

BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA ACEITUNA DE MESA: NUEVAS ESTRATEGIAS DE FERMENTACIÓN Y CONSERVACIÓN SOSTENIBLE

Patricia Gil Flores

David Penco Parra

Joaquín Bautista Gallego

*Departamento de Ciencias Biomédicas (Área de Microbiología),
Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura*

RESUMEN

La industria de la aceituna de mesa representa uno de los pilares fundamentales del sector agroalimentario en la cuenca del Mediterráneo, siendo España uno de los países con mayor producción a nivel mundial. En este artículo se describen diferentes soluciones a diversos problemas presentes en esta industria agroalimentaria. Para ello, se plantea un doble enfoque, abordando primero cómo mejorar los procesos fermentativos para luego plantear un nuevo sistema para mantener las condiciones de seguridad microbiológica durante el envasado. Ambas investigaciones permitirán, respectivamente, reducir los tiempos de fermentación en primeras semanas de dicho proceso, y reducir el uso de compuestos químicos antimicrobianos en los envasados mediante una metodología basada en la economía circular y el aprovechamiento de las aguas residuales del sector.

Estas investigaciones han sido financiadas tanto a nivel nacional como internacional, demostrando un elevado potencial de transferencia a la industria. Y sitúa a la Universidad de Extremadura como un referente en aplicaciones biotecnológicas aplicadas al sector de la aceituna de mesa.

1. INTRODUCCIÓN

La aceituna de mesa es considerada uno de los alimentos vegetales fermentados más antiguos del mundo y uno de los más populares en la dieta mediterránea dado su valor nutricional y su componente cultural. Las drupas de aceituna crudas contienen una elevada cantidad de componentes fenólicos, siendo la oleuropeína el más abundante en su composición. Esta molécula es la responsable del característico sabor amargo de la fruta cruda que impide su consumo directo (Erdemir et al., 2021).

Según la norma vigente de Calidad para las Aceitunas de Mesa elaborada por el Comité Oleícola Internacional (COI, 2004), se denomina “aceituna de mesa al producto preparado a partir de frutos sanos de variedades del olivo cultivado (*Olea europea*, L.), elegidas por producir frutos cuyo volumen, forma, proporción de pulpa respecto al hueso, delicadeza de la pulpa, sabor, firmeza y facilidad para separarse del hueso los hacen particularmente aptos para la elaboración; sometidos a tratamientos para eliminar el amargor natural y conservados mediante fermentación natural o tratamiento térmico, con o sin conservantes, envasados con o sin líquido de gobierno”.

Esta norma clasifica las aceitunas de mesa en tres tipos, atendiendo al grado de madurez de los frutos:

- Aceitunas verdes: frutos recogidos durante el ciclo de maduración, cuando han alcanzado su tamaño normal.
- Aceitunas de color cambiante: frutos recogidos antes de su completa madurez durante el envero.
- Aceitunas negras: frutos recogidos en plena madurez o poco antes de ella.

Aunque existen numerosos métodos de elaboración de aceitunas de mesa, son cuatro las principales preparaciones comerciales a escala mundial:

- Verde estilo español o sevillano: La primera etapa de elaboración de este estilo de aceitunas consiste en la eliminación de la oleuropeína mediante tratamiento alcalino (NaOH) (Figura 1). Las disoluciones suelen tener una concentración 2,0-2,5% en NaOH y se les deja penetrar hasta los 2/3 de la pulpa. El tratamiento suele durar en total alrededor de unas 5-9 h, dado que este tratamiento permeabiliza la piel y solubilizan los azúcares, minerales y otros nutrientes necesarios para la posterior etapa de fermentación. A continuación, los frutos se lavan con objeto de eliminar el exceso de sosa y se colocan en salmuera (10-12% NaCl) para que comience el proceso de fermentación.
- Aceitunas directas en salmuera: las aceitunas para este tipo de elaboración abarcan un amplio abanico que va normalmente desde verdes hasta negras naturales. Al ser aceitunas que se colocan directamente en salmuera, la flora propia del fruto adquiere una gran importancia, funcionando como un inóculo natural de microorganismo beneficiosos para la salmuera en la que se colocan. Normalmente, la concentración de sal que se utiliza es de entre 5-10%. Aunque estas son las prácticas más comunes en la elaboración de este tipo de aceitunas, puede variar dependiendo de la variedad de fruta utilizada y el momento de recolección.
- Aceitunas deshidratadas o arrugadas: obtenidas a partir de cualquiera de los tipos anteriores, tratadas o no con álcali, cuando las mismas están parcialmente deshidratadas.
- Aceitunas ennegrecidas por oxidación: obtenidas a partir de aceitunas verdes o de color cambiante, conservadas en salmuera o cualquier otra disolución y ennegrecidas por reacciones de oxidación.

