

Del 7 al 10 de mayo de 2019

**CENTRO UNIVERSITARIO
SANTA ANA
ALMENDRALEJO**



**XLI JORNADAS
DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA
TIERRA DE BARROS**

I Congreso Agroalimentario de Extremadura

**XLI Jornadas
de VITICULTURA Y ENOLOGÍA
de la Tierra de Barros
I Congreso Agroalimentario de Extremadura**

Edita:

Centro Universitario Santa Ana
C/ IX Marqués de la Encomienda, nº 2
Almendralejo
Tel. 924 661 689
<http://www.univsantana.com>

Ilustración de portada:

© Vito Cano.
Detalle del mural del mercado de abastos "Las mercedes"
Almendralejo (Badajoz)

Diseño original:

Tecnigraf S.A.

Maquetación: Virginia Pedrero

ISBN: 84-7930-109-0

D.L.:

Imprime: Impresal

Contenido en acrilamida en aceitunas negras oxidadas sin líquido de gobierno y tras la realización de lavados

MARTÍN-VERTEDOR, D. ^{2,5*}

FERNÁNDEZ, A. ²

DELGADO-ADÁMEZ, O. ²

MARTÍNEZ, M. ^{3,5}

DE MIGUEL, C. ^{4,5}

PÉREZ-NEVADO, F. ^{1,5}

¹Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Área de Nutrición y Bromatología, Universidad de Extremadura, Ctra. de Cáceres s/n 06071 Badajoz, España.

²Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (CICYTEX-INTAEX). Junta de Extremadura. Avda. Adolfo Suárez s/n 06007 Badajoz, España. daniel.martin@juntaex.es

³Dpto. Ingeniería del Medio Agronómico y Forestal. Escuela de Ingenierías Agrarias. Universidad de Extremadura.

⁴Dpto. Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra. Escuela de Ingenierías Agrarias. Universidad de Extremadura.

⁵Instituto de Investigación de Recursos de la Agricultura (INURA), Avda. de la Investigación s/n.

RESUMEN

Las aceitunas negras oxidadas constituyen un producto microbiológicamente inestable por lo que su elaboración tradicional culmina con una esterilización térmica para garantizar la se-

guridad alimentaria. Este proceso de esterilización contribuye a la formación de una sustancia tóxica: la acrilamida. Como objetivo general, se pretende conocer el contenido en acrilamida en aceitunas de la variedad ‘Hojiblanca’ en un nuevo formato de presentación de aceitunas sin líquido de gobierno y tras la aplicación de lavados antes del envasado. El tipo de formato de presentación de las aceitunas influyó en el contenido en acrilamida, de este modo, las aceitunas sin líquido de gobierno presentaron unos niveles de acrilamida superiores al 65% y un 30% menos de textura, en comparación con las aceitunas homólogas en líquido de gobierno. Destacar que cuando se realizaron lavados previos de 12 horas al envasado final del producto, disminuyó el contenido de acrilamida en las aceitunas sin líquido de gobierno en un 30%, sin existir diferencias significativas en la textura del producto final.

Palabras clave: Aceitunas negras oxidadas; acrilamida; líquido de gobierno; textura; lavados.

SUMMARY

Oxidized black olives are a microbiologically unstable product, which their traditional production culminates in a thermal sterilization to guarantee food safety. This sterilization process contributes to the formation of a toxic substance: acrylamide. The general objective is to know the acrylamide content in ‘Hojiblanca’ variety in a new presentation format of olives without government liquid and after the application of washes before packaging. The type of format presentation of the olives influenced the acrylamide content, in this way, olives without government liquid presented higher levels of acrylamide (65%) and 30% less of texture, in comparison with the olives with their corresponding government liquid. It should be noted that when previous washings of 12 hours prior to the final packaging of the product were carried out, the content of acrylamide in the olives without government liquid decreased by 30%, without significant differences in the texture of the final product.

Keywords: Oxidized black olive; acrylamide; govern liquid; texture; washing treatment.

1. INTRODUCCIÓN

El proceso de elaboración de aceitunas de mesa más frecuente es al estilo español en el que las aceitunas se sumergen en una disolución diluida de NaOH y así se elimina el amargor natural de éstas debido a la presencia de oleuropeína. Existen otros procesos de elaboración, como el de las aceitunas negras oxidadas o negras al estilo californiano en el que se emplean variedades de mayor textura como manzanilla cacereña, hojiblanca, etc., cuyas exportaciones están en plena ascensión y en el que Extremadura goza de la mayor producción de aceitunas negras oxidadas de la variedad “Manzanilla cacereña” (Pérez-Nevado *et al.*, 2018).

