben emplear soluciones de concentración inferior al 2% (peso/volumen) de sosa.

El control horario del cocido se vió apoyado por el estudio estructural mediante criomicroscopía de barrido que se puede encontrar en el Capítulo 5. Se observó que el empleo de las soluciones más concentradas permitía eliminar la capa cerosa y producir, en el tejido, un tamaño de laceración suficiente para que las moléculas de azúcares y ácidos orgánicos del fruto, así como los polifenoles, los productos de la hidrólisis de la oleuropeína, y otros sustratos, fueran extraídos de la aceituna por las aguas de lavado. Las determinaciones químicas en aguas de lavado y frutos corroboraron esta hipótesis. Con ello, las aceitunas resultan un medio "menos apetitoso" para el desarrollo microbiano posterior, tras el aliñado.

Después de un mes de conservación a temperatura ambiente, los mejores lotes eran los tratados con las concentraciones más altas de sosa, en los que la inicial pérdida de textura se había recuperado gracias al empleo de los lavados endurecedores. Sin embargo, tras dos meses de conservación a temperatura ambiente, el mejor lote resultó ser aquel tratado con 2,1% de sosa y con lavados más cortos (16/24 horas) en presencia de un 0,5% de cloruro cálcico como agente recuperador de la textura.



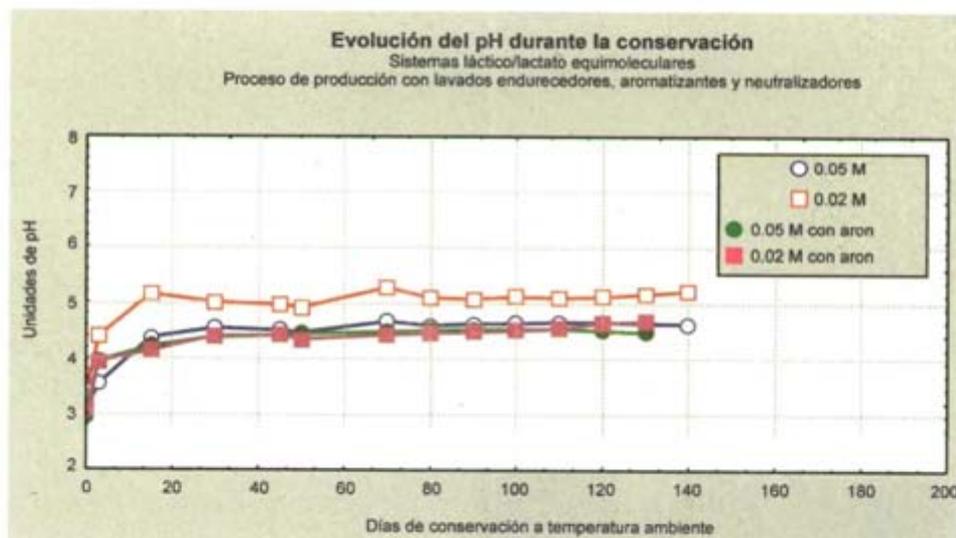
En relación a la recuperación de la textura durante la conservación, presentamos como primicia esta micrografía de barrido de la superficie de un fruto cocido (2,1% NaOH) y aliñado, y conservado durante dos meses a temperatura ambiente.

Además de algunas formas que, en más aumentos resultan ser bacterias y levaduras colonizantes de la aceituna, es impresionante comprobar cómo las laceraciones producidas por la sosa se han «cerrado». Esta hipótesis ha sido ya postulada en la bibliografía científica relacionada, pero hasta ahora no se había observado bajo el microscopio. En el IMIA se trabaja en la actualidad en la elucidación de los mecanismos fisiológicos que conducen a este efecto recuperador de textura

El desarrollo de sistemas de control de pH en la salmuera de envasado. Es conocido (I.O.O.C., 1990) que los valores de pH inferiores a 4,5 unidades inhiben el desarrollo de las bacterias gram-negativas productoras del "alambrado" de las aceitunas. Con estos bajos valores de pH se inhibe o ralentiza, también, el desarrollo de otros muchos grupos de microorganismos.

Por ello, dentro del Proyecto FP99-CR-001 se planteó el ensayo de sistemas químicos reguladores del pH como base de las salmueras de envasado de las aceitunas. Los sucesivos diseños experimentales realizados y sus resultados se pueden encontrar en Lázaro *et al.* (2000). Estos sistemas químicos reguladores del pH (*tampones* o *buffers*) amortiguan las oscilaciones que se producen en el valor de pH, devolviéndolo —dentro de unos límites— al valor inicial calculado. Para ello se hace uso de un ácido y de su base conjugada (con un catión). En el caso de las aceitunas de Campo Real, se utilizaron los sistemas láctico/lactato y acético/acetato. El láctico/lactato se empleó por existir naturalmente en la salmuera de envasado. Para la confección de los tampones se emplearon productos de uso alimentario.

Brevemente explicados, los resultados fueron satisfactorios respecto al control de pH de la salmuera de envasado y, por tanto, a la inhibición de la actividad microbiana. Sin embargo, el uso de buffers concentrados motivaba: (1) un gusto ácido en las pruebas sensoriales, rechazado "porque no parecía Aceituna de Campo Real, parece estilo sevillano"; (2) un color claro en la salmuera, porque los polifenoles dan color a pHs alcalinos; y (3) la destrucción del color verde intenso por un verde más pálido y amarillento, debido a la modificación de las moléculas de clorofila en medio ácido.



Evolución del valor de pH de la salmuera de conservación de preparaciones de Aceituna de Campo Real con sistemas reguladores de pH láctico/lactato de dos diferentes concentraciones

Con todas estas observaciones, se fueron probando los buffers de menor concentración —para minimizar el gusto ácido— pero capaces de resistir la difusión inicial de sosa desde los frutos recién aderezados. Si el valor de pH, por efecto de la sosa, se aleja mucho del valor inicial para el que está calculado el buffer, el sistema no es capaz de amortiguar esta desviación: decimos que el buffer se rompe. Para evitarlo se evaluó la eficacia de lavados neutralizadores de la sosa residual del interior de las aceitunas, valorando la cantidad de sosa en una pasta de frutos aderezados, y añadiendo al agua de lavado la cantidad precisa de HCl necesaria para neutralizarla, es decir, para ponerla a pH 7. Además, se introdujo una aromatización inicial de los frutos, antes del aliñado, con el uso de una mínima cantidad de esencias en el agua de lavado. Esta aromatización inicial contribuyó, de forma positiva, a potenciar el sabor de los aliños "enmascarados" por el mayor gusto ácido. La pérdida del color no ha podido ser evitada; sin embargo, en el Proyecto en curso (SC00-27-C2), se plantea la obtención de las curvas de destrucción térmica y ácida (pH) de las características de color y textura del fruto. Con ello se obtendrán los valores límites de pH y calentamiento que permiten no dañar irreversiblemente estas características organolépticas.

Hablando ya del proyecto en curso, el SC00-27-C2 y su Proyecto acompañante, el FP00-ALI-03, en colaboración con la Universidad Politécnica de Madrid, giran en torno a la determinación de las condiciones de un proceso térmico de pasterización que destruya o ralentice el crecimiento de microorganismos causantes del deterioro. Para ello es importante saber cómo se calienta una aceituna no fermentada y recién aderezada, con la cubierta cerosa destruida y la epidermis y la pulpa lacerada, y cual es el efecto del calor sobre estos aspectos estructurales.



Para determinar si un proceso de pasterización es eficaz, se hace uso, tradicionalmente, de una sonda de temperatura introducida en el interior de una aceituna deshuesada y colocada en el llamado «punto frío» del envase. El calentamiento del envase cerrado progresa hasta que, según una serie de cálculos, la «cantidad de calor» comunicada (determinada temperatura, mantenida determinado tiempo) alcanza valores establecidos como de «seguridad». En el IMIA se han realizado ensayos preliminares de pasterización haciendo uso del montaje descrito y que se puede observar en la fotografía.

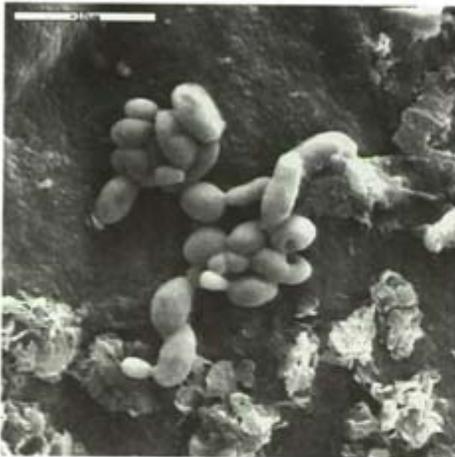
Sin embargo, el propio hecho de deshuesar la aceituna ya introduce un error importante, pues no medimos la temperatura que se alcanza en la pulpa, sino la temperatura de la salmuera.

Por ello, en el Proyecto SC00-27-C2 se plantea la determinación efectiva de la temperatura que se alcanza en las aceitunas de Campo Real sin deshuesar, durante un proceso de pasterización. Para ello se hará uso de termopares de diámetro mínimo. La determinación de las características térmicas del fruto recién aderezado, introducido en la salmuera de aliño, permitirá simular numéricamente el proceso de transmisión de calor. Se hará uso de este modelo para estimar los tiempos y temperaturas de calentamiento más eficaces en la destrucción microbiana y compatibles, a la vez, con el mantenimiento de las características de textura y color.

La colección de cultivos microbianos, aislados de preparaciones de Aceituna de Campo Real, que se mantiene en el IMIA, proporcionará la idea de cuáles son los microorganismos causantes de deterioro y más termorresistentes.

Hasta el momento, los ensayos preliminares de pasterización de frutos y aliño realizados han dado buenos resultados en la conservación, pues las preparaciones han alcanzado seis meses a temperatura ambiente sin deterioro, y sin apenas crecimiento microbiano. Sin embargo, en estos ensayos se hizo uso también de un sistema regulador del pH (láctico/lactato), por lo que es precisa la evaluación del proceso térmico en solitario.

En cualquier caso, la criomicroscopía electrónica de barrido nos ayuda, una vez más, a comprender la eficacia del tratamiento térmico. Las siguientes micrografías corresponden a la superficie de dos frutos, aliñados y conservados durante 6 meses en sus salmueras de envasado correspondientes, ambas con el mismo sistema regulador de pH. La única diferencia es que el fruto de la izquierda NO estaba pasterizado, y el de la derecha sí:



Levaduras gemantes, indicativas de reproducción activa (fruto no pasterizado)



Levaduras muertas por efecto del calor (fruto pasterizado)

8 Las Industrias Aderezadoras y su Control

Dedicamos este capítulo a las industrias que elaboran Aceituna de Campo Real en la Comunidad de Madrid; para los ejemplos de control analítico que se presentan nos hemos centrado, en concreto, en aquellas acogidas a la Denominación de Calidad "Aceitunas de Campo Real", cuya colaboración con el grupo investigador del IMIA ha sido siempre muy estrecha. La semblanza de lo que significa, representa y consigue la Denominación de Calidad se presenta en detalle en el siguiente capítulo.

Actualmente existen 25 empresas inscritas en el Registro de Industrias Agrarias de la Comunidad de Madrid que elaboran Aceituna de Campo Real. De ellas, 14 se hallan asociadas a la Denominación de Calidad en el momento de escribirse esta monografía. Se elaboran aproximadamente 4.188 toneladas anuales de Aceituna de Campo Real y unas 1.050 de otros productos de aderezo (manzanillas, aceitunas negras, kim-bos, elaboraciones especiales con ajo, aceite de oliva, etc). Es decir, la elaboración de Campo Real supone un 75% de la aceituna producida en nuestra Comunidad. Estas industrias están repartidas por 6 municipios: Campo Real (14 industrias), Madrid (área metropolitana, 6 industrias), Fuenlabrada (2 industrias) y Humanes, Aranjuez y Serranillos del Valle, cada uno con 1 elaboradora (Fuertes y Palacios, 1999).

Las características más notables de estas Empresas son:

- Su carácter marcadamente familiar, con predominio absoluto de este tipo de mano de obra. Únicamente las empresas de mayor dimensión recurren a la contratación externa, y la permanencia de los empleados en la Empresa es larga. El carácter familiar hace que vayamos asistiendo a relevos generacionales en las industrias aderezadoras.
- Su pequeña dimensión. Según Fuertes y Palacios (1999), el 44% de las industrias no superan las 100 toneladas anuales de producción, y sólo un 24% superan las 200 toneladas.
- Su carácter artesano, que se traduce en el predominio de procesos manuales. El automatismo, salvo en las empresas más grandes, es muy escaso. La artesanía y el apego a las tradiciones y formas de hacer es máximo en las formas de "cocer" en sosa y en las fórmulas del aliñado. Resalta también el gusto por mantener la utilización de productos completamente naturales para el aliñado.

