

Efecto del deshuesado de la aceituna sobre el aroma del aceite de oliva virgen

Por P. Luaces, A.G. Pérez y C. Sanz*

Instituto de la Grasa - C.S.I.C. Dpto. Fisiología y Tecnología de Productos Vegetales.
Padre García Tejero, 4. 41012-Sevilla.
E-mail: sanzca@cica.es

RESUMEN

Efecto del deshuesado de la aceituna sobre el aroma del aceite de oliva virgen.

El deshuesado de la aceituna da lugar a una importante modificación del aroma del aceite de oliva virgen. La intensidad de esta modificación es característica de cada variedad. En los aceites obtenidos de aceitunas Verdial y Manzanilla se produce un incremento en el contenido de los compuestos de seis átomos de carbono (C6) que no se detecta en la variedad Picual. En las tres variedades estudiadas se observa un descenso del contenido de compuestos de cinco átomos de carbono (C5) así como del contenido en ésteres. En la variedad Verdial se ha comprobado que la modificación del aroma como consecuencia del deshuesado del fruto se debe tanto al daño tisular generado durante este proceso como a la ausencia de la semilla durante la molturación de la aceituna. Ambos factores contribuyen de forma independiente a la modificación del contenido de compuestos C6, C5 y ésteres en el aroma del aceite de oliva virgen procedente de aceituna deshuesada.

PALABRAS-CLAVE: : Aceituna - Aroma - Deshuesado - *Olea europaea* - Ruta lipoxigenasa

SUMMARY

The effect of olive fruit stoning on virgin olive oil aroma.

Olive fruit stoning gives rise to an important modification in olive oil aroma. The level of this modification is a function of the cultivar. An increment in the content of six-carbon compounds (C6) was observed in olive oils obtained from the cultivars Verdial and Manzanilla, but not in the cultivar Picual. In the three cultivars under study, contents of five-carbon compounds (C5) and esters decreased as a consequence of fruit stoning. The modification of olive oil aroma composition in the cultivar Verdial caused by olive fruit stoning was observed to be due both to tissue wounding and to the absence of the olive seed during the crushing-malaxation process to obtain olive oil aroma. Both factors contribute independently to the content modification of C6, C5 compounds and esters in the olive oil aroma from stoned fruits.

KEY-WORDS: Aroma - Lipoxigenase pathway - *Olea europaea* - Olive - Stoning.

1. INTRODUCCIÓN

El consumo de aceite de oliva virgen (AOV) se está incrementando a nivel mundial de forma continua, no sólo por sus propiedades nutritivas sino también por sus particulares características organolépticas que hacen a este producto único dentro del ámbito de las

grasas alimentarias. La obtención de un producto de alta calidad ha estimulado la investigación hacia el desarrollo de innovaciones tecnológicas que, sin embargo, deben ser cuidadosamente evaluadas antes de ser aplicadas a nivel industrial. En este sentido, recientemente se está desarrollando una nueva tecnología en el proceso de obtención del AOV que conlleva la retirada del hueso de la aceituna antes de su molturación. Frega et al. (1997) han encontrado que el proceso de deshuesado da lugar a un importante incremento de la estabilidad oxidativa en el AOV resultante. Este incremento de la estabilidad oxidativa podría ser debido a un menor contenido de enzimas con actividad oxidativa en el aceite, como una lipoxigenasa (LOX) que estaría presente en la semilla contenida en el hueso de la aceituna (Frega et al., 1997; Georgalaki et al., 1998). De esta forma, la semilla se comportaría como un material biológicamente activo en la catálisis de reacciones oxidativas durante el proceso de obtención del AOV. Junto a la implicación en la estabilidad oxidativa, el proceso de deshuesado parece que también da lugar a una modificación de la calidad organoléptica del producto final. En este sentido, los compuestos volátiles más importantes en el aroma del AOV, tanto desde un punto de vista cuantitativo como cualitativo, son los aldehídos y alcoholes de seis átomos de carbono (C6) y los ésteres correspondientes (Morales et al., 1994, 1999). Estos compuestos C6 son sintetizados a través de la ruta de la LOX a partir de ácidos grasos poliinsaturados que contienen una estructura Z,Z-1,4-pentadieno, como los ácidos linoleico (LA) y linolénico (LNA), acumulándose en el AOV durante los procesos físicos que ocurren en el proceso de extracción. En una primera etapa de la ruta, la LOX da lugar a los derivados 13-hidroperoxidados de los ácidos grasos poliinsaturados que son ulteriormente transformados por acción de la hidroperóxido-liasa (HPL) en aldehídos C6 (Olías et al., 1993; Salas y Sánchez, 1998 a, b). Estos aldehídos C6 pueden ser entonces reducidos mediante una actividad alcohol deshidrogenasa (ADH) a sus correspondientes alcoholes C6 (Salas y Sánchez, 1998 c) directamente o