La norma del COI contempla también las denominadas “especialidades”, donde se recoge cualquier otro tipo de preparación distinta a las anteriores. En este apartado se clasifica el producto denominado Aceituna Aloreña de Málaga, donde se emplea salmuera con adición de hierbas aromáticas naturales o esencias (aliñada).

Las aceitunas pueden igualmente ofrecerse al consumidor en diversas formas de presentación: enteras, deshuesadas, machacadas o partidas, seccionadas o rajadas, mitades, en cuartos, gajos, lonjas o rodajas, troceadas, rotas, rellenas de múltiples materias, para ensalada, alcaparrado (mezcla de aceitunas y alcaparras) o pasta. De todo lo anterior cabe deducirse que las formas de presentación que pueden encontrarse en los mercados son muy diversas y el número de presentaciones comerciales crece continuamente debido al desarrollo por parte de los técnicos de nuevos tipos de rellenos, aliños, formas de envases, etc.

Los dos primeros métodos explicados anteriormente, son las elaboraciones más utilizadas a nivel nacional. Al ser alimentos fermentados, los microorganismos responsables producen una bajada del pH que ayuda a alcanzar los niveles de acidez de seguridad alimentaria. Del mismo modo y de manera simultánea, se generan una amplia variedad de moléculas procedentes del metabolismo secundario de los microorganismos, que potencian el sabor y aroma del producto, añadiendo una complejidad y distinción en los matices del producto final.

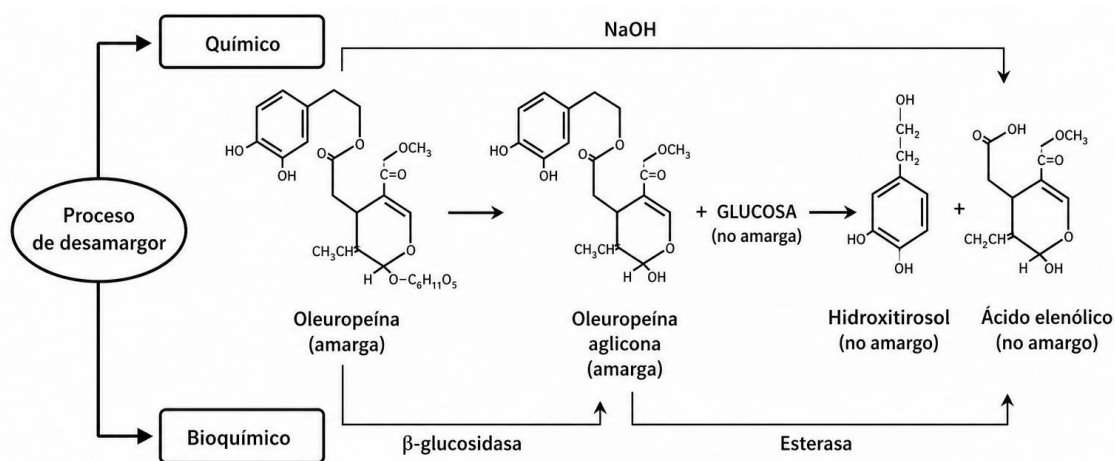


Figura 1. Hidrólisis química y bioquímica de la oleuropeína (Traducido de Boskou et al., 2015).