Hace años, las industrias elaboradoras de Aceituna de Campo Real sólo producían en épocas de campaña: El periodo de producción se ha ido ampliando con la mejora de las condiciones de almacenamiento de la materia prima, del producto semielaborado y con la posibilidad de adquisición de aceituna durante casi todo el año, incluso, de aceituna ya cocida o aderezada en origen. Las elaboradoras de Aceituna de Campo Real suelen cesar la producción de ésta en el periodo de altas temperaturas, debido al problema de conservación del que tanto hemos hablado. En estos momentos se acentúa la producción de otras elaboraciones: fermentadas verdes, negras, rellenas, preparación de encurtidos en vinagre...

De la breve descripción de las industrias aderezadoras de Aceituna de Campo Real que hemos dado se desprende que presentan un marcado carácter tradicional; no obstante, ello no es impedimento para que, poco a poco, estas industrias vayan mejorando las instalaciones y los procesos de producción. La importancia y capacidad generadora de empleo del subsector de la Aceituna de Mesa en nuestra Comunidad impulsa y motiva a muchos empresarios del mismo, jóvenes y menos jóvenes, empeñados en ofrecer un producto de mejor calidad, en aumentar la competitividad de sus industrias y en expandir sus mercados. Un instrumento clave en este proceso ha sido, es, y debe seguir siendo, la Denominación de Calidad.

Para conocer mejor a las industrias aderezadoras y sus procesos hemos realizado un diagrama de flujo genérico de la producción de Aceituna de Campo Real. Los pasos que en él se detallan se encuentran comentados en el Capítulo 3. Como decimos, este diagrama es genérico y generalista; no pretende ser reflejo de ninguna industria en particular y, a la vez, pretende que todas las industrias puedan encontrar en él puntos de asimilación y contacto.

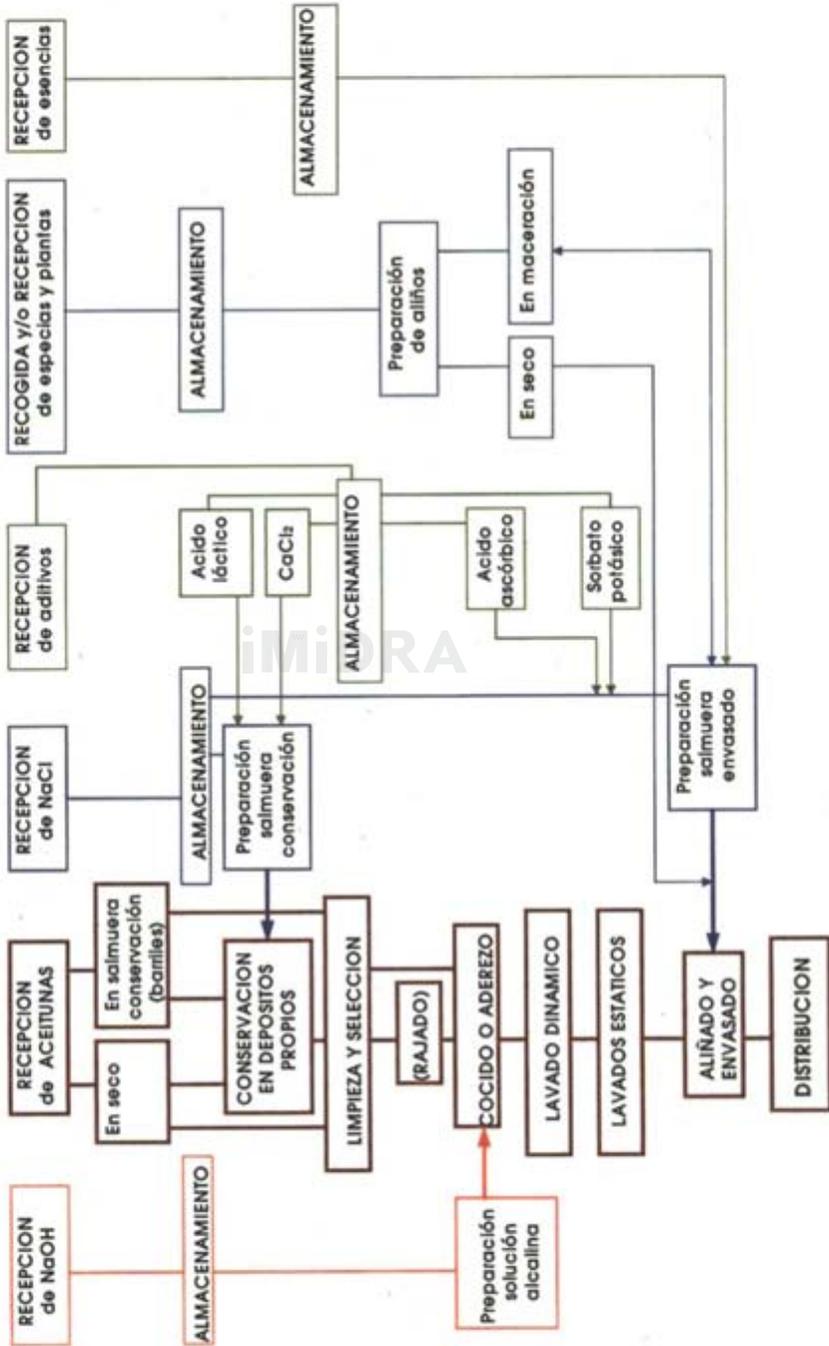
Sobre el diagrama de flujo presentaremos **documentación fotográfica** de algunas empresas aderezadoras tradicionales que nos ilustrarán sobre instalaciones y procesos básicos, sobre mejora de las mismas y sobre algunos problemas de producción y de conservación.

En la línea de mejora de los procesos de producción se encuadra parte de la investigación realizada en el IMIA. A lo largo de estos cuatro años, las visitas a las aderezadoras y las tomas de muestras han sido frecuentes. Los resultados han sido accesibles a los propios productores o bien se han comunicado en reuniones y seminarios. Algunas de las determinaciones realizadas en el IMIA se presentarán aquí en forma de **fichas**, de manera anónima y con un comentario sobre su significado y su importancia. Se indica el paso del diagrama de flujo en el que se ha realizado la analítica.

Por último, y como objetivo final de la mejora de procesos, se propone un modelo de **aplicación del sistema HACCP* de autocontrol** en empresas aderezadoras de Aceituna de Campo Real. Todas las industrias agroalimentarias de la Unión Europea deben contar ya con un sistema HACCP establecido, encaminado fundamentalmente a la prevención de la aparición de riesgos sanitarios en el producto final. Como ya se ha comentado, en las actuales condiciones de elaboración la Aceituna de Campo Real no presenta, habitualmente, microorganismos patógenos. Sin embargo, el sistema HACCP tiene otras ventajas en cuanto a su aplicabilidad como sistema de control de calidad que se comentan en detalle. Una vez más reiteramos que este modelo, desarrollado por una investigadora del IMIA, es sólo eso: un modelo. Cada industria deberá, en su día, desarrollar el suyo propio, basado en su propio diagrama de flujo. Sin embargo, es nuestro deseo que este primer intento sea de utilidad.

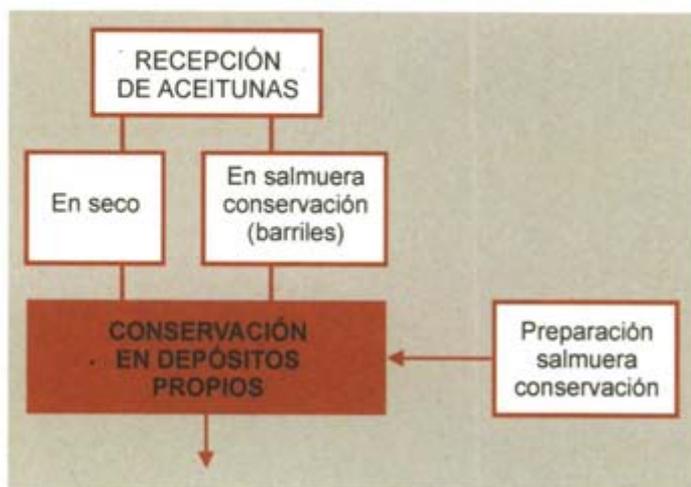
*HACCP: Hazard Assessment and Critical Control Point (Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico)

DIAGRAMA DE FLUJO GENERICO DEL PROCESAMIENTO
"Acelluna de Campo Real"



UN PASEO POR LAS INDUSTRIAS ACEITUNERAS (I)

La conservación del fruto



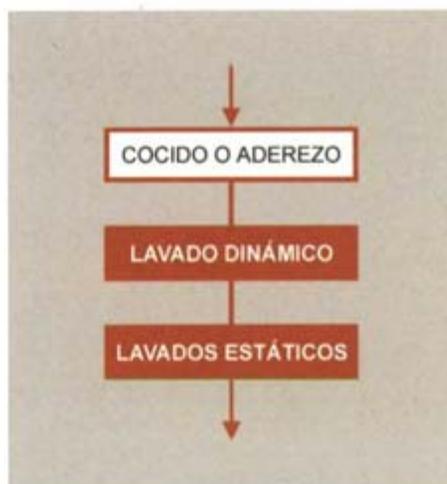
Casi todas las industrias productoras de aceituna de Campo Real poseen depósitos propios para conservar los frutos de aceituna, elaborados a medida que el mercado lo demanda. Todavía hay depósitos subterráneos (A), y depósitos semienterrados (B), que mantienen los frutos a una temperatura baja y constante. Algunas industrias tienen depósitos abiertos de ladrillo pintado (C); y otras se inclinan por los más modernos depósitos de fibra de vidrio (D)



En todos estos depósitos puede darse, como mucho, una fermentación láctica parcial del fruto. Pero son procesos no controlados, por los que se pueden obtener fermentaciones indeseables que estropeen los frutos.

UN PASEO POR LAS INDUSTRIAS ACEITUNERAS (Y II)

Lavando el fruto



En la fotografía aparecen los pilones típicos para el aderezo y el lavado de los frutos de aceituna. Así se encuentran en muchas industrias productoras de Aceituna de Campo Real (A). El agitador metálico se utiliza para remover, periódicamente, los frutos en los procesos de cocido y lavado. Se busca asegurar la homogeneidad del tratamiento.

La fotografía (B) muestra un detalle del lavado de los frutos de aceituna en otra industria. Hay que vigilar las conducciones de agua y que deben ser de tipo alimentario. La formación del cardenillo (flecha) puede ser peligrosa



EL CONTROL ANALÍTICO DE PROCESOS (I)

La recepción y conservación del fruto



Presentamos fichas de control de (1) recepción de fruto traído en seco en camiones a su llegada a la elaboradora de Campo Real, y de dos salmueras de conservación: una, preparada por un productor de aceituna de Campo Real (2), y otra, de los barriles preparados en la zona de origen (3) y mantenidos por el propio productor

- 1** Toma de muestra: aceituna fresca, recién recolectada. En seco. Octubre 97.
 Aspecto general: excelente; verdes, buen calibre, alta textura.
 Muestreo, índice de madurez: Verde: 90%. Color cambiante: 5%. Morado: 5%.
 Frutos/Kg: 235.6 (SD= 5.3)
 Textura: 7004 gramos fuerza (SD= 2129; SE= 301; CV= 30%)
 Color CIE-L*a*b*: L* = 51.8 (SD= 3.2)
 a* = -19.2 (SD= 1.5) para el fruto verde
 b* = 37.09 (SD= 2.4)
- pH del fruto: 6.9 (SD= 0.3)
 Humedad: 74.9% sobre materia fresca
 Grasa: 48.4 % sobre materia seca (12% sobre materia fresca)

- 2** Salmuera de conservación.
 Productor de Aceituna Campo Real (depósito propio).

Analíticas:

- pH = 4.48
- % NaCl = 3.1
- Acidez libre: 0.46 g láctico/100 mL
- Microbiológico (log N/mL):
 - Aerobios totales 7.57
 - Hongos y levaduras: 4.91
 - Enterobacterias: 0.00
 - Lactobacilos: 4.85
- Flora predominante:
 - levaduras ovals y lactobacilos
- Ácidos orgánicos (ppm):
 - Láctico 94
 - Acético 68
 - Succínico 17

Adecuado pH y % sal. Posible inicio de fermentación láctica (olor, contenido en láctico, acidez libre). Las levaduras son aerobias, en la superficie de la salmuera.

- 3** Salmuera de conservación.
 Productor de Aceituna Campo Real.
 (Barriles con salmuera de origen).

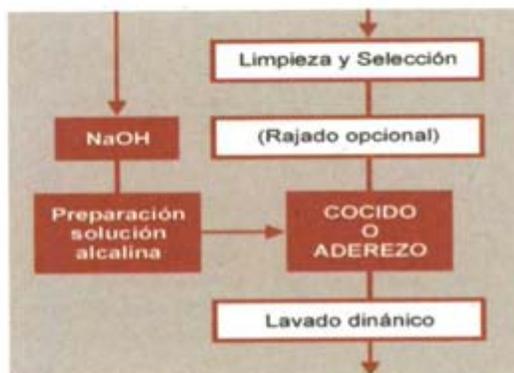
Analíticas:

- pH = 4.78
- % NaCl = 2.58
- Acidez libre: no determinada
- Microbiológico (log N/mL):
 - Aerobios totales 5.87
 - Hongos y levaduras: 6.02
 - Enterobacterias: 0.60
 - Lactobacilos: 5.95
- Flora predominante:
 - levaduras ovals gemantes y lactobacilos
- Ácidos orgánicos (ppm):
 - Láctico 12
 - Acético 20
 - Succínico 6

El pH es más elevado, superior a 4.5 Uds. La concentración de NaCl en el equilibrio es baja. Las levaduras gemantes indican reproducción activa. El contenido en láctico es bajo. Los frutos comenzaban a deteriorarse. Olor a moho.