La elaboración tradicional de aceitunas negras oxidadas culmina con una esterilización térmica para garantizar la seguridad alimentaria. Este proceso contribuye a la formación de una sustancia tóxica: la acrilamida. La Comisión Europea y algunas instituciones europeas, como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), alertan del peligro del consumo de esta sustancia.

La formación de acrilamida durante el procesado de aceitunas oxidadas al estilo californiano fue puesta de manifiesto por primera vez por Casado *et al.*, (2008). En este estudio antes de la esterilización no se detectaron cantidades de acrilamida en las aceitunas mientras que los niveles de ésta, tras la esterilización, se situaron entre 243-1349 µg/Kg. En otro estudio, Casado *et al.*, (2013) proponen que los péptidos y las proteínas de las aceitunas contribuyen a la formación de acrilamida cuando aquellas se esterilizan. Autores como Zhang *et al.*, (2016) en sistema modelo de asparagina - glucosa y Casado *et al.*, (2010) en aceitunas encuentran que es posible disminuir los niveles de acrilamida durante la esterilización de aceitunas negras oxidadas con la adecuada selección de aditivos.

Las crecientes exigencias de calidad y seguridad de los productos alimentarios, entre los que se encuentran las aceitunas de mesa, requieren de nuevos procesos y nuevos productos que permitan el mantenimiento de dicha calidad y seguridad a lo largo de todo el proceso productivo hasta su adquisición por parte del consumidor final. Para que la diferenciación de calidad realizada en el desarrollo de un nuevo producto perdure durante todo el proceso, desde la fase de almacenamiento hasta su distribución requiere de un tratamiento previo para alargar la vida útil y asegurar su calidad final. Por todo ello, el objetivo general del presente trabajo es conocer el conte-

nido en acrilamida de las aceitunas negras oxidadas con un nuevo formato sin líquido de gobierno y tras la aplicación de lavados antes del envasado para prevenir la formación de sustancias indeseables en el producto final.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Obtención de la materia prima

Para la realización del presente estudio se seleccionó un olivar experimental cedido por una finca colaboradora situado en la provincia de Sevilla que producía aceitunas de la variedad ‘Hojiblanca’. Las características de las plantaciones son de olivares entre 6-8 años de edad, con marcos de plantación de 4,0 m x 5,5 m en Sevilla.

2.2. Proceso de elaboración de aceitunas negras oxidadas.

Después de la recogida o recolección de las aceitunas, estas fueron transportadas inmediatamente a la industria en cajas ventiladas para evitar cambios químicos en la composición del fruto. Tras lo cual las olivas fueron lavadas y seleccionadas (calibre, calidad). Las aceitunas fueron conservadas en ácido acético al 3% hasta el momento de elaboración. Todos los depósitos de conservación instalados en la industria colaboradora eran de 16.000 litros de capacidad para almacenar 10.000 kg de aceituna. Posteriormente, las aceitunas se tratan, mediante inmersión en solución alcalina diluida, 3h aproximadamente con NaOH al 3%. Tras lo cual se emplean sucesivas oxigenaciones con aire y posteriores lavados de forma cíclica. A continuación, las aceitunas se sumergen en salmuera diluida y se vuelve airear y por consiguiente las aceitunas comienzan a ennegrecer por la oxidación de compuestos y la polimerización de o-difenoles. Para prevenir el deterioro del color, éste se fija con la adición de sales de hierro que posteriormente se eliminarán. Seguidamente, las aceitunas son deshuesadas y envasadas en latas de hojalata. A las aceitunas se les incorpora o no el líquido de gobierno, dependiendo del tratamiento a estudiar. Finalmente se esterilizan con el objeto de destruir o inactivar los gérmenes capaces de producir toxinas o alterar el alimento en conserva.

2.3. Diseño de experimentos

Se realizaron dos tratamientos experimentales con aceitunas procedentes del mismo lote con tres repeticiones que consistió en comparar un nuevo formato de aceitunas negras oxidadas sin líquido de gobierno en la lata. Este producto se comparó, con sus homólogas aceitunas negras oxidadas sin hueso con su líquido de gobierno usual.

Además, se realizó otro experimento que consistió en realizar lavados tras el proceso de oxidación durante 12 horas en depósitos de 16.000 litros de capacidad, previo al enlatado de las aceitunas sin líquido de gobierno.

2.4. Análisis de acrilamida en aceituna y en el líquido de gobierno

Para llevar dicho análisis se siguió el protocolo descrito por Pérez-Nevado *et al.*, (2018). De este modo se planteó un estudio optimizado del método de determinación de acrilamida mediante LC-MS/MS. Las muestras se analizaron utilizando un cromatógrafo de líquidos Agilent 1290 Infinity II (Agilent Technologies), acoplado con un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo Agilent 6460 (Agilent Technologies).