Generalmente, el proceso de fermentación sigue siendo un proceso tradicional, produciéndose en muchas ocasiones de manera espontánea. Los procesos no controlados asumen mucha variabilidad, poca reproducibilidad, y un aumento del riesgo de aparición de defectos como zapatería, alambrado o butírico, muy comunes en fermentación de aceitunas. Por ello, en los últimos años las empresas han empezado a implementar el uso de cultivos iniciadores, normalmente compuestos por bacterias ácido-lácticas (BAL), comúnmente *Lactiplantibacillus pentosus* o *Lactiplantibacillus plantarum*, solas o en combinación con levaduras como *Wickerhamomyces anomalus*. Esta práctica consigue un mejor control del proceso fermentativo. Estos inóculos, además de acelerar y acidificar los procesos fermentativos, pueden dominar el proceso de producción y desplazar con mayor facilidad a los posibles microorganismos perjudiciales relacionados con el deterioro del producto o peligrosos para la salud.

A la hora del envasado, la salmuera con la que será comercializado el producto final deberá ser capaz de mantener las cualidades organolépticas conseguidas durante las etapas anteriores y de conservar el alimento disminuyendo posibles alteraciones o re-fermentaciones. Los procesos de deterioro en esta última etapa suelen ser debidos a proliferación de microorganismos alterantes oportunistas, y re-fermentaciones por parte de los microorganismos que siguen presentes desde las primeras etapas de fermentación. Las empresas suelen solucionar los defectos provenientes de estos microorganismos dañinos mediante tratamientos térmicos, como la pasteurización o esterilización, aumentando la vida de mercado del producto. Sin embargo, estos tratamientos influyen tanto a nivel microbiológico (por ejemplo, reduciendo drásticamente la concentración de microorganismos con potencial probiótico incorporados a la aceituna) como su impacto en el sabor y los aromas de las aceitunas.

Por todo ello, la industria aceitunera se enfrenta en la actualidad a dos retos importantes relacionados con la optimización del proceso fermentativo y envasado. La búsqueda de nuevos microorganismos con características interesantes y capaces de reducir el tiempo de fermentación sin mermar el producto final es cada vez más necesario. Además, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2012) recomienda reducir la ingesta de sodio (< 5 g de sal/ día) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2015) fomenta la reducción del uso de sorbato potásico (conservante alimentario ampliamente usado en la industria de la aceituna de mesa), por lo que es necesario establecer nuevas alternativas que permitan alcanzar estos objetivos.

En la Universidad de Extremadura, gracias a la concesión de proyectos tanto a nivel nacional como europeo (PID2021-125864OA-I00 y PRIMA/PCI2024-153484), se profundiza en la investigación de búsqueda de nuevas levaduras autóctonas capaces de mejorar el proceso fermentativo y de la disminución de sal y aditivos en el proceso de envasado, respectivamente, se permitió proponer un producto final que cumpla las expectativas y sea seguro para el consumidor.

2. INNOVACIÓN APLICADA A LA ETAPA FERMENTATIVA

En la elaboración de aceituna de mesa verde estilo español, el cocido con sosa y la puesta en salmuera crean un entorno muy hostil para la supervivencia de los microorganismos dado que generalmente el pH inicial es muy alcalino (valores de 8-11 pH) y contiene porcentajes de sal altos (8-12%), además, el contenido en azúcares disponibles es muy bajo, lo que limita el crecimiento de los microorganismos presentes de manera natural en la materia prima (Figura 2).



Figura 2. Esquema general del método de elaboración español de aceituna de mesa.

En la fase inicial de la fermentación, la industria suele añadir ácidos para producir una bajada de pH hasta niveles de 6-7 aproximadamente, para facilitar la estabilización del proceso y permitir el desarrollo de los microorganismos que llevarán a cabo la fermentación. Los géneros de levaduras más representativos de este estilo son *Candida*, *Wickerhamomyces*, *Pichia* y *Debaryomyces*, entre otros, y son estas levaduras las que, mediante reacciones bioquímicas, producen alcoholes superiores, ácidos orgánicos y vitaminas.

