

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**ESTUDIO ANALÍTICO COMPARADO
ENTRE EL ACEITE DE ACEBUCHINA
Y EL ACEITE DE OLIVA VIRGEN**

TESIS DOCTORAL

JESÚS ESPEJO MAQUEDA

Sevilla, 2005

AGRADECIMIENTOS.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han hecho de alguna forma posible que salga a la luz esta tesis doctoral, y especialmente:

A la Dra. Doña Rosario Escobar Godoy y al Dr. D. Alfonso Guiraúm Pérez por la dirección de esta tesis.

Al Dr. D. Alfonso Guiraúm Pérez, Director del Departamento de Química Analítica, por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo.

A la Dra. Doña Rosario Escobar Godoy, profesora emérita de la Universidad de Sevilla, por su ayuda, tesón, estímulo, y comprensión demostrado en todo momento y, junto a su marido D. Luís Aguilar Martínez por su amistad y ayuda de manera desinteresada.

Al Dr. D. Gustavo González González por su interés y colaboración necesaria, aportando sus conocimientos en la consecución de este trabajo.

Al Dr. D. Santiago Silvestre Domingo por su amabilidad y asesoramiento, dándonos ayuda y consejos necesarios en la redacción de esta tesis.

Al Dr. D. Miguel Ternero Rodríguez por haberme brindado su amistad y demostrarme su interés.

A todos los miembros de Laboratorio Espejo S.C.A., a mi padre, hermanos, familiares y compañeros, por su mayor o menor aportación, gracias por haber podido llevar a cabo esta tesis. Especialmente a Mamen, Pepi, Laura, Eloy y Alberto por ofrecerme ayuda cuando fue necesario.

A todo el personal del Departamento de Química Analítica por su amabilidad y ayuda.

A los químicos de Aceites del Sur, Miguel Ángel Asagra y Nacho Sauquillo por su amistad y ayuda para el procesamiento de las muestras.

A Paco Sánchez Romero, por su larga amistad y por tener el acebuche centenario inspirador de esta tesis doctoral.

A mi amigo José Manuel de Punta Umbria, por sus conocimientos forestales aportados.

A Jose por su amistad y sus buenos consejos para la realización de la tesis.

A mi amigo Abdel por su ayuda desinteresada y por los buenos momentos de risas compartidos.

A mis padres, Joaquín y Natividad, por creer y confiar en mí, demostrándome siempre preocupación, interés y cariño.

A mi familia, a mi mujer Isabel por estar siempre a mi lado, y por ser uno de los artífices, junto a mi padre, en el empuje para la realización de esta tesis. Sin su ilusión no hubiera sido posible.

A mis hijos Isabel y Jesús por su paciencia, ilusión en la recolección de acebuchinas, y por los buenos momentos compartidos en familia bajo los acebuchales.

Y por último, doy gracias a Dios por la terminación felizmente de esta tesis.

**A mi mujer Isabel,
a mis hijos Isabel y Jesús
y a mis padres.**

“...los árboles se pusieron en camino para buscar un rey a quien ungir. Dijeron al olivo: “Sé tú nuestro rey”. Les respondió el olivo: “¿Voy a renunciar al aceite con el que, gracias a mí, son honrados los dioses y los hombres para ir yo a vagar por encima de los árboles?”

Jueces, 9:8-9

ÍNDICE.