EL CONTROL ANALÍTICO DE PROCESOS (II)

El aderezo o cocido en sosa



Presentamos una selección de formas diferentes de cocido en sosa, basándonos en las explicaciones de los productores de Aceituna de Campo Real.

Siendo todas iguales, cada una es diferente. Añadimos un comentario y alguna determinación analítica de control.

En general, todas las industrias aderezadoras deberían asegurarse de que la solución de sosa se prepara a la concentración deseada y de manera reproducible, de la correcta disolución de las escamas de sosa y de valorar el grado de hidratación de este producto en la recepción y en el almacenamiento.

Productor 1

Dosisificación:

10 Kg NaOH / depósito de 500 litros

Teórico: NaOH 2.00 %

Valorado: NaOH 1.78%

Possible hidratación de la sosa, con la consiguiente pérdida de riqueza.

Duración del cocido: 9 horas.

Penetración de la sosa: hasta el hueso.

Maquinaria para agitación de la solución de sosa hasta su disolución: SI.

Productor 2

Dosisificación:

1 Kg NaOH / pila con 100 Kg de aceituna.

Añaden la sosa en escamas.

Agitación manual cada 3-4 horas.

No miden el volumen de agua añadida.

Valorado en laboratorio: NaOH 1.64 %.

Duración del cocido: 10-14 horas.

La reacción de disolución de sosa en agua es fuertemente exotérmica. Se generan diferencias importantes de concentración de NaOH. Exige un gran esfuerzo físico por parte del productor.

Productor 3

Dosisificación:

1 Kg NaOH / pila 100 Kg (fruto + agua)

Teórico: NaOH de 3^oBe (= 2.11%)

Valorado: NaOH 2.35%.

Desviaciones en la concentración deseada de sosa:

descalibración del densímetro, comprobada en laboratorio.

Duración del cocido: hasta 2/3 de pulpa.

Hacen control visual en aceitunas con diferente calibre.

Productor 4

Dosisificación:

NaOH 2.11% a 2.77% .

según temperatura ambiente.

Valoración correcta.

Duración del cocido: 8 horas

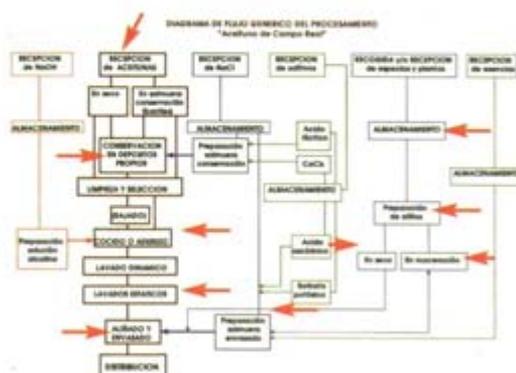
Penetración de la sosa: 2/3 pulpa.

Realizan control visual.

Permiten el «recocado».

EL CONTROL ANALÍTICO DE PROCESOS (Y III)

El Control Microbiológico



Numerosos procesos en la elaboración de la Aceituna de Campo Real realizan un control microbiológico para garantizar la estabilidad y calidad del producto. Entre ellos, la salmuera de conservación, el fruto fresco, las aguas de lavado y los componentes del alifío. La documentación fotográfica ayuda a entender los resultados.

El fruto en conservación

En el interior del fruto, especialmente bajo la piel, pueden encontrarse levaduras y bacterias gram-negativas causantes del deterioro conocido como «alambrado».

En depósitos sospechosos de deterioro se ha investigado la población microbiana presente en una muestra de los frutos.

Cada fruto se homogeneizó en condiciones de completa esterilidad en agua salina estéril. Un alícuota del homogenado se sembró en diferentes medios de cultivo microbiológicos.

Ejemplo de resultados de un depósito de Campo Real sospechoso de estar en alteración (log N/ g fruto deshuesado):

Aerobios totales: 3,87
Hongos y levaduras: 5,01
Enterobacterias: 0,00
Lactobacilos: 2,27

El análisis microbiológico sugiere la presencia de levaduras fermentativas.



La salmuera de conservación

Ya hemos hablado de la necesidad de conocer y controlar la población microbiana que se desarrolla sobre el fruto en conservación.

En general, los valores bajos de pH y un contenido adecuado en sal garantizan la conservación adecuada y el desarrollo parcial de una fermentación láctica no perjudicial.

En **este depósito** se desarrolló una capa espesísima de levaduras oxidativas superficiales. Impedían la difusión adecuada de oxígeno y su actividad metabólica reducía la acidez de la salmuera, iniciando el deterioro.



El agua de lavado

El agua empleada en la elaboración de la Aceituna de Campo Real es de adecuada calidad microbiológica, al tratarse de agua de la red general o de pozos de agua potable. Sin que haya peligro de microorganismos patógenos, también hay que vigilar el estado microbiológico de los depósitos y pilones de almacenamiento y procesado: en este caso, la carga de aerobios totales en el agua de lavado se incrementaba por un factor de **10** sólo por recoger agua de la red en un pilón. No había hongos, levaduras ni enterobacterias.



Los ingredientes del aliño

Aliño en seco (log N /g aliño)

Ajo machacado, tomillo, hinojo, laurel, cominos
Aerobios totales: 4,43

Hongos y levaduras: 3,23

Enterobacterias: 2,72

Lactobacilos: 2,67

La carga microbiana es importante; destaca la presencia de enterobacterias y de hongos y levaduras. Con estos microorganismos se introducen los factores responsables del deterioro del producto final.

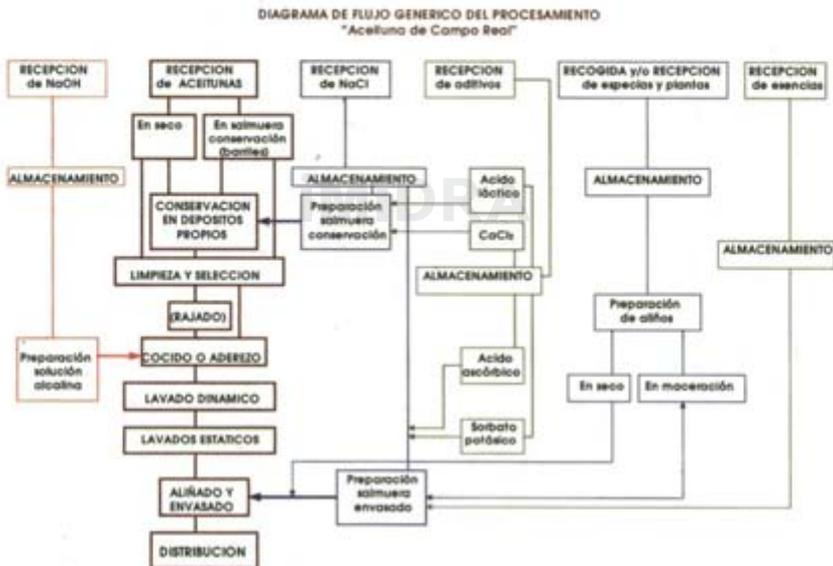


EJEMPLO DE APLICACIÓN DEL SISTEMA HACCP EN LA ELABORACIÓN DE ACEITUNA DE CAMPO REAL

Introducción y Conceptos

Las Aceitunas de Campo Real son un producto concebido para el consumo en fresco y destinado a todos los públicos. El sistema HACCP está diseñado como una forma sencilla y lógica de implementar un sistema de autocontrol que garantice la seguridad sanitaria del alimento. Basándonos en este mismo principio abordaremos, asimismo, una serie de factores determinantes en la CALIDAD, aunque el sistema no esté específicamente diseñado para ello. Con ello pretendemos garantizar una serie de aspectos organolépticos que, si bien no suponen ningún riesgo para el consumidor, son un factor importante a la hora de la expansión comercial.

El sistema HACCP parte del diseño, lo más exhaustivo posible, del diagrama de flujo:



Se comienza por enumerar, para cada ETAPA del diagrama de flujo, los posibles PELIGROS sanitarios y/o tecnológicos que puedan aparecer (y que pueden reflejarse en la calidad final del producto).

A continuación se establecen las MEDIDAS PREVENTIVAS encaminadas a eliminar o reducir hasta un nivel aceptable los posibles peligros.

El paso siguiente es determinar qué etapas constituyen PUNTOS CRÍTICOS en el control del proceso. Para ello se recurre a la aplicación sistemática de un árbol de decisiones. Un esquema de uno de los posibles se suministra como herramienta de trabajo (Fernández-Crespo y Valcárcel, 2000).

ETAPA	TIPO	PELIGROS	DESCRIPCIÓN	MEDIDAS PREVENTIVAS	PCC	LÍMITE CRÍTICO	SISTEMA	VIGILANCIA FRECUENCIA	ACCIÓN CORRECTORA	VERIFIC.	REGISTRO
	Físico		Materias extrañas mezcladas con los frutos (piedras, palos, tierra, insectos, otros)	Homologación de los proveedores	No	—	—	—	—	—	—
	Químico		Residuos toxicológicos en el fruto: fitosanitarios, fertilizantes, otros	Homologación de los proveedores	No	—	—	—	—	—	—
Compra y recepción de aceituna											
	Micro biológico		Elevada carga microbiana por mal transporte o almacenamiento previo	Homologación de proveedor y homologación de transportista	No	—	—	—	—	—	—
	Tecnológico o cualitativo		Deterioro por golpes, picaduras de insectos, bajo calibre, baja textura, incorrecto índice de madurez (color)	Homologación de los proveedores	No	—	—	—	—	—	—

ETAPA	PELIGROS TIPO	DESCRIPCIÓN	MEDIDAS PREVENTIVAS	PCC	LÍMITE CRÍTICO	VIGILANCIA SISTEMA	FRECUENCIA	ACCIÓN CORRECTORA	VERIFIC.	REGISTRO
	Físico	Materias extrañas (piedras, palos, tierra, insectos, otros)	Homologación de los proveedores	No	—	—	—	—	—	—
Recepción y almacenamiento de la sal	Químico	Residuos	Homologación de los proveedores	No	—	—	—	—	—	—
	Tecnológico o cualitativo	Sal hidratada	Homologación de los proveedores	No	—	—	—	—	—	—
	Físico	Utilización de contenedores con defectos de integridad	Programa de mantenimiento y renovación	No	—	—	—	—	—	—
Recepción y almacenamiento de NaOH	Tecnológico o cualitativo	Hidratación de NaOH y pérdida de riqueza	Condiciones correctas. Envases adecuados y cerrados	No	—	—	—	—	—	—

ETAPA	PELIGROS TIPO	DESCRIPCIÓN	MEDIDAS PREVENTIVAS	PCC	LIMITE CRITICO	SISTEMA VIGILANCIA	FRECUENCIA	ACCIÓN CORRECTORA	VERIFIC.	REGISTRO
	Físico	Permanencia de materias extrañas (piedras, cristal, plásticos)	B.P.F. Sistema de filtrado	Sí	Ausencia	Control visual	Continuo durante la etapa	Eliminar materias extrañas o sospechosas Operario	Toma de muestras. 3 tomas/ partida	Registro de la inspección visual y estado de la malla de filtrado
Limpieza, escogido y clasificación	Micro biológico	Proliferación microbiana por higiene deficiente de equipos o materiales	Programa de limpieza y mantenimiento	No	—	—	—	—	—	—
		Contaminación y/o proliferación microbiana por inadecuada manipulación	B.P.F.	No	—	—	—	—	—	—
Tecnológico o cualitativo	Mala selección	B.P.F.	Sí	Cumplimiento de la normativa	Control visual	Continuo durante la etapa	Eliminar frutos no acordes Operario	Toma de muestras: color, calibre, textura. 3 tomas/ partida	Registro de la inspección visual. Registro resultados analíticos	

ETAPA	PELIGROS TIPO	DESCRIPCIÓN	MEDIDAS PREVENTIVAS	PCC	LIMITE CRITICO	VIGILANCIA SISTEMA	FRECUENCIA	ACCIÓN CORRECTORA	VERIFIC.	REGISTRO
	Físico	Depósitos con fallos de integridad	Programa de mantenimiento	No	—	—	—	—	—	—
Lavado dinámico de la acetuna	Químico	Restos de detergentes y/o desinfectantes Residuos tóxicos en conducciones	Programa de mantenimiento y/o Plan de limpieza Instalaciones de uso alimentario	No	—	—	—	—	—	—
	Micro biológico	Contaminación por incorrecta higiene del pilón Contaminación microbiológica de aguas (pozos)	Programa de limpieza Agua potable (autorización sanitaria). Plan de limpieza y desinfección de conducciones	Si	AUSENCIA patógenos, materia fecal y orgánica. Límites poblaciones microbianas compatibles con no deterioro	Inspección visual, olor	1 vez/ semana	Restablecimiento condiciones salmuera: pH, sal, conservantes	Toma de muestras para análisis microbiológico 1 toma/ semana	Registro de las observaciones Registro resultados analíticos
	Tecnológico o cualitativo	Lavado incorrecto: poca eliminación de NaOH	B.P.F.	No	—	—	—	—	—	—