Durante estas primeras etapas, se produce una difusión paulatina de azúcares y otros metabolitos desde la pulpa hasta la salmuera. Además, este aumento de compuestos permitirá la proliferación de las bacterias lácticas y por tanto la producción de ácido L-láctico. De esta manera, se genera una acidificación de la salmuera, llegando hasta valores de pH por debajo de 4,2, el cual se denomina *valor de seguridad microbiológica*, dado que se impide el desarrollo de microorganismos alterantes no deseados. Durante todo este proceso fermentativo, hay que destacar que la epidermis de la aceituna es colonizada por los microorganismos gracias a la formación de una biopelícula formada por las bacterias lácticas, pero en la que también participan levaduras. Es decir, se establece un consorcio estable entre estos dos grupos de microorganismos y que perdurará hasta el producto final, siempre y cuando no se apliquen tratamientos de calor (Arroyo-López et al., 2012).

Dentro de las actividades contempladas en el proyecto QUICKOLIVES, se ha querido dar solución a varios problemas que ocurren en las primeras etapas de este estilo de elaboración. Esta propuesta ha estudiado el uso de nuevos cultivos iniciadores en la industria que sean capaces de acelerar el proceso de fermentación y reducir la posible aparición o desarrollo de microorganismos alterantes más comunes en estos primeros momentos. Para ello, detectamos que la levadura *Lachancea thermotolerans*, por sus características genéticas y tecnológicas, podría suponer un avance biotecnológico en este tipo de fermentaciones. Para ello, se aislaron e identificaron varios centenares de levaduras pertenecientes a esta especie y se analizaron con el fin de detectar aquellas cepas con características más deseables para la elaboración de aceituna de mesa. Concretamente, se evaluó su tolerancia a alta salinidad y a pH alcalino, dado que son las condiciones típicas de principio de

fermentación. Además, *L. thermotolerans* ha sido descrita como una levadura que se caracteriza por su elevada capacidad de producción de ácido L-láctico. Esta cualidad es cepa-dependiente y está muy influenciada por las condiciones ambientales en que se encuentren.

Los resultados obtenidos demuestran que, en términos generales, la mayoría de las cepas toleran concentraciones de sal hasta el 10% e incluso rangos de pH desde 6 hasta 10 unidades. Del mismo modo, se determinó que poseen una elevada resistencia a la oleuropeína. Estos resultados muestran un perfil muy adecuado para su utilización en fermentaciones de aceitunas, mejorando incluso el comportamiento de levaduras típicas de estos procesos fermentativos como *Wickerhamomyces anomalus* y *Candida boidinii* (Gil-Flores et al., 2026a).

En cuanto a la producción de ácido L-láctico, se encontró un perfil cepa-dependiente, es decir, la gran mayoría son productoras, mientras que un número limitado de ellas carecen de dicha capacidad. Destaca, además, que se encontraron cepas superproductoras capaces de generar más de 2 g/L en solo 48 h, en condiciones controladas de laboratorio. Para corroborar dicha producción en un contexto de fermentación más parecida a las condiciones industriales, se valoró también su comportamiento en presencia de oleuropeína (Gil-Flores et al., 2026b). La presencia de este compuesto provocó una disminución en la producción de ácido L-láctico, aunque varias cepas superproductoras fueron capaces de mantener niveles similares. Por todo ello, la mejora biotecnológica que presenta el proyecto QUICKOLIVES, es la utilización de *L. thermotolerans* como cultivo iniciador de la fermentación de aceitunas de mesa. Cabe destacar que este microorganismo nunca ha sido utilizado en la producción este alimento, aunque siempre ha estado vinculado a otros alimentos, como bebidas fermentadas. Su gran capacidad de tolerar altas concentraciones de sal y pH alcalino hace que pueda sobrevivir, imponerse y dirigir el proceso fermentativo. Además, la producción de ácido L-láctico haría, no solo acondicionar el medio para que las bacterias lácticas proliferen antes, sino que ayudaría a alcanzar el pH de seguridad microbiológica (<4,2) en un periodo de tiempo más breve, acortando así el periodo fermentativo (Figura 3).