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN	1
I.1. Génesis y objetivos.....	3
I.1.1. Génesis	3
I.1.2. Objetivos	4
I.2. Los árboles: acebuche y olivo	4
I.2.1. Clasificación botánica	4
I.2.2. Caracterización morfológica	5
I.2.3. Distribución y ecología	15
I.2.4. Problemas botánicos.....	18
I.2.5. Criterios de separación entre los restos de acebuche y olivo cultivado	22
I.2.6. Antecedentes históricos.....	24
I.2.7. Pequeñas pinceladas históricas.....	32
I.2.8. Mitos y leyendas.....	34
I.3. Los frutos: acebuchina y aceituna	37
I.3.1. Características de la acebuchina.....	37
I.3.2. Características de la aceituna	39
I.3.3. Composición química de la aceituna.....	40
I.3.3.1. Agua.....	40
I.3.3.2. Azúcares	41
I.3.3.3. Proteínas	41
I.3.3.4. Pigmentos	41
I.3.3.5. Componentes fenólicos (Oleuropeina)	42
I.3.3.6. Ácidos orgánicos	43
I.3.3.7. Sustancias minerales.....	43
I.3.4. Análisis de los frutos: acebuchina y aceituna.....	43
I.3.4.1. Calibrado de los frutos.....	44
I.3.4.2. Peso de los frutos.....	44
I.3.4.3. Humedad.....	44
I.3.4.4. Rendimiento graso de los frutos	45
I.3.4.5. Acidez del aceite extraído.....	45
I.4. Los aceites de acebuchina y de oliva	46
I.4.1. Obtención del aceite en la almazara (molino).....	46
I.4.1.1. Obtención por presión	47

I.4.1.2. Obtención por centrifugación	52
I.4.1.3. Obtención por percolación.....	55
I.4.1.4. Sistema combinado de extracción	57
I.4.2. Obtención del aceite a escala de laboratorio	58
I.5. Composición química de los aceites	61
I.5.1. Fracción saponificable.....	62
I.5.1.1. Ácidos grasos.....	62
I.5.1.2. Triglicéridos.....	63
I.5.1.3. Mono y diacilgliceroles	63
I.5.1.4. Ceras	64
I.5.1.5. Ésteres de esteroides.....	65
I.5.1.6. Fosfolípidos o fosfátidos	65
I.5.2. Fracción insaponificable.....	66
I.5.2.1. Hidrocarburos	66
I.5.2.1.A. Hidrocarburos terpénicos.....	66
I.5.2.1.B. Hidrocarburos esteroideos.....	67
I.5.2.1.C. Hidrocarburos policíclicos aromáticos.....	67
I.5.2.2. Tocoferoles	68
I.5.2.3. Alcoholes grasos.....	71
I.5.2.3.A. Alcoholes alifáticos o lineales	71
I.5.2.3.B. Alcoholes triterpénicos	71
I.5.2.3.C. Diterpenoides	73
I.5.2.4. Esteroides.....	73
I.5.2.5. 4 α -metil-esteroides	77
I.5.2.6. Dialcoholes triterpénicos	78
I.5.2.7. Ácidos hidroxitriterpénicos	79
I.5.2.8. Pigmentos	79
I.5.2.9. Compuestos fenólicos.....	80
I.5.2.10. Compuestos volátiles y aromáticos	82
I.5.2.11. Metales.....	83
I.6. Análisis de los aceites: determinación de los parámetros físico-químicos de los aceites de acebuchina y de oliva.....	84
I.6.1. Determinación del color	84
I.6.2. Determinación de la acidez	84

I.6.3. Determinación del índice de peróxidos	85
I.6.4. Determinación espectrofotométrica en el ultravioleta.....	86
I.6.5. Determinación de la estabilidad	86
I.6.6. Determinación de los ácidos grasos	88
I.6.7. Determinación de los triglicéridos	89
I.6.8. Determinación de los esteroides.....	91
I.6.9. Determinación del eritrodol más el uvao	192
I.6.10. Determinación de los alcoholes alifáticos.....	93
I.6.11. Determinación las ceras.....	94
I.6.12. Determinación de los tocoferoles.....	94

CAPÍTULO II.