ETAPA	TIPO PELIGROS	DESCRIPCIÓN	MEDIDAS PREVENTIVAS	PCC	LIMITE CRÍTICO	SISTEMA VIGILANCIA	FRECUENCIA	ACCIÓN CORRECTORA	VERIFIC.	REGISTRO
	Físico	Depósitos con fallos de integridad	Programa de mantenimiento	No	—	—	—	—	—	—
	Químico	Restos de detergentes y/o desinfectantes Residuos tóxicos en conducciones	Programa de mantenimiento y/o Plan de limpieza Instalaciones de uso alimentario	No	—	—	—	—	—	—
Lavados estáticos de la aceituna	Microbiológico	Contaminación por incorrecta higiene del pilón Contaminación microbiológica de aguas (pozos)	Programa de limpieza Agua potable (autorización sanitaria). Plan de limpieza y desinfección de conducciones	Si	—	Inspección visual, olor	1 vez/semana	Restablecimiento condiciones salmuera: pH, sal, conservantes Responsable de Calidad	Toma de muestras para análisis microbiológico 1 toma/semana	Registro de las observaciones Registro resultados analíticos
Tecnológico o cualitativo	Lavado incorrecto: poca eliminación de NaOH excesivo ablandamiento	B.P.F.: • Empleo de HCl • Empleo de Ca ⁺⁺ • Empleo de aditivos	Características del fruto APTAS para alifado final	Si	—	Inspección visual, textural, de lavado de NaOH	Inicio, 1/2 lavado y final de cada lavado	Restablecimiento de condiciones de lavado Responsable de Calidad	Toma de muestras de frutos (color, textura) Final de cada lavado	Registro de las observaciones Registro resultados analíticos

ETAPA	TIPO	PELIGROS	DESCRIPCIÓN	MEDIDAS PREVENTIVAS	PCC	LIMITE CRITICO	SISTEMA	VIGILANCIA FRECUENCIA	ACCIÓN CORRECTORA	VERIFIC.	REGISTRO
			Depósitos y/o recipientes con fallos de integridad	Programa de mantenimiento	Si	AUSENCIA de cuerpos extraños	Inspección visual	Continua durante la etapa	Eliminación del cuerpo extraño	Toma de muestras	Registro de las observaciones
	Físico		Materias extrañas en los alifos	Homologación de proveedores y/o B.P.F.	Si	procedentes de ingredientes y/o recipientes			Operario	1 vez/partida	Registro resultados analíticos
			Residuos tóxicos en material vegetal de alifos y/o depósitos	Homologación de proveedores y B.P.F.	Si	AUSENCIA	B.P.F. (color, olor, aspecto)	Continua durante la etapa	Deshomologación del proveedor. Búsqueda de nueva zona de recogida de material de alifos.	Toma de muestras	Registro de las observaciones
	Químico		Residuos en envases finales	Programa de mantenimiento y Plan de limpieza. Instalaciones de uso alimentario	Si				Deshomologación del proveedor de envases. Responsable de calidad	1 vez/partida	Registro resultados analíticos
			Contaminación por presencia de microorganismos en los ingredientes del alifos	Homologación de proveedores	Si	AUSENCIA patógenos, materia fecal y orgánica. Límites poblaciones microbianas compatibles con no deterioro	Inspección visual, olor	Continua durante el uso	Desechar partidas sospechosas	Toma de muestras para análisis microbiológico	Registro de las observaciones
	Micro-biológico				Si				Responsable de Calidad	1 toma/partida, semana	Registro resultados analíticos

ETAPA	PELIGROS TIPO	DESCRIPCIÓN	MEDIDAS PREVENTIVAS	PCC	LÍMITE CRÍTICO	SISTEMA VIGILANCIA	FRECUENCIA	ACCIÓN CORRECTORA	VERIFIC.	REGISTRO
Alfado de la aceituna (continuación)		Contaminación por incorrecta higiene del pilón de alfado	Plan de limpieza y desinfección de conductores, pilones y depósitos		AUSENCIA patógenos, materia fecal y orgánica. Límites poblaciones microbianas compatibles con no deterioro	Inspección visual, aspecto	En cada uso	Ejecución del plan de limpieza (Operario)	Toma de muestras (microb.) 1 vez/mes	Registro de las observaciones
	Micro biológico (continuación)	Contaminación microbiológica de aguas (pozos)	Agua potable (autorización sanitaria)	SI		—	—	—	Toma de muestras (microb.) 1 vez/mes	Registro resultados analíticos
		Contaminación de las instalaciones por vectores	Plan PDD		AUSENCIA de vectores	Inspección visual	Continua	Ejecución Plan PDD (Responsable de Calidad)	Ausencia de vectores	
	Tecnológico o cualitativo	Condiciones de salmuera de envasado favorecedoras de desarrollo microbiano	B.P.F.: <ul style="list-style-type: none"> • pH • % NaCl • Empleo de Ca⁺⁺ • Empleo de aditivos • Temperatura 	SI	Desarrollo microbiano compatible con no deterioro	B.P.F.	Continua	Restablecimiento de condiciones de salmuera	Toma de muestras de frutos (color, textura) y de salmuera	Registro de las observaciones
								Responsable de Calidad	1 vez/partida	Registro resultados analíticos

9 La Creación de la Denominación de Calidad

Corría el día 10 de febrero del año 1995. En una reunión celebrada en el Ayuntamiento de Campo Real, un grupo de personas se esforzaba por definir y encontrar soluciones a los problemas del Sector de Aderezo de Aceituna de Campo Real. Entre esas personas se encontraba el Director General de Agricultura y Alimentación de la Comunidad de Madrid, el Sr. Alcalde de Campo Real y un nutrido grupo de industriales aderezadores.

El objetivo prioritario compartido por todos fue la creación de una Denominación de Calidad para la Aceituna de Mesa "Campo Real". En este proyecto se confiaba por partida doble: como forma de controlar y garantizar la calidad tradicional de un producto de renombre, y para la defensa contra la utilización abusiva e indiscriminada del nombre "Campo Real". De esta reunión inicial nació una Comisión, formada por industriales del aderezo y técnicos de la Dirección General de Agricultura y Alimentación, para la elaboración de un Anteproyecto de Reglamento de la Futura Denominación.

Y así se fue, poco a poco, dando carta de naturaleza al buen hacer tradicional de muchas empresas aderezadoras. El Reglamento de la Denominación de Calidad específica y vigila todas las operaciones y prácticas permitidas y exigidas para la elaboración de una "Aceituna de Campo Real" de primerísima calidad. Muchas de estas prácticas se han ido detallando, explicando y comentando en esta monografía, desde el punto de vista de la tradición y de los investigadores implicados. Porque, desde aquel año 1995, la Denominación de Calidad y la investigación en el actual IMIA han tenido muchos contactos.

No vamos aquí a transcribir el Reglamento de la Denominación de Calidad; el lector que lo desee puede hacer uso de las referencias del Anexo II. Resumiendo podemos decir que vigila todas las etapas de la elaboración, con control por parte del Órgano Gestor de la Denominación de Calidad en los siguientes puntos:

- en la adquisición de materia prima,
- en la conservación del fruto,
- en los productos utilizados para el aliño,
- en el envasado y etiquetado y
- en la comercialización.

En lo referente a los dos últimos puntos, el contenido de cada envase debe ser homogéneo. La Denominación de Calidad ha establecido unos envases tipo que deben ser utilizados por los asociados, en busca de una cierta imagen "común" que distinga a estos productores de aquellos cuyo producto no se controla. Las aceitunas deben pertenecer a la misma variedad, admitiéndose como máximo un 30% de los frutos de color completamente negro. Asimismo, los frutos contenidos en un mismo envase deben ser de calibre uniforme, con un máximo de 280 fru-

tos/kg —como ya se indicó en el Capítulo 2—. La Denominación de Calidad fijó asimismo sus tolerancias: un 3% de exceso de frutos negros y un 5% de frutos del calibre inmediatamente superior.

Tras el Anteproyecto de Reglamento, en la Orden 511/1995 de 17 de abril del Boletín Oficial de la Comunidad Autónoma de Madrid (BOCM) se reconoció la Denominación de Calidad "Aceitunas de Campo Real", y se constituyó su Órgano Gestor. En aquel momento, el Órgano Gestor provisional quedó compuesto por:

D. Antonio Barruz Gómez (Presidente)

D. Jose M^a Martínez González

D. Juan Antonio González Leiras

D. Epifanio González de Toro

D. Jose M^a Guerra Martínez

D. Jesús Timón Domínguez

Estos industriales emprendedores y otras tantas empresas asociadas iniciaron la marcha de la Denominación de Calidad. A lo largo de estos años, la Denominación de Calidad "Aceitunas de Campo Real" se ha mostrado dinámica y emprendedora, realizando un muy importante esfuerzo en dar a conocer el producto sin el mínimo menoscabo de su calidad. La Denominación de Calidad está presente en las más importantes Ferias y Certámenes de Alimentación, en la Comunidad de Madrid y a nivel nacional. Incluso han presentado las aceitunas de Campo Real como un producto cardiosaludable, buscando la reducción de su contenido en sal.

Los carteles y su logotipo comienzan a ser muy familiares para muchos consumidores. Si usted quiere calidad en las aceitunas de Campo Real que compra, busque esta contraetiqueta. En ella debe aparecer un número de control, señal de la autenticación del producto. Las contraetiquetas numeradas las suministra el propio Órgano Gestor de la Denominación de Calidad.

Actualmente hay asociadas 14 empresas, cuyos datos facilitamos y cuya colaboración agradecemos:

Aceitunas Barruz S.A.
Camino Alto de la Carrera, 9
28940 Fuenlabrada
Tlf. 91 607 53 54/ 54 14
FAX 91 607 85.76

Aceitunas "El Guinda"
Camino de Loeches, 14
28510 Campo Real
Tlf./FAX 91 873 33 41

Hnos. Martínez González C.B.
C/ Vilches, 58
28510 Campo Real
Tlf. 91 873 35 66, 91 409 19 17

Aceitunas Guerra C.B.
C/ Pirotecnia, 33
28052 Madrid
Tlf./FAX 91 776 42 03

Aceitunas y Encurtidos J.L. González
Ctra. del Villar Km 0.300 Nave 9
28510 Campo Real
Tlf. 91 873 31 61

Aceitunas Uceda S.L.
C/ Vilches, 17
28510 Campo Real
Tlf. 91 873 35 67



**Aceitunas
de
Campo Real**

• DENOMINACION DE CALIDAD •

Benedicto Timón e Hijos S.L.
C/ Paravicanos 6 y 8
28039 Madrid
Tlf. (91) 459 14 67
FAX (91) 311 58 36

Aceitunas González S.L.
C/ Príncipe, 23
28510 Campo Real
Tlf. (91) 873 30 66 / 33 22

Aceitunas Hermanos Viso, S.L.
Ctra. Moraleja de Enmedio Km 4,100
Polígono Industrial "Los Calahorros", nave 3
28960 Humanes
Tlf. (91) 690 43 72

Hijos de Segundo González S.L.
C/ Cuevas, 1
28510 Campo Real
Tlf. (91) 873 31 56

Eladio Varona Varona
Camino del Juncal s/n
28100 Alcobendas
Tlf. (91) 652 07 44
FAX (91) 652 06 71

Aceitunas Marcial
C/ Pirotecnia, 34
28052 Madrid
Tlf./FAX (91) 776 69 94

Aderezos Campo Real S.L.
C/ Vilches, 24
28510 Campo Real
Tlf. (91) 873 30 65

Bernabé e Hijos S.L.
Camino del Monte, 1
28510 Campo Real
Tlf. (91) 873 36 16

En definitiva, con el reconocimiento de la Denominación de Calidad se protegen por un lado, los derechos de los consumidores, a los que se garantiza un producto natural, tradicional y de alta calidad; por otro, los de los industriales elaboradores de la Comunidad de Madrid, los que han "tirado del carro", poniendo sabiduría y esfuerzo, personal y económico, para crear y realzar el nombre de la Aceituna de Campo Real.