tras una isomerización catalizada por la *Z3-E2* enal-isomerasa. Finalmente, mediante una alcohol-aciltransferasa (AAT) estos alcoholes C6 son convertidos en ésteres (Olías et al., 1993).

En la literatura científica se pueden encontrar algunos estudios dirigidos a dilucidar el papel que la pulpa de la aceituna tiene en la biosíntesis del aroma del AOV. Estos estudios se han llevado a cabo tanto desde un punto de vista analítico (Angerosa et al., 1999) como bioquímico (Olías et al., 1993; Salas y Sánchez, 1998 a, b, c). Sin embargo, son pocos los trabajos encaminados a determinar el papel de la semilla de aceituna en dicha biosíntesis. Una primera aproximación en este sentido sería estudiar el efecto que el proceso de deshuesado de la aceituna tiene sobre la composición del aroma del AOV, como parte integrante de la calidad organoléptica de este producto. La identificación de una actividad LOX en el endospermo de la semilla de aceituna que cataliza la producción de 13-hidroperóxido de LA (Georgalaki et al., 1998) evidencia el papel que la semilla de la aceituna puede jugar en la biosíntesis del aroma del AOV. Este hallazgo y el creciente interés que la obtención de AOV a partir de aceituna deshuesada está despertando nos ha llevado a estudiar el efecto que el proceso de deshuesado tiene sobre el aroma del AOV como parte fundamental de la calidad organoléptica de este producto.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico

Se recolectaron a mano y seleccionaron lotes homogéneos de aceitunas (*Olea europaea* L.) de las variedades Picual, Manzanilla y Verdial con índice de maduración 1 de acuerdo con García et al. (1996). Los frutos fueron inmediatamente trasladados al Instituto de la Grasa, distribuidos al azar en lotes de 2 Kg y acondicionados a 4°C. El deshuesado se llevó a cabo con un deshuesador Ulrich. Para ello, los frutos, tras el proceso de deshuesado, se mantuvieron a esta temperatura hasta completar los lotes para su molturación a fin de minimizar las reacciones químicas y bioquímicas derivadas del daño producido en la pulpa. La pulpa resultante se molturó directamente para obtener AOV procedente de frutos deshuesados (- H), o bien tras añadir los huesos resultantes del deshuesado (+ H) en el caso de los experimentos para determinar el efecto del daño del tejido y la ausencia de la semilla en la biosíntesis del aroma del AOV.

El aceite de cada tratamiento fue extraído por triplicado mediante un sistema Abencor (Martínez et al., 1975). El batido de la pasta resultante de la molturación se realizó durante 30 minutos a una temperatura de 30°C. Tras la centrifugación de la pasta el aceite se obtuvo por decantación y fue inmediata-

mente conservado a -18°C hasta el análisis por cromatografía gas-líquido de alta resolución (HRGC) de su aroma.

2.2. Análisis de compuestos volátiles del AOV

La extracción de los compuestos volátiles responsables del aroma del aceite se llevó a cabo por duplicado mediante la utilización de la técnica de microextracción en fase sólida del espacio de cabeza (HS-SPME). Las muestras a analizar consistían en 0,5 g de aceite sellados en vial de 10 mL. Una vez conseguido el equilibrio del espacio de cabeza a 40°C durante 10 min en placa calefactora, los compuestos volátiles se adsorbían con una fibra SPME del tipo DVB/Carboxen/PDMS (50/30µm) durante 50 min a la misma temperatura.