PARTE EXPERIMENTAL.....	97
II.1. Material, reactivos y disoluciones empleados	99
II.2. Aparatos	102
II.3. Toma y tratamiento de muestras.....	104
A. Localización y recolección.....	104
B. Limpieza	117
C. Calibrado.....	117
D. Extracción del aceite.....	118
E. Rendimiento.....	119
II.4. Procedimientos	122
II.4.1. Frutos (acebuchina).....	122
II.4.1.a. Humedad.....	122
II.4.1.b. Grasa total	123
II.4.1.c. Acidez.....	124
II.4.2. Aceites (de acebuchina y de oliva)	124
II.4.2.a. Color	126
II.4.2.b. Acidez.....	126
II.4.2.c. Índice de peróxidos.....	127
II.4.2.d. Ensayo espectrofotométrico en el ultravioleta	128
II.4.2.e. Estabilidad u oxidación inducida (“RANCIMAT”).....	130
II.4.2.f. Ácidos grasos	131
II.4.2.g. Triglicéridos	134

II.4.2.h. Esteroles	137
II.4.2.i. Eritrodiol mas uvaol	143
II.4.2.j. Alcoholes alifáticos	145
II.4.2.k. Ceras	149
II.4.2.l. Tocoferoles.....	153

CAPÍTULO III.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA Y DISCUSIÓN

III.1. Estadística básica utilizada	159
III 2. Frutos (acebuchinas).....	161
III.2.1 Calibre de los frutos.....	161
III.2.2. Rendimiento graso de los frutos	165
III.3. Aceites vírgenes (de acebuchina y de oliva)	171
III.3.1. Parámetros de calidad de los aceites de acebuchina.....	173
III.3.2. Parámetros de calidad de los aceites de oliva.....	175
III.3.3. Color de los aceites de acebuchina	180
III.3.4. Color de los aceites de oliva	183
III.3.5. Ácidos grasos de los aceites de acebuchina.....	186
III.3.6. Ácidos grasos de los aceites de oliva.....	192
III.3.7. Triglicéridos de los aceites de acebuchina.....	201
III.3.8. Triglicéridos de los aceites de oliva.....	208
III.3.9. Esteroles de los aceites de acebuchina.....	217
III.3.10. Esteroles de los aceites de oliva.....	224
III.3.11. Eritrodiol mas uvaol de los aceites de acebuchina	232
III.3.12. Eritrodiol mas uvaol de los aceites de oliva	234
III.3.13. Alcoholes alifáticos de los aceites de acebuchina	238
III.3.14. Alcoholes alifáticos de los aceites de oliva	242
III.3.15. Ceras de los aceites de acebuchina	249
III.3.16. Ceras de los aceites de oliva	253
III.3.17. Tocoferoles (vitamina E) de los aceites acebuchina.....	260
III.3.18. Tocoferoles (vitamina E) de los aceites de oliva.....	263
III.4. Discusión sobre la capacidad diferenciadora de los distintos parámetros.....	267

CAPÍTULO IV.

ESTUDIO DE LA DIFERENCIACIÓN ENTRE EL ACEITE DE OLIVA Y EL DE ACEBUCHINA 275

IV.1 Métodos de clasificación y discriminación basados en algoritmos neuronales artificiales 277

IV.2. Redes neuronales artificiales..... 283

 IV.2.1. Perceptrones multicapa 289

 IV.2.2. El aprendizaje por retro-propagación de errores..... 293

 IV.2.3. Sobreentrenamiento..... 293

 IV.2.4. Algoritmos neuronales probabilísticos y estimación bayesiana..... 298

IV.3. Clasificación de las muestras de aceite empleando MLP y PNN 303

 IV.3.1. Clasificación mediante MLP 303

 IV.3.2. Clasificación mediante PNN 305

CAPÍTULO V.

RESUMEN Y CONCLUSIONES 307

CAPÍTULO VI.

BIBLIOGRAFÍA 315

CAPÍTULO I.-
INTRODUCCIÓN.

I.1. GÉNESIS Y OBJETIVOS.

I.1.1. GÉNESIS.