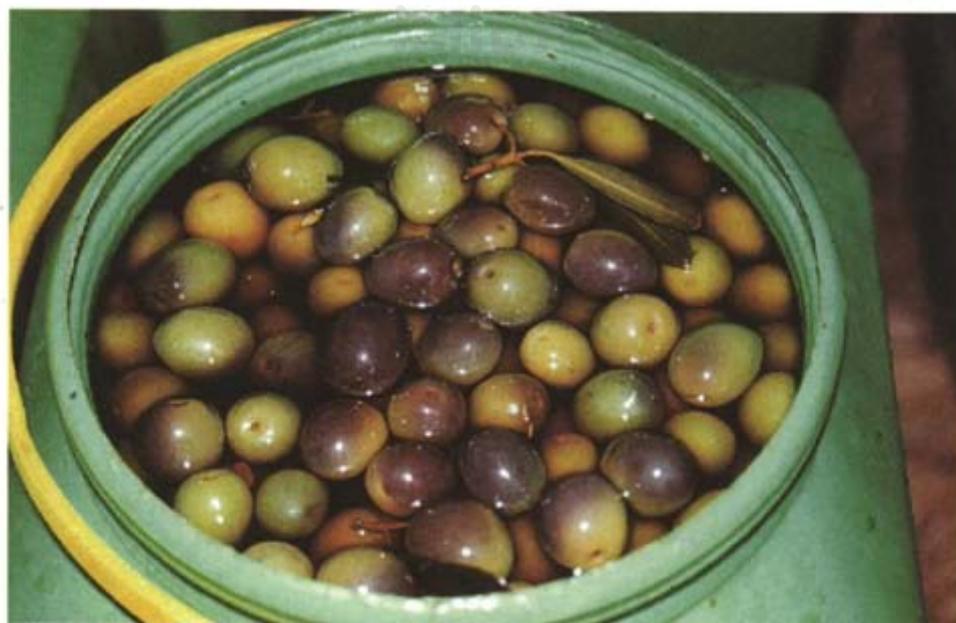
10 El Futuro del Sector: Los Consumidores, los Mercados, las Regulaciones y el Medio Ambiente

Las empresas elaboradoras de Aceituna de Mesa constituyen, en nuestra Comunidad, un Sector dinámico y con buenas perspectivas de futuro. Día a día, la Aceituna de Mesa gana consumidores en el mercado nacional e internacional. Como hemos visto, es un producto saludable y nutritivamente equilibrado. Sin duda la expansión del Sector, como en el caso de los restantes productos agroalimentarios en las sociedades urbanas, va de la mano de una calidad garantizada. Todos los productos de calidad aumentan su valor añadido bajo el amparo de las Denominaciones (Fuertes y Palacios, 1999). En el caso de la Aceituna de Campo Real, sin duda la creación de la Denominación de Calidad, con un Órgano Gestor dinámico y emprendedor, ha hecho mucho por extender el conocimiento moderno de un producto tradicional. La solicitud de constituirse como Indicación Geográfica Protegida, en el seno de la UE, es otro esfuerzo de la Denominación de Calidad que en fechas próximas se hará realidad, como se ha comentado en el capítulo anterior.

Naturalmente, Madrid es el gran mercado nacional, con una acumulación de población en el área metropolitana que ronda los 5 millones de personas. La Aceituna de Campo Real es ya muy conocida y apreciada en nuestra Comunidad; por ello, sus productores se afanan en conservar este mercado basándose en la tradición y en mantener los caracteres organolépticos identificativos del producto, a la vez que buscan la introducción en otros mercados nacionales y la posibilidad de la exportación. Para ello se precisa, indiscutiblemente, una buena política de mercado, que publicite y de a conocer un producto tan característico; pero a la vez, y no menos importante, es la resolución del problema de la conservación del producto.

Quizá, como ya se ha avanzado en esta monografía, la extensión a mercados menos acostumbrados a las características de la Aceituna de Campo Real permita la introducción de modificaciones como el control del pH que, sin alterar sustancialmente el producto, permitan que éste extienda su vida útil con garantías de durabilidad. Serán los propios productores los que decidan el futuro y la expansión de sus productos.

La extensión de los mercados, aquí mismo, en Madrid, pasa también por el desarrollo de variantes productivas. Algunas de estas variantes van encaminadas a ofrecer más variedad, a introducir elementos de novedad y —por qué no decirlo— de "diversión", a la hora de comprar la Aceituna de Campo Real, que tanto gusta en casa en el aperitivo. Como muestra del dinamismo del Sector en el desarrollo de variantes, podemos citar la "Campo Real Verde", ya en la calle, ofertada por varios productores. Esta variante es producida con frutos de inicio de campaña, intensamente verdes, cocidos en una disolución de sosa suave y no lavados en su totalidad. Tras el segundo lavado se mantiene en cámara frigorífica, en una salmuera con 10° B de concentración salina (10,75% NaCl). Para vender se retira esta salmuera y se añade otra de aliño, con productos naturales y 5% NaCl, al estilo tradicional. Este es el aspecto que ofrece la Campo Real Verde en la cámara:



*Aceituna "Campo Real Verde": aspecto de la preparación aliñada y lista para la venta (foto superior).
Frutos en la cámara, mostrando oscurecimiento oxidativo por exposición al aire, indicativo
de su actividad metabólica (foto inferior)*

Otras variantes se destinan a grupos de consumidores en los que antes no se había pensado: sencillamente, no eran consumidores. Un grupo claro lo constituye, en este caso, la población hipertensa, a la que el contenido en sal (5%) de las preparaciones convierte este alimento en prohibido. Sin embargo, la Denominación de Calidad y sus empresas asociadas comienzan a abordar el reto de productos más bajos en sal, presentados asimismo como alimentos cardiosaludables con el respaldo de Organizaciones sanitarias. Sin duda la aceituna puede ser un alimento cardiosaludable, pues su consumo supone la ingesta de ácido oleico sin ningún tratamiento térmico desnaturalizante. El ácido oleico, en el que es rico el aceite de oliva, se cita como compuesto que —como decimos ahora— "sube el colesterol bueno". Vamos a aclarar que el "bueno" es el HDL que aparece en los análisis; en estas moléculas de *lipo(grasa)proteínas*, hay bastantes proteínas (de mayor densidad) en relación a la grasa (colesterol, baja densidad) que transportan. Las moléculas de lipoproteína son así de elevada densidad (High-Density-Lipoproteins) y no se acumulan en nuestras arterias, siendo además el mecanismo por el que nuestro organismo se libra del exceso de colesterol (siempre que lo "maneje" bien). Por ello se recomienda la ingesta de aceite de oliva crudo, tal como se hacía —y se hace— en la famosa "dieta mediterránea". De la que, por cierto, las aceitunas forman parte desde tiempo inmemorial.



Las sencillas aceitunas pueden ser un alimento calórico y saludable

Además de reducir el contenido en sal, también existen consumidores a los que la sosa que difunde desde los frutos puede no sentar muy bien. A lo largo de estos años, nos hemos encontrado, en coloquios y seminarios, con personas que rechazan el tratamiento alcalino y cuentan que el desamargado "natural", mediante cambios perió-

dicos de agua, se ha hecho tradicionalmente, en pequeña escala, con buenos resultados. Indudablemente, para los consumidores preocupados por la ingesta de alimentos muy naturales, y —además— por los vertidos cáusticos, el tratamiento con sosa no es atractivo. Sin embargo, como ya se ha indicado en otros capítulos, a la mayoría de los consumidores les es organolépticamente atractivo el regusto dulce, levemente jabonoso, de la sosa residual del fruto.

El desamargado en agua requiere de la práctica del rajado para asegurar la penetración del líquido al interior de la aceituna. Como ya hemos visto, el rajado presenta ventajas y, también, muchos inconvenientes, al constituir una agresión estructural al fruto. La utilización únicamente de agua puede resultar en la obtención de un producto de los que hoy llamaríamos "ecológico". La adopción de las normas dictadas por el Consejo Regulador de Agricultura Ecológica (C.R.A.E.), en lo referente al manejo del olivar y al procesado para dar aceituna de mesa "Campo Real", puede proporcionar un producto susceptible de acogerse a esta Denominación. Se podría plantear la utilización de algún ingrediente que ayudara a garantizar el acceso del agua al interior del fruto, por la disolución de la cubierta cerosa, o un tratamiento mecánico menos drástico que el rajado. Los alimentos ecológicos tienen un amplio mercado potencial.

Estas pueden ser, entre otras, algunas de las variantes productivas que es posible desarrollar sobre la Aceituna de Campo Real. El estudio y optimización de sus posibles procesos productivos se contemplan en el Proyecto SC00-27-C2, a realizar en el cuatrienio 2000-2003.

Directamente relacionado con la expansión de mercados se encuentra el problema de la conservación del producto. Es deseable presentar un producto final en envases pequeños para el consumidor final que vayan sustituyendo paulatinamente a los graneles. Los graneles son de muy difícil control, al poderse rellenar o mezclar el contenido con otra aceituna de inferior calidad a la de Campo Real, o aprovechar la salmuerita de aliño para aromatizar otra aceituna. Además pueden también presentar problemas respecto a su control sanitario. Es por ello deseable conseguir un producto final que pueda llevar el nombre de *Aceituna de Campo Real* avalado por la contraetiqueta y el control del Órgano Gestor de la Denominación de Calidad, con elementos comunes de identificación de ese producto de calidad para el consumidor final: el tipo de envase, los colores... Hagamos mención aquí de la copia del producto y utilización del nombre por parte de algunos industriales de Andalucía y Extremadura.

Para poder envasar en pequeñas cantidades y en envases controlados es preciso garantizar la durabilidad del producto. Como ya se ha indicado, las estrategias de conservación abordadas permiten la estabilidad de las preparaciones 2-3 meses (pasterización de aliños, refrigeración) o indefinidamente (control del pH), pero, en este último caso, con modificación del aroma y color del fruto, que se asemeja más a la manzanilla sevillana de lo que los productores de Aceituna de Campo Real desean.

Muchos de los aspectos comentados pasan por resolver uno de los problemas del sector productor de Aceituna de Campo Real: la falta de capitalización de las empresas, que dificulta la modernización de las instalaciones, la promoción adecuada del producto y su distribución en envases más pequeños que resalten la presentación de la aceituna. Debe reconocerse, en este punto, que incluso industrias modestas han hecho esfuerzos financieros para la adquisición de maquinaria de envasado, en algunos casos destinada a cubrir la demanda de una gran superficie que no se llegó

a concretar. En general, la mayoría va introduciendo una mayor racionalización en la distribución de la superficie industrial para la recepción, la elaboración y el envasado. Algunos todavía realizan la venta en el mismo local donde producen, pero son los menos. Poco a poco, se intenta incrementar la competitividad de esta industria, que proporciona trabajo a un buen número de familias en unas zonas de nuestra Comunidad alejadas de los tradicionales focos tecnológicos e industriales.



El agua cristalina del manantial de Campo Real

En estos momentos de sensibilización medioambiental, aparece otro problema que todas las empresas elaboradoras de aceituna deben enfrentar desde ahora: la reducción de los vertidos cáusticos y salinos. Es posible que se haga necesaria la adquisición de maquinaria encaminada al tratamiento de dichos vertidos, pues los cánones de depuración por una actividad industrial generadora de residuos pueden hacer muy gravosa dicha actividad.

La actual política medioambiental intenta que sean las propias empresas las que garanticen que sus vertidos no deterioran el medio ambiente, sin duda nuestro más importante patrimonio común.

Existe numerosa bibliografía sobre posibles formas de reducción de efluentes en el proceso de aderezo de la aceituna de mesa. Para una revisión general remitimos al lector a la obra de Fernández-Díez *et al.*, (1985) "Biotecnología de la Aceituna de Mesa". Además de la visión que se ofrece en este libro, aparecen continuamente procedimientos de depuración, algunos de los cuales se evaluarán inicialmente en el Proyecto SC00-27-C2, que contempla la atención medioambiental en el proceso de la Aceituna de Campo Real y en el desarrollo de sus variantes productivas.

Las medidas más importantes de reducción de vertidos contemplan la reutilización de las soluciones de sosa para el aderezo, la reutilización de aguas de lavado y la reducción de su volumen al mínimo (Garrido *et al.*, 1979). Hoy en día el agua es un bien escaso. Entre las medidas de depuración o de tratamiento, se puede plantear la neutralización de la sosa, de las cargas de azúcares reductores o de compuestos fenólicos. Se ha propuesto la utilización de carbón activo y ultrafiltración para la recuperación de salmueras de fermentación de aceituna verde (Garrido *et al.*, 1992). Todos los procesos presentan inconvenientes que es preciso estudiar en detalle; sobre el proceso propio de la Aceituna de Campo Real, recordemos que no se realiza ningún paso fermentativo. Este es un paso crítico en el procesado de aceitunas al estilo sevillano, que condiciona la posibilidad y la eficacia de los mencionados tratamientos reductores de vertidos, pues siempre se debe asegurar el correcto desarrollo de la fermentación. Se puede evaluar, asimismo, la aplicación de métodos actualmente utilizados en el tratamiento de aguas residuales de almazara (Benítez *et al.*, 1996), que comprende ozonización y degradación biológica en condiciones aerobias o anaerobias.