2.5. Determinación de la textura

En la determinación de la textura de las aceitunas se utilizó un texturómetro modelo TA.TX2 (Stable Micro System©, U.K.), de la marca ANAME.

2.6. Análisis estadístico de los datos

Las diferencias significativas y los grupos homogéneos de medias se establecieron mediante un análisis de varianza (ANOVA) siguiendo el procedimiento de una vía. Cuando la diferencia entre los valores de las medias fue significativa, se realizó un test de comparación de medias por el método de Tukey (análisis univariante) que determina la diferencia mínima entre las medias de cada grupo para que ésta sea estadísticamente significativa ($p < 0,05$). En el tratamiento estadístico de los datos se empleó el programa informático IBM SPSS STATISTICS VERSION 19 para Windows.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Estudio del contenido en acrilamida en aceitunas sin líquido de gobierno

Se realizó un diseño experimental en el cual se compararon aceitunas de la variedad ‘Hojiblanca’ con un innovador formato de presentación de aceitunas negras oxidadas deshuesadas sin líquido de gobierno. Como aceitunas control, se usaron las aceitunas del mismo lote, pero con líquido de gobierno que es el que habitualmente se usa en la industria agroalimentaria de aceitunas de mesa oxidadas al estilo Californiano.

Los resultados mostraron que la elaboración de aceitunas negras oxidadas deshuesadas sin la adición de líquido de gobierno, presentaban una concentración de acrilamida muy superior, en torno al 65% superior, en comparación con la suma de las concentraciones de esta sustancia tóxica tanto en aceituna como en su respectivo líquido de gobierno (Tabla 1). Además, indicar que este nuevo formato presentó una concentración en acrilamida tres veces superior con la aceituna elaborada tradicionalmente por la industria de aceitunas negras oxidadas.

Este resultado es muy interesante, porque al no existir líquido de gobierno en este formato, el 100% de la síntesis de acrilamida permanece en la aceituna. Al no existir líquido de gobierno en la lata de aceitunas, todos los precursores susceptible de transformarse mediante la aplicación de calor por esterilización térmica, como la acrilamida una vez enlatada las aceitunas, se mantienen en el interior del fruto sin poder difundirse por el efecto osmótico hacia el líquido de gobierno, obteniendo de esta manera aceitunas con niveles muy elevados en esta sustancia tóxica.

El hecho de que la mayor concentración de acrilamida en este nuevo formato sin líquido de gobierno puede también ser debido a que el tratamiento térmico empleado por la industria para obtener este producto, aunque fue de un similar valor de esterilización (F_0), al incidir el calor en la esterilización de una manera más directa sobre las aceitunas, se produce un sobrecalentamiento en las mismas que repercute en la mayor producción de acrilamida. Sin embargo, cuando las aceitunas contienen líquido de gobierno en el interior del envase, el calor aplicado en la esterilización y la temperatura de esterilización dentro de la lata se transmite por convección y por tanto se aplica un valor menor de F_0 . Hay que destacar que la presen-

cia de líquido de gobierno en el interior de la lata hace que se absorba calor del metal evitando que las aceitunas que están en contacto con la lata se sobrecalienten en exceso.

Destacar que no se ha encontrado bibliografía científica sobre la cantidad de acrilamida que puede formarse en aceitunas sin líquido de gobierno en el envase final de hojalata.

Por otro lado, un aspecto que se ve más afectado sobre este tipo de aceituna es la dureza de las mismas. De este modo, al comparar los dos formatos de aceitunas deshuesadas con o sin líquido de gobierno, las que se presentan sin este líquido se observa una disminución de la dureza en un 30% con respecto al control (1,83 a 1,23 N).

3.2. Estudio de lavados previos a envasar aceitunas sin líquido de gobierno

Ciertas operaciones previas a la esterilización influyen en la cantidad de acrilamida de nuestro producto final, como la aplicación de lavados previos a la oxidación de las aceitunas. En este estudio se ha demostrado que aplicando un tratamiento de lavado previo a la oxidación de las aceitunas ‘Hojiblanca’, a una temperatura del agua de lavado de 20°C y durante 45 minutos, provoca que se presente una menor cantidad de acrilamida (30%) en comparación con las que no han sufrido dicha operación (Tabla 2). Esto se puede deber a que parte de los precursores de acrilamida, como azúcares reductores libres y aminoácidos, se solubilizan en el agua de lavado y se produce una rápida difusión u ósmosis de los mismos hacia el líquido de gobierno. Ello se debe a que estos compuestos son hidrosolubles e hidrolíticos y por ello el equilibrio químico está desplazado hacia el líquido de gobierno, haciendo que la aceituna baje finalmente el contenido en acrilamida. Además este proceso osmótico es favorecido por los tratamientos previos con NaOH para eliminar los compuestos amargos, haciendo que la aceituna presente mayor ‘porosidad’ y por tanto permiten una mejor difusión de estos compuestos.