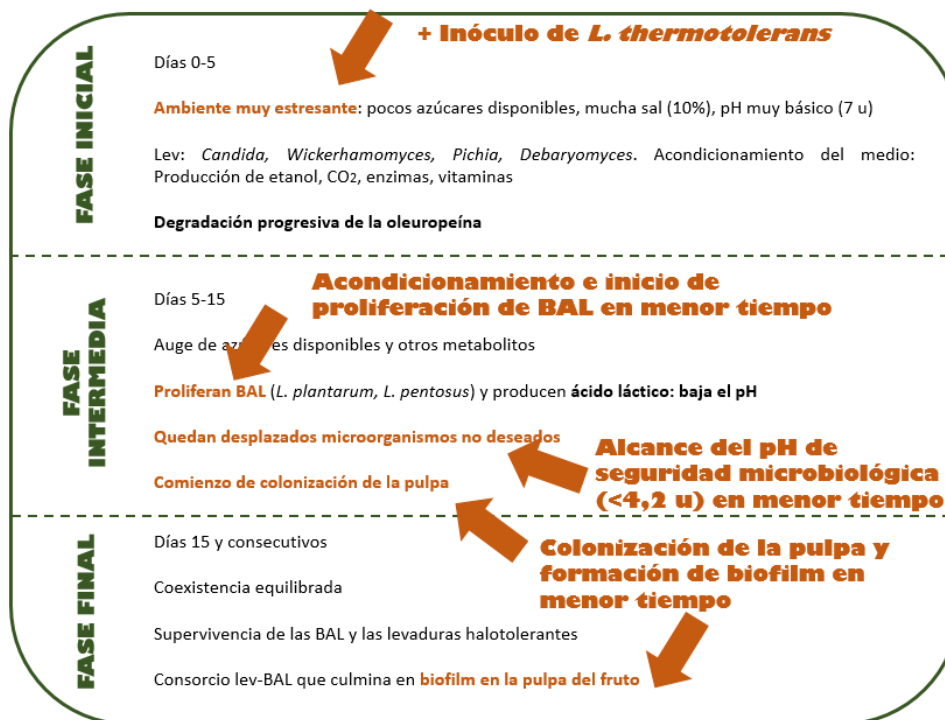


Figura 3. Esquema de las tres fases de la fermentación de aceituna de mesa. En naranja: mejoras biotecnológicas de *L. thermotolerans* durante la fermentación de aceituna de mesa.

3. INNOVACIÓN APLICADA A LA ETAPA DE ENVASADO

Los sistemas de conservación de los productos envasados finales pueden ser diversos. Están más explícitamente descritos en la normativa española (Ministerio de la Presidencia y para las administraciones territoriales, 2016), aunque en las normas del COI se establecen asimismo unos límites relativamente estrictos, con objeto de evitar riesgos sanitarios (COI, 2004). Se puede llevar a cabo la estabilización únicamente atendiendo a las características fisicoquímicas. En caso de productos menos estables, es necesario acudir a tratamientos de pasteurización o al uso de conservantes (sorbato potásico y benzoato sódico). Finalmente, las aceitunas tipo negras, al ser un producto de baja acidez ($\text{pH} > 4,6$) requieren obligatoriamente un tratamiento térmico de esterilización, dado que no se llega a alcanzar el pH de seguridad alimentaria ($\text{pH} < 4,2$).

La composición de la salmuera del envasado suele estar formada por ácidos (como el ácido cítrico o el ácido ascórbico), y de sales como cloruro sódico (NaCl) y sorbato potásico. NaCl es el agente conservante de alimentos más utilizado por el hombre en su historia. No solo se utiliza por su efecto conservante, sino también por su influencia en el sabor. Sin embargo, dado que un consumo elevado está estrechamente relacionado con problemas de salud (OMS, 2012), los consumidores cada vez demandan más alimentos con bajo contenido en sodio. Además, la EFSA ha subrayado que el uso de cualquier agente conservante debe ser la "última opción", y recomiendan que su empleo se limite a niveles estrictamente necesarios para evitar riesgos microbiológicos que no puedan controlarse por otros medios (EFSA, 2015).