El análisis se llevó a cabo mediante HRGC por desorción directa de la fibra SPME en el inyector a 250°C en un equipo Hewlett-Packard 5890 equipado con columna DB-Wax 20M (30 m x 0,25 mm) y detector de ionización de llama operando a 250°C. Como gas portador se empleó nitrógeno y la temperatura de análisis consistió en isoterma a 40°C durante 6 min, iniciando entonces una rampa de temperatura de 6°C/min hasta 120°C. Los compuestos volátiles que forman parte del aroma del AOV fueron cuantificados a partir de curvas de calibrado calculadas para cada compuesto en aceite de girasol alto oleico redesodorizado.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La técnica HS-SPME ha demostrado ser una herramienta muy útil para el análisis cuantitativo del aroma del AOV (Vichi et al., 2003). Nuestros estudios previos han mostrado que la fibra con recubrimientos del tipo DVB/Carboxen/PDMS daba lugar, en los intervalos de concentración estudiados, a respuestas del detector más amplias y con mayor linealidad que otros tipos de recubrimientos. Estos resultados están de acuerdo con los presentados en una reciente publicación por Vichi et al. (2003) aunque nuestros datos indican la necesidad de un mayor tiempo de exposición de la fibra en el espacio de cabeza (50 min) con objeto de alcanzar el equilibrio de adsorción para la mayor parte de los compuestos presentes en el aroma del AOV.

Haciendo uso de la técnica HS-SPME se ha llevado a cabo un estudio del efecto del deshuesado de la aceituna sobre la composición del aroma del AOV resultante. La Tabla I muestra los resultados obtenidos en tres variedades cultivadas en España, Manzanilla, Picual y Verdial. El proceso de deshuesado da lugar a aceites con una importante modificación de su perfil aromático. Como se ha destacado en la Introducción, los compuestos C6 son los componentes mayoritarios del aroma de AOV y que más parecen contribuir a sus características definitorias.

Tabla I
Contenido en compuestos volátiles (ng/g aceite) en el aroma de aceite de oliva virgen de aceitunas deshuesadas (- H) frente al control en tres variedades de aceituna con índice de maduración 1. Los resultados son los valores medios de tres experiencias independientes con análisis del aroma por duplicado. El coeficiente de variación medio fue de 5,9%

	Picual		Manzanilla		Verdial	
	Control	- H	Control	- H	Control	- H
(E)-hex-3-enal	3442,2	2460,6	847,0	1974,4	838,2	1017,4
(Z)-hex-3-enal	20146,3	24253,3	13311,8	15236,5	9453,9	15317,3
(Z)-hex-2-enal	4271,7	4408,0	1151,4	2060,4	1126,3	1589,1
(E)-hex-2-enal	36499,8	16624,2	7233,8	9626,1	10894,2	10151,8
(E)-hex-3-enol	0,0	38,5	0,0	8,3	0,0	27,0
(Z)-hex-3-enol	396,3	6490,8	415,3	2155,3	338,8	4162,7
(E)-hex-2-enol	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	38,1
Total C6/LNA	64756,4	54275,4	22959,2	31061,1	22651,4	32303,3
Dímeros de penteno	5121,6	2560,6	5867,8	2809,8	5202,3	2183,2
pent-1-en-3-ona	852,6	330,8	1015,0	467,4	766,6	273,8
(Z)-pent-2-enal	80,8	69,2	61,9	61,9	112,8	63,2
(E)-pent-2-enal	0,0	31,4	43,5	0,0	88,5	43,8
pent-1-en-3-ol	773,7	319,2	1107,3	522,0	855,1	213,8
(E)-pent-2-en-1-ol	61,0	26,2	45,1	48,5	74,7	26,6
(Z)-pent-2-en-1-ol	570,2	335,6	542,6	636,9	715,8	368,9
Total C5/LNA	7460,0	3673,0	8683,2	4546,4	7815,8	3173,3
hexanal	4641,3	4383,4	313,0	2946,2	1129,7	2281,5
hexan-1-ol	64,2	1260,4	24,2	324,0	53,0	1196,5
Total C6/LA	4705,5	5643,8	337,3	3270,2	1182,7	3478,0
acetato de hexilo	146,4	20,9	0,0	0,0	169,2	105,3
acetato de (Z)-hex-3-en-1-ilo	655,8	265,8	203,1	77,8	613,1	455,2
Total ésteres LOX	802,2	286,6	203,1	77,8	782,3	560,4
acetato de metilo	217,6	105,6	78,5	166,8	240,4	242,8
acetato de etilo	51,3	41,2	9,2	25,2	43,1	19,2
acetato de 3-metilbut-1-ilo	43,8	21,6	11,1	14,3	9,9	3,5
hexanoato de metilo	0,0	69,8	82,3	0,0	2,7	26,9
hexanoato de etilo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Total ésteres no-LOX	312,6	238,2	181,1	206,4	296,1	292,5