En un principio se empezó a trabajar en la realización de una tesis doctoral sobre la denominación de origen de los aceites de oliva, pero cuando ya llevábamos avanzado el estudio bibliográfico, se tuvo que desestimar porque tuvimos conocimiento de que otra Universidad estaba realizando un trabajo similar.

La idea para llevar a cabo este trabajo la dió en gran parte la presencia de un acebuche centenario que se encuentra en el jardín de la casa de campo de un amigo del autor de esta Memoria en El Palmar, en el término de Vejer de la Frontera de la provincia de Cádiz.

Encontrándose de visita en ese lugar con la familia, bajo la sombra del impresionante acebuche, se le ocurrió junto a su padre que de los frutos que producía

dicho árbol, podría sacarse el aceite y compararlo con el aceite de oliva, pudiendo ello ser motivo para la realización de una tesis doctoral.

Dicho esto, nos pusimos a buscar bibliografía que tratase del tema, viéndose que era escasa, y más aún desde el punto de vista analítico. En vista de lo cual, se comenzó a trabajar dando como resultado la Memoria que a continuación se expone.

I.1.2. OBJETIVOS.

Los objetivos que se plantean en esta tesis son:

- 1.- Realización de un estudio del rendimiento graso de las acebuchinas recogidas en las provincias de Cádiz, Huelva y Sevilla.
- 2.- Caracterización del aceite de acebuchina.
- 3.- Comparación entre los aceites de acebuchina y de oliva virgen recolectados y producidos en zonas próximas.
- 4.- Poner de manifiesto los cambios producidos entre ambos aceites procedentes de los taxones silvestre y cultivado.
- 5.- Posibilidad de diferenciación entre un acebuche propiamente dicho y un olivo asilvestrado basándose en determinados perfiles analíticos.
- 6.- Estudio estadístico de los resultados obtenidos.
- 7.- Viabilidad comercial del aceite de acebuchina.
- 8.- Posibilidad de aprovechamiento de los acebuchales.

I.2. LOS ÁRBOLES: OLIVO Y ACEBUCHE.

I.2.1. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA.

Según el Diccionario de la Lengua Española “*el acebuche* es el olivo silvestre, y *la acebuchina* su fruto”. Etimológicamente, parece ser, que el término acebuche procede de la lengua berebere donde al olivo silvestre se le denomina “*Zembudye*” que ha pasado a ser nuestro vocablo acebuche.

Desde el punto de vista botánico pertenecen a la Familia *Oleaceae* (Oleáceas en castellano), de colocación incierta dentro de la gran Clase *Magnoliopsida* (Dahlgren,

1980; Emberger, 1960; Cronquist, 1968; Stebbins, 1974; Loussert & Brousse, 1980; Takhtajan, 1980). Comprende unos 30 géneros y cerca de 600 especies (Flahault & Morettini, 1972) arbustivas o arbóreas, a veces plantas trepadoras, que habitan en los climas templados y cálidos de todo el mundo (Cronquist, 1981; Loussert & Brousse, 1980). A ella pertenecen, además de los olivos y acebuches, plantas aparentemente tan diferentes como los fresnos (*Fraxinus*), los jazmines (*Jasminum*) o los lilos (*Syringa*), frecuente en nuestras riberas o jardines (Heywood, 1978).

1.2.2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA.

El género de mayor importancia en la Familia es *Olea*, constituido por unas 32 especies de las zonas cálidas y subtropicales. Se caracterizan por ser árboles o arbustos, inermes o espinosos, con ramas cilíndricas o cuadrangulares. Sus hojas son opuestas, coriáceas, persistentes, de ovado-lanceoladas a lanceoladas, de margen entero, cubiertas de gran cantidad de pelos estrellados que les dan una coloración verde grisácea. Las flores hermafroditas, unisexuales o polígamas, de pequeño tamaño, se reúnen en inflorescencias cimosas, axilares o terminales. El cáliz está formado por 4 sépalos, de pequeño tamaño y persistentes. La corola con cuatro pétalos, soldados en un corto tubo que superiormente se abre (corola campanulada o subrotada), es ausente en algunas especies. El androceo está formado por 2 (3) estambres, terminados en anteras blancas. El ovario es bicarpelar o bilocular con un primordio seminal en cada lóbulo, terminado en dos cortos estilos que se prolongan por estigmas bilobulados o capitados. La polinización es anemófila. El fruto es una drupa ovoidea, de pulpa oleosa y endocarpio duro. En la madurez suele ser de color muy oscuro, incluso negro.