Por todo ello, en los últimos años, algunas investigaciones han evaluado el posible uso de otras sales (como KCl , CaCl_2 y ZnCl_2) como sustitutos del NaCl o como posibles agentes conservantes alternativos. Para ello, se han realizado pruebas de supervivencia o disminución de poblaciones de microorganismos alterantes o patógenos, así como la alteración en el sabor en el producto final. De todas ellas, ZnCl_2 mostró resultados prometedores: no tenía efectos negativos en las características organolépticas en comparación con el producto tradicional, acidificaba más el medio y mostraba una buena actividad fungicida (Bautista-Gallego et al., 2012; Bautista-Gallego et al., 2014).

Continuando esta línea de investigación, en 2024 obtuvimos financiación de fondos europeos dentro del programa PRIMA, mediante un consorcio formado por grupos de investigación de Turquía, Túnez, Portugal y España. Este proyecto, denominado OLIVEPACK, desarrolla un sistema de envasado antimicrobiano innovador para aceitunas de mesa que podría permitir reducir el contenido en sodio y eliminar el uso de conservantes químicos, mejorando su calidad, seguridad y vida de mercado. Para ello, se utilizó materiales biodegradables y antimicrobianos obtenidos de subproductos del olivo, los cuales se integran en espumas bionanocompuestas biodegradables con capacidad antimicrobiana (Figura 4). El proyecto se alinea con la economía circular mediante la valorización de subproductos del sector oleícola y la reutilización de recursos locales, contribuyendo a la reducción de residuos conforme a la Directiva Marco de Residuos. Asimismo, apoya la transición hacia sistemas alimentarios más sostenibles, en línea con el Plan de Acción de Economía Circular de la UE, integrando la mejora de la conservación del producto con la sostenibilidad del proceso. En la Universidad de Extremadura (UEX) se llevan a cabo todos los bloques de experimentación de la parte microbiológica.

Primero, se purificó hidroxitirosol (un derivado de la oleuropeína) a partir de aguas residuales del propio sector y se introdujo en unas espumas diseñadas previamente. La composición de estas espumas es celulosa y quitosano (compuestos procedentes de madera de olivo) y en ella hay nanotúbulos de haloisita rellenos por el compuesto de estudio. Estas espumas se caracterizan por su porosidad, estabilidad y capacidad de liberar de forma controlada y progresiva los agentes antimicrobianos. Posteriormente, se evaluó su eficacia mediante "*challenge tests*", análisis bioinformático, estudios de vida de mercado y análisis de calidad en aceitunas de distintos países. Además, se incluyen estudios de aceptación por parte de consumidores y productores. El enfoque combina diferentes técnicas avanzadas de varios campos científicos, con un desarrollo progresivo desde laboratorio hasta validación en condiciones reales, orientado a obtener un producto listo para su aplicación industrial.



Figura 4. Esquema general del proyecto OLIVEPACK.

Como resultado, se desarrollaron esas espumas con actividad antimicrobiana y que han permitido reducir la concentración de sal a la mitad (del 6% al 3%) sin perjuicio de la seguridad del producto. De todas formas, y dado que esta metodología está siendo actualmente mejorada, se espera bajar dicha concentración hasta 1,5%, lo que supondría una reducción del 75% de la sal utilizada actualmente en el sector. En este desarrollo han participado varias empresas tanto de Extremadura como de Andalucía, lo que escenifica el interés que ha generado ambos avances biotecnológicos.

4. IMPACTO DE LAS INVESTIGACIONES

España es uno de los principales productores de aceituna de mesa a nivel mundial y su sector tiene una gran relevancia no solo económica, sino también a nivel cultural y medioambiental. Sin embargo, la creciente competencia internacional y el cambio climático amenazan su estabilidad, lo que hace necesario el desarrollo de productos agroalimentarios locales de mayor calidad, seguridad y sostenibilidad. Desde la UEx se plantea la generación de conocimiento transferible sobre procesos de fermentación, envasado y biotransformación, aplicable no solo a aceitunas, sino también a otras frutas y vegetales fermentados.

Ambos proyectos tienen un importante impacto socioeconómico, con la participación e interés de empresas del sector, denominaciones de origen y asociaciones profesionales, como Jolca, Aceitunas Bravo, Sociedad Cooperativa Corazón de Jesús, Cealsa, DOP Aloreña de Málaga, entre otros, con las que se ha colaborado en ambos proyectos.