El proceso de deshuesado modifica la concentración de estos compuestos mostrando un cierto grado de dependencia con la variedad de aceituna. Así, mien-

tras los aldehídos C6 derivados del LNA aumentan en concentración en torno al 27% como consecuencia del deshuesado en los aceites provenientes de

las variedades Manzanilla y Verdial, en los aceites de la variedad Picual se produce una reducción de su concentración en el mismo rango. Es de destacar que en las tres variedades estudiadas, el proceso de deshuesado de la aceituna da lugar a un incremento del contenido en (*Z*)-hex-3-enal en el aroma de los aceites que, en el caso de la variedad Picual, va acompañado de un importante descenso del contenido de (*E*)-hex-2-enal (54%). Este fenómeno tan pronunciado no se observa en las otras dos variedades lo que apuntaría a que en la variedad Picual la mayor parte de la actividad enal-isomerasa se localiza en la semilla. La gran concentración de (*Z*)-hex-3-enol que se observa en aceites de frutos deshuesados de esta variedad corroboraría esta hipótesis. La modificación de la concentración de hexanal (aldehído C6 derivado del LA) es paralela a la observada para los aldehídos C6 derivados de LNA. Se observa que por efecto del deshuesado se produce un incremento en la concentración de hexanal de aproximadamente nueve veces en la variedad Manzanilla y de dos veces en la variedad Verdial, fenómeno que no se observa en la variedad Picual. En cuanto a los alcoholes C6 derivados tanto de LNA como de LA, en todas las variedades se constata un incremento en su concentración por efecto del deshuesado del fruto. Estos alcoholes provienen de la acción de alcohol deshidrogenasas (ADH). De hecho, se han caracterizado tres proteínas con actividad ADH en pulpa de aceituna, una dependiente de NAD y dos de NADP, que serían las responsables de la síntesis de estos alcoholes durante el proceso de extracción del AOV (Salas y Sánchez, 1998 c).

Angerosa et al. (1999) también encontraron en el aroma del AOV extraído de aceitunas deshuesadas de la variedad italiana Coratina un fuerte incremento en el contenido de compuestos C6, mientras que el contenido en compuestos C5 prácticamente no sufría modificaciones como consecuencia del deshuesado. Estos mismos autores (Angerosa et al., 2000) han demostrado la importancia organoléptica de los compuestos C5 en el AOV, comprobando que esta clase de compuestos, especialmente la pent-1-en-3-ona, afecta de forma bastante apreciable la percepción de diferentes atributos, tanto relacionados con el olor como con el sabor, en el análisis sensorial del AOV. Como se muestra en la Tabla I, el deshuesado da lugar en todas las variedades españolas estudiadas a un importante descenso de la concentración de esta clase de compuestos volátiles que fluctúa en torno al 50% dependiendo de la variedad de aceituna. Esta observación es válida tanto para los alcoholes y derivados carbonílicos C5 como para los dímeros de penteno. El descenso equivalente que se produce en el contenido de todos los compuestos C5 (alcoholes, derivados carbonílicos y dímeros de penteno) como consecuencia del deshuesado de la aceituna en cada una de las variedades apoyaría la