EL OLIVO.

Denominado por Linneo (*Olea europaea*) y publicada su diagnosis, de acuerdo con la nomenclatura utilizada por los botánicos, en “Species Plantarum”, página 8, de la edición primera (1753). Son árboles de 7-10 (15) m de altura, de tronco grueso y algo tortuoso de corteza pardo-grisácea y copa redondeada. Las ramas son curvadas, a veces ligeramente espinosas. Las hojas de 4-7 x 0,7-2 cm., enteras, con el ápice apiculado, obtuso, incluso emarginado, verde oscuro por el haz y blanquecinas por el envés. El peciolo es corto, de 2-5 mm. Las flores son hermafroditas o unisexuales alógamas,

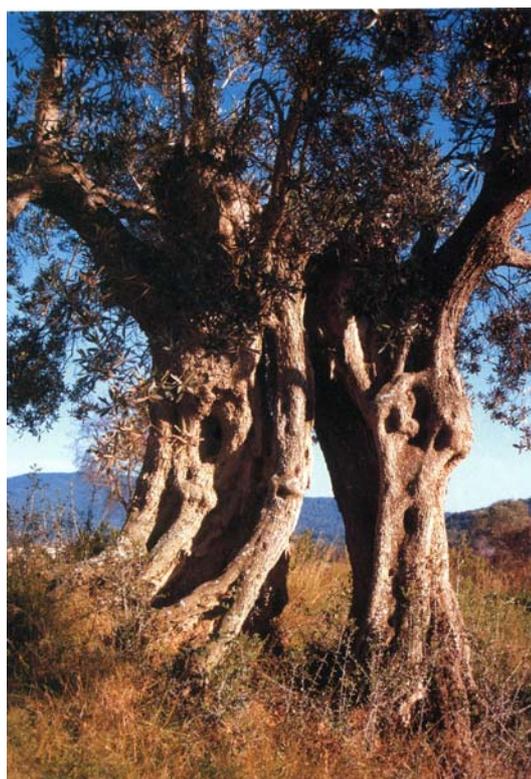
reunidas en panículas o cimas axilares. Las drupas de 1,5-3,5 x 0,9-2 cm., con mesocarpio bien desarrollado, son elipsoideas, primero verdes y en la madurez negruzcas.



Fotografías I.1 y I.2. Olivos.

Se multiplica por semilla, estaca o injerto. Se cultiva en las zonas templadas de todo el mundo. En la cuenca del Mediterráneo se concentra el 95 % de la superficie mundial cultivada (Barranco & al., 1998). En nuestras latitudes su cultivo es en suelos neutros o básicos hasta altitudes de 750 m, floreciendo hacia el mes de mayo y madurando entre noviembre y diciembre.

El olivo, en general, puede vivir durante siglos, dándose casos de ejemplares con más de mil años de edad. Su longevidad es debida a la capacidad que tiene de producir brotes y raíces de yemas temporales que se encuentran en la parte inferior del tronco. Estas formaciones, normalmente se encuentran enterradas, pero son claramente visibles y están muy desarrolladas en los árboles viejos.



Fotografías I.3 y I.4. Olivos centenarios.