En cualquier caso, el desarrollo prometedor del Sector de Aderezo de Aceituna de Campo Real en la Comunidad de Madrid, ligado a la calidad garantizada y controlada del producto, a su tradición, a la innovación de la mano de los produc-

tores y de la investigación aplicada, a la búsqueda de nuevos mercados y grupos de consumidores, tiene que venir acompañado del desarrollo tecnológico que garantice una actividad industrial respetuosa con nuestro medio ambiente. Sin duda todos saldremos ganando. Esperamos que les gusten las Aceitunas de Campo Real.



Anexos

iMiDRA

iMiDRA

Anexo I

Metodología Analítica e Instrumentación

I. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Los análisis microbiológicos se realizaron, en la mayoría de las ocasiones, de las salmueras de conservación o aliñado. En determinadas ocasiones se procedió a la toma de muestras, en condiciones de completa esterilidad, del interior de los frutos.

TÉCNICAS

Para el recuento o enumeración de microorganismos viables se realizaron diluciones decimales de las salmueras, utilizando posteriormente la siembra (i) por vertido en placa y/o (ii) por extensión en superficie.



Técnica de diluciones decimales

RECUESTO DE MICROORGANISMOS POR DILUCIONES DECIMALES.

Esta técnica permite conocer el nº de microorganismos viables en una determinada muestra. **La viabilidad se define en Microbiología como la capacidad del microorganismo para multiplicarse en un medio sólido formando una colonia.** Por ello, los resultados se expresan como número de UFCs (unidades formadoras de colonias) por mL de medio. Al alcanzarse generalmente valores muy elevados, la forma más usual de expresión de resultados es mediante el logaritmo decimal: $\log(n^\circ \text{ UFCs}) / \text{mL}$. El objetivo perseguido con las diluciones decimales es obtener una/s diluciones óptimas que proporcionen recuentos superiores a 30 e inferiores a 300 ufc por placa.

Para la preparación del medio de dilución se utilizó NaCl 0,85% (p/v) en agua destilada. Para cada dilución se usaron 9 mL de solución salina en tubos de ensayo de

20 mL con tapones de plástico, esterilizados en autoclave (121°C 15 min) y enfriados antes de su uso. Se añadió al primero 1 mL de la muestra problema en condiciones de esterilidad. Tras flamear el borde del tubo, se tapó y agitó en vórtex para asegurar la dispersión homogénea de los microorganismos en el medio. Inmediatamente tras la dispersión se tomó 1 mL de este tubo que se añadió al siguiente, obteniendo la siguiente dilución decimal. El procedimiento se repitió hasta alcanzar el grado de dilución previsto.

SIEMBRA POR HOMOGENEIZACIÓN O VERTIDO EN PLACA. La siembra por vertido se realizó para las enumeraciones de *Enterobacteriaceae* y *Lactobacillus*. La adición de una segunda capa de medio sobre el inicial inoculado asegura un cierto grado de anaerobiosis, necesario para el crecimiento activo de los microorganismos. Tras la adición de 1 mL de la dilución deseada sobre la placa, se vertió una capa del medio de cultivo, esterilizado y enfriado a 45°C, imprimiendo un movimiento de rotación para garantizar la distribución homogénea de microorganismos. Se dejó solidificar y se añadió la segunda capa.

SIEMBRA POR EXTENSIÓN EN SUPERFICIE. Para la determinación de aerobios totales y hongos y levaduras. En este caso se depositaron 0,1 mL de la dilución correspondiente sobre la superficie del medio previamente esterilizado y solidificado, realizando una extensión mediante asa de cristal estéril y movimientos circulares de la placa.

MICROORGANISMOS

Los microorganismos investigados fueron:

- Aerobios mesófilos totales
- Enterobacterias totales
- Lactobacilos
- Hongos y levaduras

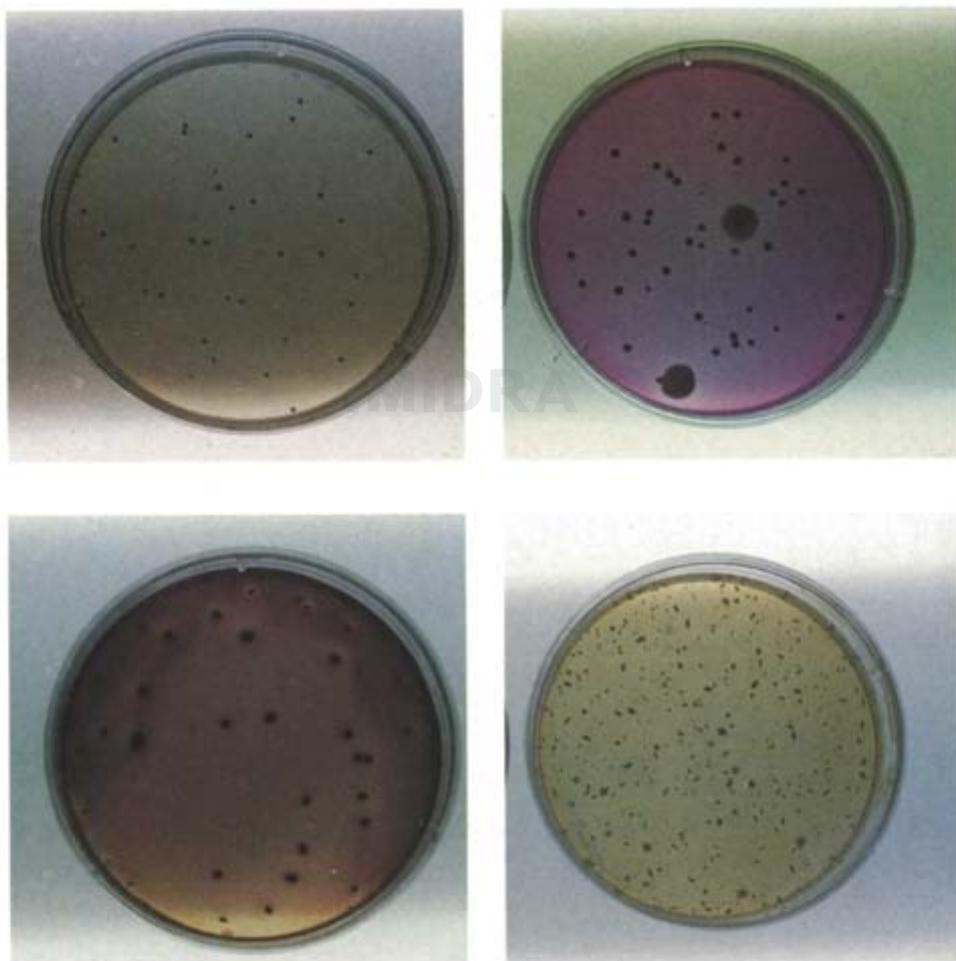
PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO. Los medios de cultivo utilizados se prepararon con agua destilada siguiendo las instrucciones del fabricante.

	MEDIO	MICROORGANISMOS	FABRICANTE	ESTERILIZACIÓN
PCA	Plate Count Agar	Aerobios totales	Cultimed®	121 °C, 15 min
MRS	Man Rogasa Sharpe	Lactobacilos	Cultimed®	121 °C, 15 min
CRB	Cooke Rose Bengala	Hongos y levaduras	Difco	121 °C, 15 min
VRBG	Violeta Red Bilis Glucosa	Enterobacterias	Cultimed®	Ebullición 1min
MEA	Malt Extract Agar	Levaduras	Cultimed®	121 °C, 15 min

Los medios se mantuvieron a 45°C hasta el momento de ser dispensados en placa (siembra en masa). Tras su dispensación en placa y solidificación, los medios para siembra en superficie se conservaron en frigorífico hasta su uso, apilándolos en posición invertida para evitar condensación de agua.

INCUBACIÓN. Tras la siembra, las placas se incubaron en estufa en las siguientes condiciones: (i) MEA, CRB: 25°C, 72 horas. MRS, PCA, VRBG: 31°C, 48-72 horas.

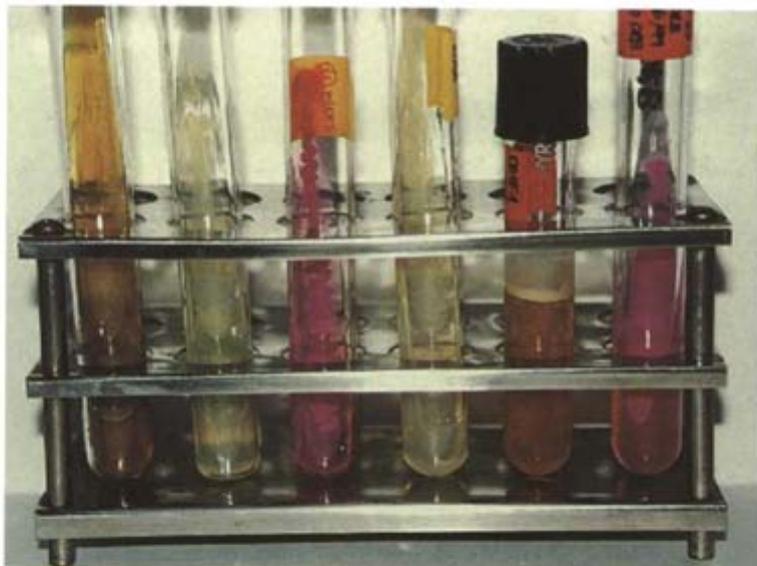
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS Y RECUENTOS. Tras la incubación se procedió al recuento de UFCs/placa. En PCA, MEA y CRB se multiplicó el n° de UFCs por el factor de dilución decimal correspondiente y por diez (muestra en placa: 0,1 mL), para obtener el recuento total de microorganismos viables por mL de salmuera. En el caso de VRBG y MRS se multiplicó el n° de UFCs por el factor de dilución decimal correspondiente (muestra en placa: 1 mL). Los resultados se expresaron, como ya se ha indicado, como log (N) /mL salmuera, siendo N el n° de UFCs.



Crecimiento de diferentes colonias de microorganismos en los medios utilizados (aerobios totales, hongos y levaduras, enterobacterias, lactobacilos)

Las colonias de aparición mayoritaria fueron: sobre PCA, de diversa morfología, textura y coloración, como corresponde a un medio poco específico; sobre CRB, colonias circulares fucsia intenso —por incorporación del colorante del medio— que con la edad fructificaban mostrando esporas verde oliva o negras; sobre MEA, colonias de levaduras incoloras o color crema, con centro diferenciado; en MRS, colonias blancas lenticulares de diverso diámetro, típicas de *Lactobacillus*; y en VRBG, colonias circulares/lenticulares internas, rojas y con halo de precipitación, típicas de enterobacterias. Estos cuatro últimos medios son de mucha mayor especificidad, capaces de inhibir en mayor o menor grado el crecimiento de la flora microbiana distinta del grupo que se investiga.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN. Las colonias diferenciadas y diferenciables procedentes de muestras de distintas procedencias (salmueras de conservación, salmueras de aliño de diferentes productores, ensayos controlados en laboratorio, frutos deteriorados) fueron aisladas mediante asa de siembra estéril y resembradas en tubos de ensayo con medio estéril en estría. Los microorganismos, presumiblemente anaerobios, se sembraron en picadura (en profundidad). La colección de cultivos así constituida tiene actualmente 126 entradas. Se ha procedido a la observación microscópica morfológica (diferenciación en hongos, levaduras, bacterias, y tipos morfológicos bacterianos), y primera diferenciación de grupos bacterianos mediante tinción de Gram y presencia de actividad catalasa (indicadora de metabolismo aerobio). La clasificación de levaduras se llevará a cabo mediante el Método Simplificado de Identificación (SIM) para levaduras en alimentos (Deak and Beuchat, 1996 y referencias en el mismo). La identificación de los géneros bacterianos se basará, aparte de la tinción de Gram y morfología, en la presencia/ausencia de flagelos, esporas, etc. y pruebas bioquímicas de asimilación de sustratos.



Algunos cultivos microbianos de la colección de aislados de frutos y salmueras

La tinción de Gram. (Bartholomew, 1981 y referencias en el mismo). Es una de las técnicas de tinción diferencial más utilizadas para los procariotas (bacterias). Las células eucariotas (de organismos superiores) son todas Gram-negativas, con la importante excepción de las levaduras, que son todas Gram-positivas. Entre las bacterias, son Gram-positivas los cocos (excepto *Neisseria* y *Veillonella*), los bacilos esporulantes y un pequeño grupo de los bacilos no-esporulantes; son Gram-negativas, el restante y numeroso grupo de bacilos no esporulantes, los espirilos, las rickettsias y las clamidias. La diferenciación pone de manifiesto una serie de características estructurales y bioquímicas de la pared celular bacteriana. Los microorganismos Gram-positivos retienen en su pared, durante la etapa de decoloración, el primer colorante utilizado (cristal violeta), resultando violetas o azules intensos bajo el microscopio; los Gram-negativos pierden este colorante durante dicha etapa de decoloración con etanol, incorporando posteriormente el último colorante que se aplique; su apariencia bajo el microscopio será la conferida por este último (rosa, si se utiliza fucsina básica; rojo claro, si se utiliza safranina).

iMiDRA

2. ANÁLISIS DE LOS FRUTOS

ANÁLISIS FÍSICOS

TEXTUROMETRÍA. Los ensayos de textura de los frutos se llevaron a cabo en un texturómetro TA XT.2 (Stable Micro Systems[®], U.K.) equipado con una sonda de ebonita de extremo plano y 10 mm de diámetro, mediante un test standard de doble compresión uniaxial (TPA, Texture Profile Analysis). No se utilizó la sonda Kramer de cizalladura al ser la Aceituna de Campo Real del tipo no deshuesado; de igual forma, se prefirió no proceder al deshuesado para no provocar artefactos en la estimación de la dureza. Por ello se eligió el test de compresión uniaxial, uno de los menos complejos en las determinaciones analíticas de textura, y se comprimió la piel y pulpa de la aceituna una distancia de 5 mm. La fuerza máxima (expresada en gramos fuerza) necesaria para producir esta deformación se tomó como expresión de la dureza o textura del fruto. Para cada ensayo se analizaron 50 frutos, obteniéndose a continuación los parámetros estadísticos descriptivos (media, desviación y error estándar, coeficiente de variación, otros).