hipótesis de un origen metabólico común para estos compuestos en AOV como ya ha sido sugerido por Angerosa et al. (1998, 1999). Así, los compuestos C5 se generarían a través de una rama adicional de la ruta de la LOX a partir de LNA, que incluiría la producción de un radical 13-alcoxilo tal y como se ha demostrado que ocurre en semillas de soja (Salch et al., 1995; Gardner et al., 1996). Este radical sufriría un proceso de β -escisión no enzimática para formar un radical alílico 1,3-penteno que a su vez podría dimerizarse químicamente y dar lugar a la familia de dímeros de penteno que se encuentran en el AOV o bien reaccionar con un radical hidroxilo para formar pentenoles. Estos pentenoles serían el origen de los derivados carbonílicos C5 también presentes en el aroma del AOV a través de la oxidación por proteínas con actividad ADH como ha sido sugerido que ocurre en hojas de soja (Fisher et al., 2003).

También se apreciaron modificaciones significativas en el contenido de ésteres en el aroma del AOV como consecuencia del deshuesado de la aceituna. Estas modificaciones, como en el caso de los otros compuestos volátiles, presenta una dependencia con la variedad de aceituna estudiada. El proceso de deshuesado da lugar a un importante descenso del contenido de ésteres en el aroma del AOV, siendo del 26% en Manzanilla, 21% en Verdial y 53% en Picual. Distinguiendo entre ésteres provenientes de la ruta de la LOX (Tabla I, ésteres LOX) y ésteres de otro origen metabólico (Tabla I, ésteres no-LOX) también se encuentran diferencias significativas entre variedades de aceituna. Así, en los aceites de la variedad Manzanilla y Picual se observa una reducción del contenido de ésteres derivados de la ruta LOX en torno al 63%, siendo esta disminución del 28% para los aceites de la variedad Verdial. En cuanto a los ésteres con otro origen metabólico distinto de la ruta LOX, prácticamente no se encontró modificación del contenido de estos ésteres en la variedad Verdial, mientras que en la variedad Manzanilla se aprecia un incremento (14%) y un descenso en la variedad Picual (24%).

El deshuesado de la aceituna, antes del proceso de molturación para la producción de AOV, conlleva no sólo el efecto derivado de la ausencia de la semilla durante este proceso de molturación, sino además el efecto derivado del daño que se provoca sobre el tejido. Dado que la ruta de la LOX ha sido siempre asociada a la destrucción de la integridad del tejido, el efecto por daño en el tejido del fruto debe, por tanto, jugar un papel importante en la biogénesis del aroma del AOV. A fin de cuantificar este efecto por daño tisular sobre la biogénesis del aroma del AOV se comparó el perfil aromático de aceites procedentes de frutos intactos de la variedad Verdial (Fig. 1, Control) con aquellos de frutos deshuesados a los que se añaden los huesos en la molturación (Fig 1, + H). Las modificaciones del aroma de los

AOV resultantes sólo serían atribuibles al daño provocado en el tejido del fruto, bien por acción de los sistemas enzimáticos presentes en la pulpa o en la semilla del fruto sobre el tejido ya dañado.

Como muestra la Figura 1, el daño tisular da lugar a un incremento del contenido en compuestos C6 (Fig. 1-A y B). En el caso de los aldehídos C6 este incremento es mayor para el hexanal (procedente de LA) (209%) que para los derivados de LNA (11%). El contenido en alcoholes C6 en el aroma del AOV es también bastante más alto en el fruto dañado que en el control, en torno a nueve veces. Asimismo, el contenido en ésteres (Fig. 1-D) se incrementa como consecuencia del daño tisular, tanto para ésteres procedentes de la ruta de la LOX (67%) como para ésteres procedentes de otras rutas metabólicas (30%). Sin embargo, el daño tisular da lugar a un descenso cercano al 50% en el contenido en compuestos C5 en el aroma del AOV (Fig. 1-C).