Es muy resistente a condiciones adversas, aguantando la sequía, los suelos áridos y la falta de cuidados. Puede crecer y emitir nuevas ramas y hojas nuevas aunque el tronco esté seriamente dañado. Sin embargo, si queremos que el olivo crezca bien dando buenos frutos, es necesario unas exigencias climáticas estrictas. Aunque necesitan una cierta cantidad de frío durante el invierno, no crece en lugares con temperaturas medias en invierno menores de 9° C. El olivo está extendido en regiones áridas o semiáridas. En el área mediterránea, las condiciones son favorables para su cultivo porque las lluvias son frecuentes desde el otoño hasta la primavera, no faltándole agua durante el periodo de formación de la flor (Kiritsakis, 1992).

A lo largo del tiempo, se han desarrollado numerosas variedades cultivadas de olivo, con diferencias entre ellas en el tamaño, el color de las aceitunas, el rendimiento en aceite, formas de las hojas, modo de ramificación.... Así, las variedades con un alto contenido en azúcares y bajo contenido en aceite, se utilizan para aceitunas de mesa, mientras que las de mayor contenido en aceite se utilizan para la extracción del mismo. Ejemplos de aceitunas de mesa son la manzanilla y la gordal, mientras que para la

extracción de aceite están la hojiblanca, la picual, la arbequina, la verdial, la blanqueta, etc, etc.

EL ACEBUCHE.

Son árboles de 7-8 m, que frecuentemente se suelen presentar como arbustos por el excesivo ramoneo de los herbívoros, llegando en muchas ocasiones a no sobrepasar los 2 m de altura. Sus ramas suelen terminar en extremos espinosos. Las hojas de 3-5 x 0,7-1,5 cm., lanceoladas, con el ápice apiculado, incluso punzantes, de coloración más verde que en los olivos. Las flores idénticas a las del olivo y sus frutos o acebuchinas de 1-2 x 0,5-0,9 cm., estrechamente elipsoideas con mesocarpio pequeño. La floración y fructificación coincide con la del olivo.



Figura I.1. Dibujo de árbol y rama de acebuche. **Fotografía I.5.** Rama de acebuche.

Son plantas termófilas, sensibles por ello a las heladas intensas. Prefiere suelos ricos y básicos, aunque no rehuye los ácidos. En las sierras andaluzas llega hasta los 1500 m s. m. Forma matorrales de acompañamiento de los encinares y palmitales, constituyendo solamente en condiciones óptimas pequeños bosquetes.



Fotografías I.6 a I.11. Acebuches.

Se extiende por toda la región mediterránea: SO de Asia, NO de África, y S de Europa. En la Península Ibérica las mayores masas de acebuches se encuentran en Andalucía, principalmente en las provincias de Cádiz y Huelva, con áreas más reducidas en el N de Sevilla.



Fotografías I.12 y I.13. Acebuches.



Fotografía I.14. Acebuchinas en árbol.

Entre los pocos trabajos existentes sobre la caracterización morfológica del acebuche está el realizado por Mulas & al. (1997) en los acebuchales de Cerdeña. Estos autores evaluaron caracteres de la hoja (longitud y anchura), fruto (peso) y endocarpio (peso). Más recientemente mediante el estudio de marcadores moleculares se están estudiando las relaciones existentes entre el olivo silvestre (acebuche) y el cultivado (olivo) (Vergari & al., 1996; Hess & al., 2000; Besnard & al., 2000; Vargas & Kadereit, 2001) y estudios de variabilidad genética (Ouazzani & al., 1993; Rallo & al., 2000; Belaj & al., 2001). En España, en la Escuela de Ingenieros Agrónomos de la Universidad de Córdoba se ha presentado un trabajo de fin de carrera, cuyo autor es M. A. García- Donas Díaz (2001), que estudia la caracterización morfológica de los acebuchales de la provincia de Cádiz y su posible rentabilidad económica.



Fotografías I.15 a I.17. Acebuchinas en disposición aislada o en racimos.



Fotografías I.18 a I.20. Acebuchinas en los árboles.



Fotografías I.21 a I.23. Acebuchinas en los árboles.