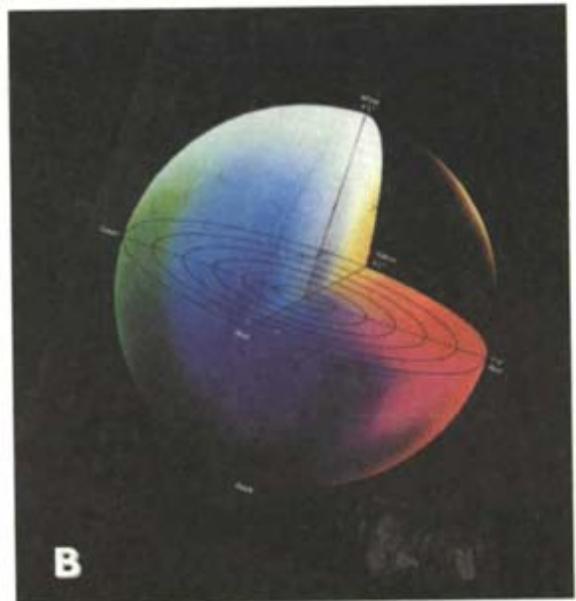
Análisis de textura de los frutos de aceituna

COLORIMETRÍA CIE- $L^*a^*b^*$. La determinación del color superficial del fruto se llevó a cabo mediante un colorímetro triestímulo Minolta®, utilizando el iluminante D65 incorporado en el mismo. Los tres destellos que el colorímetro efectúa por cada medida se realizaron sobre distintos puntos de la superficie de cada fruto, a fin de obtener valores de mayor representatividad. Para cada ensayo se analizaron 50 frutos y se obtuvieron, asimismo, los parámetros estadísticos descriptivos. Los frutos eran sometidos al análisis de textura e inmediatamente después a la determinación del color superficial.



Los parámetros del color superficial L^* , a^* , b^* miden, respectivamente, la luminosidad de la muestra, la tendencia rojo/verde y la azul/amarillo. Los tres ejes se encuentran orientados en las tres direcciones del espacio, determinando un espacio de color (esfera), que se puede observar en la fotografía. La combinación de tres valores (L^* , a^* , b^*) determina un único punto en dicha esfera de color.

Análisis de textura de los frutos de aceituna. Determinación del color superficial de los frutos de aceituna.
A) Funcionamiento del colorímetro;
B) Esfera de color $L^*a^*b^*$



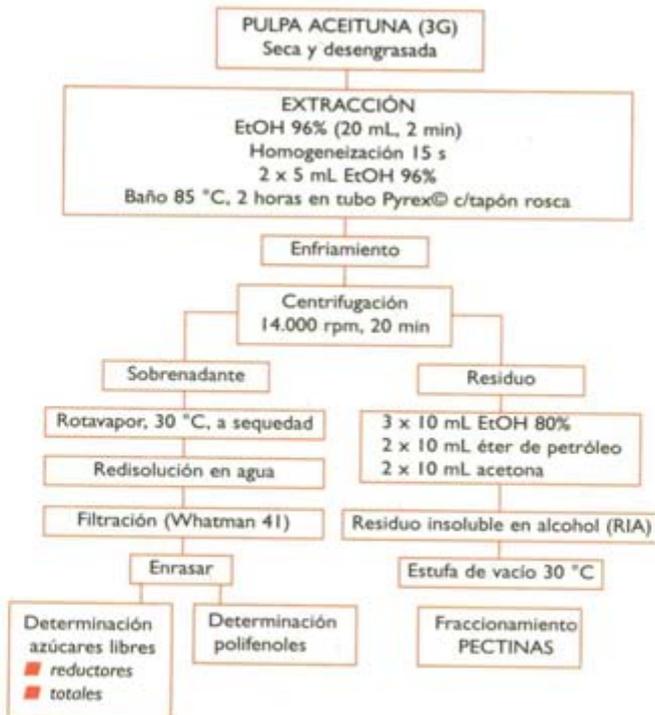
ANÁLISIS QUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS

pH. La determinación del pH del fruto se llevó a cabo directamente en una pasta preparada mediante homogeneización (Homogeneizador IKA) de 20-25 frutos escogidos al azar, mediante un pHmetro Crison 2000 y a temperatura ambiente.

HUMEDAD. La humedad de los frutos se determinó como diferencia de pesada de la pasta descrita anteriormente (15-20 g pulpa) en pesasustancias secas y tarados, y tras mantenimiento en estufa de vacío, a 60-70°C (hasta la pesada constante). El peso de agua obtenido se refirió al peso inicial de frutos y se expresó como porcentaje de éste. La determinación se realizó por triplicado.

GRASA. La extracción de grasa se llevó a cabo en un sistema Soxhlet utilizando hexano como disolvente y mediante extracciones consecutivas de la muestra de pulpa de aceituna homogeneizada a bajas revoluciones. El disolvente se eliminó en rotavapor. El residuo de disolvente se eliminó en estufa de vacío a 60°C. El peso de grasa extraída se obtuvo por diferencia de pesada y se expresó como % de (i) materia fresca, y/o (ii) materia seca. La determinación se realizó por cuadruplicado.

FRACCIONAMIENTO DE LA FIBRA: CELULOSA, HEMICELULOSAS, LIGNINA, SUSTANCIAS PÉCTICAS. La obtención de las diferentes fracciones de fibra y su fraccionamiento hizo uso de un amplio conjunto de técnicas, resumidas, detalladas y comentadas en Valiente (1995). Para la obtención de la fracción soluble y el residuo insoluble en alcohol se siguió el siguiente esquema:



La determinación de azúcares reductores se realizó mediante el método de Somogyi-Nelson, basado en la capacidad de la muestra para reducir el Cu^{++} en medio alcalino. El Cu^+ precipita como Cu_2O . La cantidad de precipitado se valora por la reacción de Nelson, que consiste en la reducción cuantitativa del ácido arsenomolibdico a arsenomolibdoso por el Cu^+ . El color azul intenso de éste se determina espectrofotométricamente por colorimetría, interpolando en una curva patrón de glucosa de concentraciones conocidas. La determinación de azúcares totales se realizó por hidrólisis de 2 mL de muestra problema (fracción soluble) con 1 mL de H_2SO_4 en baño a 100°C durante 15 min, neutralización, enrase a 10 mL y determinación espectrofotométrica igual que en el caso de los azúcares reductores.

La determinación de polifenoles se realizó, en todos los casos, por el método de Folin-Ciocalteu, basado en el carácter reductor de los polifenoles. En un matraz aforado de 25 mL se introdujeron, sucesivamente, 1 mL de muestra, 0,5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu y 10 mL de carbonato sódico al 7,5% (p/v). Se enrasó y dejó desarrollar el color en la oscuridad durante 1 hora. Se leen los resultados por interpolación en una curva patrón preparada con ácido gálico. Para la determinación en pulpas de frutos cocidos es precisa la rapidez para evitar la oxidación de los polifenoles.

El fraccionamiento de pectinas a partir del RIA (0,5 g) se realizó, muy brevemente, de la siguiente forma: dispersión en 5 mL de agua destilada, adición de 30 mL de agua destilada, incubación en baño a 80°C 30 minutos y centrifugación a 15.000 rpm 30 minutos para nueva obtención del residuo lavado (pectinas solubles en agua). Este procedimiento se repitió dos veces. Tras la segunda centrifugación, el residuo se trata con oxalato amónico, se incuba a 80°C 1 hora y se centrifuga en las mismas condiciones. También se repite dos veces, para obtener la fracción soluble en oxalato (sobrenadante). El residuo se trata con NaOH 1N, se agita y filtra, dando lugar a la fracción de protopectina.

CONTENIDO MINERAL. Se realizó una digestión de las muestras secas y desengrasadas por vía seca, con calcinación de la muestra en horno mufla y posterior tratamiento con HCl 6N. Los diferentes elementos minerales se determinaron por espectrofotometría de Absorción/emisión Atómica.

3. OBSERVACIONES ESTRUCTURALES

Todos los estudios de microscopía óptica y electrónica descritos en esta monografía se realizaron sobre frutos frescos, cocidos o ya aliñados, mantenidos en las condiciones que se estimaron más representativas para aquellos factores que se deseaba observar. Así, ningún fruto fresco se dejó secar o envejecer; el efecto de la sosa se observó a las 24 horas de realizarse el aderezo; los frutos aliñados se mantuvieron en las condiciones usuales de iluminación y temperatura.

Para la observación al microscopio óptico se procedió a la inclusión de las muestras en una resina epoxy (Araldite[®], Durcupan ACM). Para ello, se obtuvieron muestras de frutos que comprendían epidermis y pulpa, de unos 3-4 mm³ en volumen, que se recogieron inmediatamente en tampón cacodilato 0,05M pH 7,4. La fijación de las muestras se realizó en glutaraldehído al 1% en el tampón anterior, procediéndose a la infiltración rápida del fijador mediante dos desgasificaciones (condiciones de vacío) consecutivas de 10 minutos cada una. La fijación se dejó transcurrir durante 2 horas a temperatura ambiente. Para la subsiguiente deshidratación de las muestras se utilizó una serie creciente de acetona acuosa. En la acetona del 70% se incorporó acetato de uranilo para contrastar la muestra. La inclusión en resina se llevó a cabo utilizando como intermediario óxido de propileno, en mezclas parciales con la resina sin el componente polimerizador (Araldite 1), hasta la inclusión final en la resina con el componente polimerizador (Araldite 2). La polimerización transcurrió durante 48 horas en estufa a 70°C.

Tras la polimerización, los bloques de resina con las muestras incluidas se seccionaron en un ultramicrotomo Reichert, obteniendo cortes semifinos (1 μ m de espesor) que se recogieron sobre portaobjetos de vidrio limpios y desengrasados, sobre los que previamente se había extendido y secado una gota de adhesivo de Haupt a fin de asegurar la correcta adherencia de los mismos.

Los portaobjetos así preparados se contrastaron con las soluciones habituales de tinción: azul de toluidina o azul de metileno al 1% en solución acuosa, fucsina básica en etanol al 0,5% en solución acuosa. Las localizaciones específicas de componentes celulares que se llevaron a cabo se realizaron de acuerdo a los protocolos descritos en Jensen (1962) y en Clark (1981), y brevemente fueron:

- localización general de carbohidratos: método PAS (Periodic Acid-Schiff),
- localización de sustancias pécticas mediante rojo de rutenio, y
- localización de cutina/suberina mediante Sudan Black.

Las muestras se mantienen para posteriores estudios de microscopía óptica o electrónica de transmisión. La inclusión de las muestras se realizó en el Departamento de Fisiología y Bioquímica Vegetal del Centro de Ciencias Medioambientales (CSIC). Para la obtención de microfotografías se utilizó un fotomicroscopio Zeiss Axiophot del mencionado Departamento y un Leica DM R del Departamento de Agroalimentación del IMIA.

Para la observación de los frutos en criomicroscopía de barrido, se cortaron muestras de 2-3 mm², sensiblemente planas, de epidermis y pulpa de los frutos. Mediante

adhesivo se fijaron a un portamuestras plano, que se introdujo en nitrógeno líquido bajo vacío hasta la congelación completa de la muestra (aproximadamente 30 segundos-1 minuto). El portamuestras se introdujo inmediatamente en la antecámara del microscopio de barrido, y posteriormente se vaporizó con oro (-150°C). A continuación, se llevó a cabo el proceso de *etching* u obtención de relieve en superficie, mediante eliminación del agua superficial de la muestra por calentamiento hasta -90°C. Las imágenes se digitalizaron para su uso posterior. El microscopio de barrido utilizado fue un SEM Zeiss del Servicio de Microscopía Electrónica del Centro de Ciencias Medioambientales del CSIC. En el caso de realizarse criofractura, la muestra congelada se fracturó mediante impacto dirigido de un punzón en la propia antecámara del microscopio, antes del proceso de vaporización.

iMiDRA

4. ANÁLISIS DE LAS SALMUERAS

ANÁLISIS QUÍMICOS

pH. Se determinó mediante el pHmetro descrito anteriormente.