Estos datos no explican satisfactoriamente la modificación que se observa en el aroma del AOV de aceitunas deshuesadas (Tabla I), lo que indica que la semilla contenida en el hueso del fruto también debe jugar un papel importante en la biogénesis del aroma del AOV. Se puede obtener una idea aproximada de este papel comparando los perfiles aromáticos de los AOV obtenidos de frutos deshuesados (Fig. 1, -H) con aquellos de aceitunas deshuesadas a los que se añaden los huesos en la molturación (Fig. 1, +H). Dado que en ambos casos se ha causado el mismo grado de daño sobre el tejido, las diferencias en los perfiles aromáticos serían exclusivamente debidas a la contribución de la semilla durante la molturación del fruto.

Como podemos observar en la Figura 1-A y B, la ausencia de la semilla durante la molturación de la aceituna Verdial da lugar a un incremento del contenido en compuestos C6. Este incremento se da a ni-

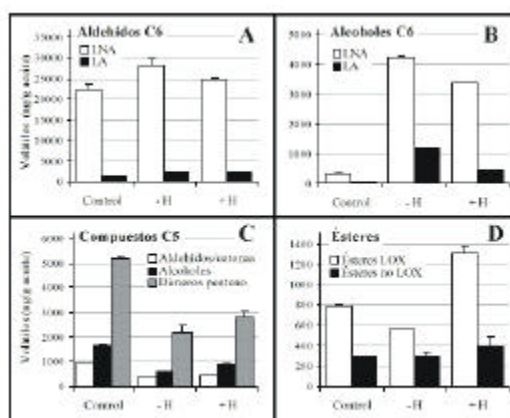


Figura 1

Contenido en aldehídos C6 (A), alcoholes C6 (B), compuestos C5 (C) y ésteres (D) en aceites de oliva virgen de la variedad Verdial procedentes de frutos intactos (Control), frutos deshuesados (-H) y frutos deshuesados a los que se añade el hueso en la molturación (+H).

vel de aldehídos y alcoholes C6, y tanto procedentes de LNA como de LA, siendo este incremento siempre superior en el caso de los alcoholes C6.

En cuanto a los compuestos C5, la ausencia de la semilla durante la molturación provoca un descenso del contenido de estos compuestos en el aroma del AOV, aunque no tan pronunciado como el que causa el daño tisular que antes se ha comentado. Estos datos indicarían que el menor contenido en compuestos C5 en el aroma del AOV procedente de aceituna deshuesada es debido principalmente al daño tisular y, en menor medida, a la ausencia de la semilla durante el proceso de molturación de la aceituna.

Por otra parte, también se ha observado que la ausencia de la semilla durante la molturación de la aceituna tiene un efecto contrario al provocado por el daño tisular en cuanto a la síntesis de ésteres (Fig. 1-D). Así, la ausencia de la semilla da lugar a un fuerte descenso en el contenido de ésteres en el aroma de AOV, mucho mayor para los ésteres derivados de la ruta de la LOX (57%) que para aquellos con otros orígenes metabólicos (24%). Estos datos indican que a pesar del incremento que se produce en el contenido de ésteres debido al daño tisular, prevalece el efecto que genera la ausencia de la semilla durante la molturación de la aceituna, de forma que se justifica el descenso global que se observa en el contenido de estos ésteres en el aroma de AOV procedente de aceitunas deshuesadas (Tabla I).

4. CONCLUSIONES

El deshuesado de la aceituna da lugar a una importante modificación del aroma del aceite de oliva virgen. La intensidad de esta modificación es característica de cada variedad de aceituna. En la variedad Verdial, el proceso de deshuesado de la aceituna da lugar a un incremento de los compuestos C6 en el AOV, inducido tanto por el daño tisular generado durante el proceso como por la ausencia de la semilla durante la molturación de la aceituna. Por el contrario, ambos factores ejercen un efecto negativo sobre la acumulación de compuestos C5 en el AOV de aceitunas deshuesadas. En el caso de los ésteres, ambos factores contribuyen en distinto sentido en la modificación de su contenido en el aroma del AOV procedente de aceituna deshuesada. El daño tisular, que favorece la acumulación de ésteres en el AOV, queda claramente contrarrestado por el efecto negativo en dicha acumulación provocado por la ausencia de la semilla durante el proceso de molturación de la aceituna para la producción de AOV.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo se ha realizado en el marco del Proyecto de Investigación AGL2002-02307 del Programa