Fotografías I.24 a I.26. Acebuchinas en los árboles.

I.2.3. DISTRIBUCIÓN Y ECOLOGÍA.

EL OLIVO.

El olivo se encuentra distribuido, sobre todo, por los países circunmediterráneos como: España, Italia, Grecia, Túnez, Turquía, Marruecos, Portugal, Siria y Argelia (orden de mayor a menor producción de aceitunas). También se cultiva el olivo en Francia, ex-Yugoslavia, Chipre, Egipto, Israel, Libia, Jordania, Líbano, Argentina, Chile, México, Perú, Estados Unidos y Australia (Boskou, 1998).



Figura I.2. Distribución geográfica del olivo.

En los países de la cuenca mediterránea se encuentra el 99 % de la distribución mundial del olivo, representando la superficie olivarera de la CEE, y concretamente el grupo de países formados por España, Italia y Grecia, respectivamente alrededor del 57 % y del 47 % de la superficie mundial. Lo cual demuestra que el nivel de rendimiento es superior en esta región al de cualquier otro lugar. En Andalucía se localiza el 61 % del olivar español. Los siguientes países en extensión olivarera son Túnez y Turquía, con un 19 % y un 10 % de la superficie mundial, respectivamente (Aparicio & Harwood, 2003).

El área de expansión del olivo en la cuenca mediterránea está entre el paralelo 30 y el 45 (entre las latitudes de Agadir en Marruecos y la Provenza al sur de Francia). En el hemisferio austral se corresponde con latitudes similares.

EL ACEBUCHE.

Al igual que sucede con el olivo, el acebuche se distribuye por los distintos países que conforman la cuenca mediterránea, es decir, Portugal (Algarbe), España (Andalucía y Levante), Francia (Córcega), Italia (Sur, Cerdeña y Sicilia), Grecia, Turquía, Oriente Próximo, Libia, Túnez, Argelia y Marruecos.

Homero se refería al acebuche diciendo: “el acebuche es una especie de olivo salvaje que crece allí mismo”. Con esto se da la idea de su carácter espontáneo y su amplia distribución, pudiéndose encontrar en toda la cuenca mediterránea (García-Donas, 2001).

En España, el acebuche se encuentra distribuido sobre todo por Andalucía, y más concretamente en Cádiz. Efectivamente, Cádiz es la provincia que mayor concentración de acebuches tiene. En Andalucía, algo más de 4,4 millones de hectáreas son de montes o terrenos forestales, de los cuales 379.800 hectáreas se encuentran en la provincia de Cádiz, estando 186.400 hectáreas arboladas. En esta provincia se encuentran grandes aglomeraciones de acebuches, formando poblaciones puras o entremezclados con otras especies como encinas, alcornoques, etc. (García-Donas, l.c).

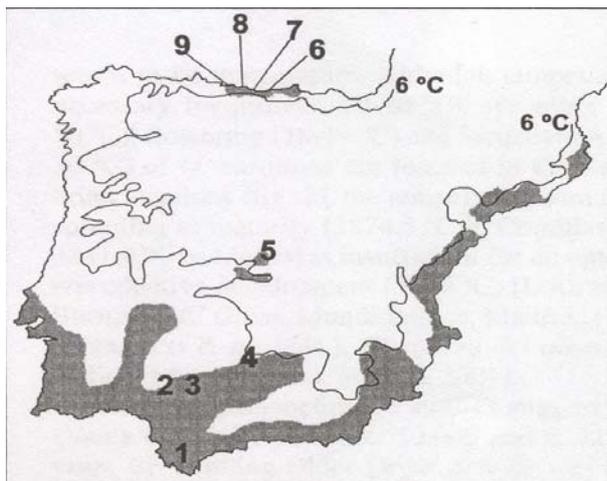
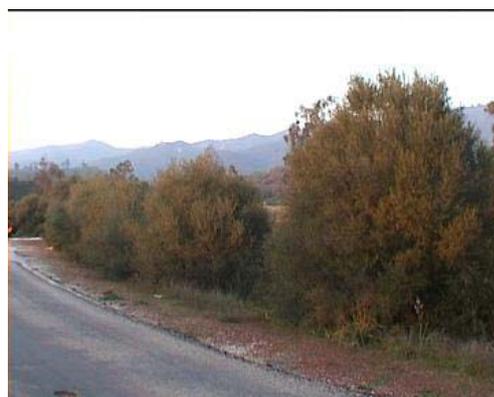