En este sentido, cabe mencionar los trabajos de otros autores (Montaño *et al.*, 2008) que estudiaron el efecto del lavado en las aceitunas durante el cocido y como afectaban las condiciones de procesamiento en los contenidos de acrilamida. Estos comprobaron que las aceitunas con una concentración menor en acrilamida fueron las que sufrieron un proceso de lavado de doble duración. Los lavados reducían el contenido en acrilamida aproxima-

damente un 50 % en la variedad “Manzanilla Sevillana’, pasando de 1.340 ppb a 680 ppb; y alrededor de un 80% en la variedad “Hojiblanca’, pasando de 1.130 ppb a 200 ppb. Estos valores de reducción son muy superiores a los obtenidos en nuestro estudio, probablemente debido a que el tiempo de lavado en nuestros experimentos fue de menor duración; además, el proceso de lavado fue realizado por estos investigadores durante el proceso de cocido de las aceitunas favoreciéndose así una mayor difusión y eliminación de los precursores formadores de acrilamida, porque la aceituna tras el cocido adquiere una textura con menor dureza.

Finalmente destacar que la textura o dureza que presenta la aceituna tras los lavados tampoco sufre ninguna modificación representativa con la que podamos llegar a alguna diferencia en sus características.

4. CONCLUSIONES

Las aceitunas negras oxidadas al estilo Californiano sin líquido de gobierno constituye un producto estable innovador con alto contenido en acrilamida que es sintetizado tras someter al producto a un proceso de esterilización térmica. El contenido en esta sustancia tóxica se podría ver disminuida significativamente realizando lavados previos antes del envasado final del producto.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Consejería de Economía e Infraestructura de la Junta de Extremadura por la financiación con cargo a la Ayuda para la realización de actividades de investigación y desarrollo tecnológico, de divulgación y de transferencia de conocimiento por los grupos de investigación de Extremadura (GR18162).

Además, agradecemos al Servicio de Análisis Elemental y Molecular del Servicio de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Extremadura por el desarrollo del método de determinación de acrilamida, y especialmente a M^a Dolores López Soto y Elena Rodríguez Paniagua por su ayuda en el desarrollo de este estudio.

5. BIBIOGRAFÍA

CASADO, F.J.; MONTAÑO, A. (2008). Influence of processing conditions on acrylamide content in black ripe olives. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 56: 2021-2027.

CASADO, F.J.; MONTAÑO, A.; SPITZNER, D.; CARLE, R. (2013). Investigations into acrylamide precursors in sterilized table olives: Evidence of a peptic fraction being responsible for acrylamide formation. *Food Chemistry*, 141: 1158-1165.

CASADO, F.J.; SÁNCHEZ, A.H.; MONTAÑO, A. (2010). Reduction of acrylamide content of ripe olives by selected additives. *Food Chemistry*, 119: 161-166.

PÉREZ-NEVADO, F.; CABRERA-BAÑEGIL, M.; REPILADO, E.; MARTILLANES, S.; MARTÍN-VERTEDOR, D. (2018). Effect of different baking treatments on the acrylamide formation and phenolic compounds in Californian-style black olives. *Food Control*. 10.1016/j.foodcont.2018.06.021.

ZHANG, Y.; HUANG, M.; WANG, Q.; CHENG, J. (2016). Structure-guided unravelling: Phenolic hydroxyls contribute to reduction of acrylamide using multiplex quantitative structure-activity relationship modelling. *Food Chemistry*, 199, 492-501.

Tabla 1. Influencia del líquido de gobierno en el contenido en acrilamida. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (con y sin salmuera). Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre las aceitunas y el líquido de gobierno para cada tratamiento (Test Tukey HSD, $p < 0,05$). Se representa la media \pm DE de experimentos independientes realizados por duplicado.

[ACRILAMIDA] (PPB)	CON SALMUERA	SIN SALMUERA
Aceituna	204,8 \pm 9,6 ^{a NS}	674,3 \pm 31,2 ^b
Líquido de gobierno	205,4 \pm 10,9	-

Tabla 2. Efecto de lavar las aceitunas negras oxidadas tras la oxidación y su posterior procesamiento. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (lavadas y sin lavar). Se representa la media \pm DE de experimentos independientes realizados por duplicado.

[ACRILAMIDA] (PPB)	ACEITUNAS SIN LAVAR	ACEITUNAS LAVADAS
Aceituna	674,3 \pm 31,2 ^b	474,3 \pm 21,7 ^a
Líquido de gobierno	-	-