ACIDEZ LIBRE. Este parámetro corresponde a la suma de los distintos ácidos orgánicos libres presentes en la salmuera. Su determinación se realizó en las salmueras de conservación de los frutos frescos y en las de aliño (envasado), una vez establecido el equilibrio frutos-salmuera. Se valoraron 10 mL de muestra, usando fenoltaleína como indicador, con NaOH 0,2N, valorada exactamente, hasta color rosa persistente.

ACIDEZ COMBINADA. Se denomina acidez combinada o lejía residual a las sales de ácidos orgánicos existentes en las salmueras. La mayor parte corresponde a acetatos y lactatos, que tienen como catión al sodio procedente de la sosa utilizada para reaccionar el cocido. Se valoraron 25 mL de muestra, medidos con exactitud, mediante HCl 2N factorizado, añadiendo éste lentamente y con agitación hasta obtener un pH de 2,6 unidades.

NaCl (CLORUROS). Los cloruros se determinaron por valoración con nitrato de plata, utilizando como indicador ión cromato. En el caso de soluciones ácidas o ligeramente ácidas, como es el caso de algunas salmueras (conservación), el ión cromato se reduce a dicromato, utilizándose entonces como indicador esta mezcla de iones. En un matraz Erlenmeyer se colocaron 0,5 mL de muestra, 100 mL de agua destilada y 0,1 mL del indicador. Se valoró con la solución de AgNO_3 0,1N, previamente valorado con cloruro sódico puro. El punto final viene dado por la aparición de un precipitado color rojo ladrillo, de cromato de plata (Ag_2CrO_4).

AZUCARES REDUCTORES Y POLIFENOLES. Su valoración en las salmueras se realizó, esencialmente, según los métodos descritos para los frutos. Para la determinación de polifenoles se requirió siempre la dilución previa de las muestras. Las lejías (soluciones de sosa) y aguas de lavado deben ponerse previamente a un pH de 8-9 unidades, ya que inicialmente lo tienen muy elevado —superior a 12 unidades—, y la colorimetría con el reactivo Folin da valores muy bajos. El ajuste del pH debe hacerse con cierta rapidez (en el mismo día como máximo), ya que parte de los polifenoles se destruyen en medio fuertemente alcalino.

Respecto al análisis de azúcares, las salmueras, normalmente coloreadas por la presencia de polifenoles, deben filtrarse previamente para conseguir la eliminación de dichos compuestos. la retirada de los compuestos fenólicos se realizó mediante paso de la muestra por un carucho SepPak® (Waters) activado por el paso previo de metanol y agua.

Anexo I I

Legislación Aplicable

- **Real Decreto 53/1993, de 13 de mayo**, por el que se crean las Denominaciones de Calidad para los Productos Agroalimentarios de la Comunidad de Madrid (B.O.C.M. 3/6/93).
- **Real Decreto 1074/1983, de 25 de marzo**, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico Sanitaria para la elaboración, circulación y venta de las Aceitunas de Mesa (B.O.E. 6/83).
- **Resolución de 28 de septiembre de 1983**, por la que se aprueba la lista positiva de aditivos y coadyuvantes tecnológicos para uso en la elaboración de Aceituna de Mesa (B.O.E. 8/10/83).
- **Reglamento** de la Denominación de Calidad "Aceitunas de Campo Real".
- **Convenio Internacional** de Aceite de Oliva y Aceituna de Mesa 87/491/CEE y COM(93) 514 final de 25 de octubre.
- **Reglamento CEE n° 2081/92 del Consejo, de 14 de julio de 1992**, relativo a la protección de las Indicaciones Geográficas y de las Denominaciones de Origen de los productos agrícolas y alimentarios.

Anexo III Referencias

- Bartholomew, J.W. (1981). *Stains for Microorganisms in Smears*. En: "Staining Procedures", Clark, G., Ed. Williams and Wilkins, Baltimore. ISBN 0-683-01707-1. Pp. 375-440.
- Benítez, F.J., Beltrán, J. y Acero, J.L. (1996). *Tratamientos de aguas residuales de almazaras por vías química y biológica*. Alcuza Jun 96: 16-21.
- Brenes, M., Rejano, L., García, P., Sánchez, A.H. and Garrido, A. (1995). *Biochemical Changes in Phenolic Compounds During Spanish-Style Green Olive Processing*. J. Agr. Food Chem. 43: 2702-2706.
- Clark, G. (Ed.) (1981). *Staining Procedures* (4th Edition). Williams and Wilkins, Baltimore. ISBN 0-683-01707-1.
- Cheftel, J.C. and Cheftel, H. (1992). *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos*. Ed. Acribia, Zaragoza. ISBN 84-200-0444-8.
- Deak, T. and Beuchat, L.R. (1996). *Handbook of Food Spoilage Yeasts*. CRC Press. ISBN 0-8493-2703-2.
- de Lorenzo, C., Valiente, C., Vergara, G. e Iglesias, G. (1998). *Mejora de la conservación de la Aceituna de Aderezo de Campo Real: Avance de Resultados*. Boletín Agrario: 13: 44-49.
- Engels, F.M. and Shuurmans, J.L. (1992). J. Sci. Food Agric. 59: 45-70.
- Fernández-Diez, M.J. (1985). *Biotecnología de la Aceituna de Mesa*. Instituto de la Grasa y sus Derivados, C.S.I.C., Sevilla. ISBN 84-00-060018-0.
- Fernández-Crespo, J.C. and Valcárcel, S. *Apuntes de Curso sobre Implantación y Auditoría del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos de Control Críticos en las Empresas Alimentarias*. Madrid, Febrero 2000.
- Floros, J.D., Wetzstein, H.Y. and Chinnan, M.S. (1987). *Chemical (NaOH) Peeling as Viewed by Scanning Electron Microscopy: Pimiento Peppers as a Case Study*. J. Food Sci. 52: 1312-1316, 1320.
- Fuertes, T. y Palacios, J. (1999). *La Aceituna de Mesa "Campo Real"*. Hoja Divulgadora nº 2101 HD. M.A.P.A., Madrid. ISBN 84-491-0443-2.
- Garrido, A., Cordón, J., Rejano, L., González, F. and Sánchez, F. (1979). *Elaboración de Aceitunas Verdes estilo español con reutilización de lejías y supresión de lavados*. Grasas y Aceites 30: 227-234.
- Garrido, A., García, P. and Brenes, M. (1992). *The Recycling of Table Olive Brine Using Ultrafiltration and Activated Carbon Adsorption*. J. Food Eng. 17: 291-305.
- Goupy, P., Fleuriet, A., Amiot, M.J. and Macheix, J.J. (1991). *Enzymatic Browning, Oleuropein content and Diphenol Oxidase Activity in Olive Cultivars (Olea europaea L.)*. J. Agric. Food Chem. 39: 92-95.
- Guillén, R., Heredia, A., Felizón, B., Jiménez, A., Montaña, A. and Fernández-Bolaños, J. (1992). *Fibre fraction Carbohydrates in Olea europaea (Gordal and Manzanilla var.)*. Food Chem. 44: 173-178.
- Heredia Moreno, A. (1976). *Almidón en Aceitunas Verdes*. Grasas y Aceites 27: 1-4.
- Heredia, A., Jiménez, A. and Guillén, R. (1995). *Composition of Plant Cell Walls*. Z. Lebensm Unters Forsch 200: 24-31.
- International Olive Oil Council (I.O.O.C.). (1990). *Table Olive Processing*. ISBN 34-404-6447-9.
- Jensen, H. (1962). *Botanical Histochemistry: Principles and Practice*. Ed. Freeman W.H. and Co.
- Jiménez, A., Guillén, R., Fernández-Bolaños, J. and Heredia, A. (1994a). *Cell Wall Composition of Olives*. J. Food Sci. 59: 1192-1201.
- Jiménez, A., Labaritch, J.M. and Heredia Moreno, A. (1994b). *Changes in the Cell Wall of Olive Fruit during Processing*. J. Agric. Food Chem. 42: 1194-1199.
- Jiménez, A., Guillén, R., Sánchez, C., Fernández-Bolaños, J. and Heredia, A. (1995). *Changes*

- in Texture and Cell Wall Polysaccharides of Olive Fruit during Spanish Green Olive Processing. *J. Agr. Food Chem.* 43: 2240-2246.
- Jiménez, A., Heredia, A., Guillén, R. and Fernández-Bolaños, J. (1997). Correlation between soaking conditions, cation content of cell wall and olive firmness during "Spanish Green Olive" Processing. *J. Agr. Food Chem.* 45: 1653-1658.
- Jung, H.J., Valdez, F.R. and Hatfield, R.D. (1992). *J. Sci. Food Agric.* 58: 347-351.
- Lagrimini, M. (1991). Wound-induced deposition of Polyphenols in Transgenic Plants overexpressing Peroxidase. *Plant Physiol.* 96: 557-583.
- Lázaro, E., González, M., Iglesias, G. and de Lorenzo, C. Use of Acidulant Buffer Systems to Extend Shelf Life of Campo Real Table Olive Preparations. *J. Food Sci.* (enviado).
- Marsilio, V. and Cichelli, A. (1991). Influencia del sorbato potásico y del benzoato sódico sobre la estabilidad de las aceitunas de mesa en salmuera. *Grasas y Aceites* 43 (2): 66-74.
- Marsilio, V. and Lanza, B. (1995). Effects of lye-treatment on the nutritional and microstructural characteristics of table olives (*Olea europaea* L.). *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.* 35 (2) : 178-190.
- Marsilio, V., Lanza, B. and De Angelis, M. (1996). Olive Cell Wall Components: Physical and Biochemical Changes during Processing. *J. Sci. Food Agric.* 70: 35-43.
- Mayer, A.M. (1987). Polyphenol oxidases in Plants-Recent Progress. *Phytochem.* 26: 11-20.
- Mínguez Mosquera, M.I. (1982). Evolución de los constituyentes pécticos y de las enzimas pectinólíticas durante el proceso de maduración y almacenamiento de la aceituna Hojiblanca. *Grasas y Aceites* 33: 327-333.
- Mínguez Mosquera, M.I. and Garrido Fernández, J. (1989). Chlorophyll and Carotenoid Presence in Olive Fruit (*Olea europaea*). *J. Agric. Food Chem.* 37: 1-7.
- Mínguez Mosquera, M.I., Gandul Rojas, B. and Garrido Fernández, J. (1989a). Degradación de pigmentos durante la fermentación de aceitunas verdes de mesa. *Grasas y Aceites* 40: 269-301.
- Mínguez Mosquera, M.I., Garrido Fernández, J. and Gandul Rojas, B. (1989b). Pigment Changes in Olives during Fermentation and Brine Storage. *J. Agric. Food Chem.* 37: 8-11.
- Mínguez Mosquera, M.I., Garrido Fernández, J. and Gandul Rojas, B. (1990). Quantification of Pigments in Fermented Manzanilla and Hojiblanca Olives. *J. Agric. Food Chem.* 38: 1662-1666.
- Mínguez Mosquera, M.I. and Gallardo Guerrero, L. (1995). Disappearance of Chlorophylls and Carotenoids during the Ripening of the Olive. *J. Sci. Food Agric.* 69: 1-6.
- Nosti-Vega, M. et al. (1983). El Índice de Calidad Nutritiva en Aceitunas de Mesa. II Simposio Andaluz del Alimento.
- Pino, and Borges, (1999). Los componentes volátiles de las especias: (1) hinojo, mejorana, tomillo; (2) Comino, orégano, laurel, cilantro. *Alimentaria* 301: 63-110.
- Reeve, R.M. (1976). Histological Structure Affects Peeling of Fruits and Vegetables. *Food Technol.* 30: 48-52.
- Ruiz-Barba, J.L., Brenes, M., Jiménez, R., García, P. and Garrido, A. (1993). Inhibition of *Lactobacillus plantarum* by polyphenols extracted from two different kinds of olive brine. *J. Appl. Bacteriol.* 74: 15-19.
- Tassou, C.C. and Nichas, J.E. (1994). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by olive phenolics in broth and in a model food system. *J. Food Protect.* 57: 120-124.
- Valiente, C. (1995). Estudio de la composición de fibra alimentaria en cacao crudo y procesado. Ensayos "in vitro" sobre la capacidad de retención de minerales. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid.
- Valiente, C., González, M., Iglesias, G. and de Lorenzo, C. (2000). Physico-chemical, Biochemical and Ultrastructural Features of Cacereña Olives for Elaboration of "Campo Real" Table Olive. (Manuscrito en preparación).
- Vamos-Vigyazo, L. (1981). Polyphenol oxidase and Peroxidase in Fruits and Vegetables. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 49: 127-169.
- Walker, G.C. (1964). Colour deterioration in frozen french beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Food Sci.* 29: 383-388
- Yang, S.F. (1967). Biosynthesis of ethylene. Ethylene formation from methional by horseradish peroxidase. *Arch. Biochem. Biophys.* 122: 481-487.



CONSEJERIA DE MEDIO AMBIENTE



Comunidad de Madrid