En conjunto, estas investigaciones buscan mejorar la seguridad alimentaria, la calidad sensorial y la competitividad del sector, favoreciendo al mismo tiempo la conservación de la biodiversidad microbiana y el desarrollo de una industria más sostenible y adaptada a las nuevas demandas del mercado. Además, se espera un impacto en la mejora de la competitividad internacional de España, el desarrollo de nuevas recomendaciones para la industria y el fortalecimiento de la colaboración científica con grupos de Europa, el Mediterráneo y América.

Agradecimientos

Proyecto PID2021-125864OA-I00 financiado por MICIU/AEI/10.13039/ 501100011033/ y por FEDER. Proyecto PCI2024-153484 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033/ y Cofinanciado por la Unión Europea. David Penco-Parra y Patricia Gil-Flores agradecen sus contratos de investigación PCI IN000616 y IN000616/IN000286 financiados por MICIU y FEDER, respectivamente.

5. BIBLIOGRAFÍA

- ARROYO-LÓPEZ, F.N., BAUTISTA-GALLEGO, J., DOMÍNGUEZ-MANZANO, J., ROMERO-GIL, V., RODRÍGUEZ-GÓMEZ, F., GARCÍA-GARCÍA, P., GARRIDO-FERNÁNDEZ, A., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. (2012). "Formation of lactic acid bacteria-yeasts communities on the olive surface during Spanish-style Manzanilla fermentations". *Food Microbiology*, 32, 295-301.
- BAUTISTA-GALLEGO, J., ARROYO-LÓPEZ, F.N., ROMERO-GIL, V., RODRÍGUEZ-GÓMEZ, F., GARRIDO-FERNÁNDEZ, A., (2015). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 1670-1677.
- BAUTISTA-GALLEGO, J., ROMERO-GIL, V., GARRIDO-FERNÁNDEZ, A., ARROYO-LÓPEZ F.N. (2012). "Modeling the inhibitory effects of zinc chloride on table olive related yeasts". *Food Control*, 23, 499-505.
- BOSKOU, D., CAMPOSEO, S., CLODOVEO, M.L. (2015). "Table olives as sources of bioactive compounds". *Olive and Olive Oil Bioactive Constituents*. Urbana: AOCS Press, pp. 217-259.
- CONSEJO OLEÍCOLA INTERNACIONAL (COI) (2004). *Norma comercial aplicable a las aceitunas de mesa*. Madrid: Consejo Oleícola Internacional.
- ERDEMİR TIRAŞ, Z., KALKAN YILDIRIM, H. (2021). "Application of mixed starter culture for table olive production". *Grasas y Aceites*, 72(2), e405. DOI: 10.3989/gya.0220201.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2015). *Re-evaluation of sorbic acid (E 200), potassium sorbate (E 202) and calcium sorbate (E 203) as food additives*. *EFSA Journal*, 13(6), 4144. DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4144.
- GIL-FLORES, P., PENCO-PARRA, D., BAUTISTA-GALLEGO, J. (2026a). "Evaluating *Lachancea thermotolerans* for table olive fermentation: performance under pH and NaCl stress conditions". *Frontiers in Microbiology*, 17:1846416.
- GIL-FLORES, P., PENCO-PARRA, D., BAUTISTA-GALLEGO, J. (2026b). "Characterization of Novel *Lachancea thermotolerans* Strains for Application in Table Olive Fermentation". *Foods*, 15, 1883.
- LÓPEZ-LÓPEZ, A., BAUTISTA-GALLEGO, J., MORENO-BAQUERO, J. M., GARRIDO-FERNÁNDEZ, A. (2016). "Fermentation in nutrient salt mixtures affects green Spanish-style Manzanilla table olive characteristics". *Food Chemistry*, 211, 415-422.
- MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA Y PARA LAS ADMINISTRACIONES TERRITORIALES (2016). Real Decreto 679/2016, de 16 de diciembre, por el que se establece la norma de calidad de las aceitunas de mesa. Boletín Oficial del Estado (BOE), núm. 304, de 17 de diciembre de 2016, 88525-88533.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) (2012). *Directriz: ingesta de sodio en adultos y niños*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.