Nacional de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias. Agradecemos a M^a Carmen Martínez-Peláez la ayuda prestada para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Angerosa, F., Basti, C., Vito, R. and Lanza B. (1999). Effect of fruit stone removal on the production of virgin olive oil volatile compounds. *Food Chem.*, **67**, 295-299.
- Angerosa, F., Camera, L., d'Alessandro, N. and Mellerio, G. (1998). Characterization of seven new hydrocarbon compounds present in the aroma of virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 648-653.
- Angerosa, F., Mostallino, R., Basti, C. and Vito, R. (2000). Virgin olive oil odour notes: their relationships with the volatile compound from the lipoxigenase pathway and secoiridoid compounds. *Food Chem.*, **68**, 283-287.
- Fisher, A.J., Grimes, H.D. and Fall, R. (2003). The biochemical origin of pentenol emissions from wounded leaves. *Phytochemistry*, **62**, 159-163.
- Frega, N., Caglioti, L. and Mozzon, M. (1997). Composizione chimica e parametri di qualità degli oli estratti da olive snocciolate. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, **74**, 241-245.
- García, J.M., Gutiérrez, F., Barrera, M.J. and Albi, M.A. (1996). Storage of mill olives on an industrial scale. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 590-593.
- Gardner, H.W., Grove, M.J. and Salch, Y.P. (1996). Enzymic pathway to ethyl vinyl ketone and 2-pentenol in soybean preparations. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 882-886.
- Georgalaki, M.D., Bachmann, A., Sotiroudis, T.G., Xenakis, A., Porzel, A. and Feussner, I. (1998). Characterization of a 13-lipoxygenase from virgin olive oil and oil bodies of olive endosperms. *Fett/Lipid.*, **100**, 554-560.
- Martínez, J.M., Muñoz, E., Alba, J. and Lanzón, A. (1975). Report about the use of the 'Abencor' analyser. *Grasas y Aceites*, **26**, 379-385.
- Morales, M.T., Angerosa, F. and Aparicio, R. (1999). Effect of the extraction conditions of virgin olive oil on the lipoxygenase cascade: Chemical and sensory implications. *Grasas y Aceites*, **50**, 114-121.
- Morales, M.T., Aparicio, R. and Ríos, J.J. (1994). Dynamic headspace gas chromatographic method for determining volatiles in virgin olive oil. *J. Chromatogr.*, **668**, 455-462.
- Oliás, J.M., Pérez, A.G., Ríos, J.J. and Sanz, C. (1993). Aroma of virgin olive oil: biogenesis of the green odor notes. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 2368-2373.
- Salas, J.J. and Sánchez, J. (1998a). Lipoxygenase activity from the pulp tissues of olive (*Olea europaea*) en *Advances in Plant Lipid*, p. 297-299. J. Sánchez, E. Cerdá-Olmedo and E. Martínez-Force (Eds.), Secretariado de Publicaciones. Universidad de Sevilla, Sevilla.
- Salas, J.J. and Sánchez, J. (1998b). Hydroperoxide lyase from olive (*Olea europaea*) fruits en *Advances in Plant Lipid*, p. 300-302. J. Sánchez, E. Cerdá-Olmedo and E. Martínez-Force (Eds.), Secretariado de Publicaciones. Universidad de Sevilla, Sevilla.
- Salas, J.J. and Sánchez, J. (1998c). Alcohol dehydrogenase from olive (*Olea europaea*) fruit. *Phytochemistry*, **48**, 35-40.
- Salch, Y.P., Grove, M. J., Takamura, H. and Gardner, H. W. (1995). Characterization of a C-5, 13- cleaving enzyme of 13-hydroperoxide of linolenic acid by soybean seed. *Plant Physiol.*, **108**, 1211-1218.
- Vichi, S., Castellote, A.I., Písale, L., Conte, L.S., Buxaderas, S. and López-Tamames, E. (2003). Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection. *J. Chromatogr.*, **983**, 19-33.

Recibido: Marzo 2003
Aceptado: Octubre 2003