Figura I.3. Distribución geográfica de *Olea europea* subsp. *oleaster* en la Península Ibérica. 1, Alcalá de los Gazules (Ca); 2, Trasierra (Co); 3, Jauja (Co); 4, puerto de Despeñaperros (J); 5, Aldea del Fresno (M); 6, cabo de Oyambre (S); 7, Pechón (O); 8, Barros (O); 9, playa de San Antolín (O).

Los acebuches suelen encontrarse, además de en zonas forestales y protegidas, en montes y en lugares recónditos e inaccesibles en donde el hombre no ha podido poner en práctica las labores agrícolas. Así es normal encontrarlo tanto en lugares escarpados como en zonas ribereñas. Al ser el acebuche una especie protegida es por lo que es posible encontrarse paisajes que constituyen el verdadero bosque ibérico, quedando los acebuchales casi reducidos como zona de pastos para el ganado, conociéndose esta práctica como *ramoneo*.



Fotografías I.27 a I.30. Acebuchales.

I.2.4. PROBLEMAS BOTÁNICOS.

EL OLIVO.

El olivo cultivado debe denominarse, de acuerdo con el Código de Nomenclatura Botánica que regula las leyes y normas de nomenclatura, *Olea europaea* L. como hemos comentado ya anteriormente. Su citación correcta es:

Olea europaea L., Sp. Pl. 8 (1753).

Si éste dato es claro, no lo es su origen geográfico, ni su origen taxonómico. Según Ciferri (1942) la mayor cantidad de variantes de la especie se localizan en la Península Ibérica. Este supuesto haría presuponer que su origen se encontraría en la Península, si bien Boardman (1976) supone que se introdujo en el Mediterráneo Occidental por los griegos y colonizadores fenicios. Hipótesis bastante aceptable. Con su introducción se hizo coexistir al acebuche, ya existente en estos territorios, con las plantas modificadas por el hombre.

El olivo está relacionado genéticamente con otras especies de la cuenca mediterránea y del SO de Asia, con las cuales se hibride y cuya información genética ha podido intervenir en la formación de la especie tal como ahora la conocemos (Chevalier, 1948; Simmonds; 1976). Por ello, dependiendo de la mentalidad de los distintos autores, se han considerado a estas microespecies como unidades taxonómicas independientes, tal como estamos comentando, o en el extremo opuesto incluirlas todas ellas dentro de *O. europaea*, con categorías infraespecíficas (Loussert & Brousse, 1980).

Denominaciones de los taxones relacionados con el olivo cultivado.

Acebuche:

O. europaea subsp. *oleaster* (Hoffmanns & Link) Negodi, *Arch. Bot. Sist.* 3: 79 (1927)

O. oleaster Hoffmanns & Link, *Fl. Port.* 1: 387 (1813-1820)

O. europaea subsp. *sylvestris* (Miller) Heigi, *Ill. Fl. Mitt.-Eur.* 5: 1936 (1927)

O. sylvestris Miller, *Gar. Dict.*, ed. 8, n. 3 (1768)

Olivo silvestre canario:

O. europaea subsp. *cerasiformis* (Webb & Berth.) Kunkel & Sunding, *Monogr. Biol. Can.* 3: 58 (1972)

O. europaea var. *cerasiformis* Webb & Berth., *Phyt. Canar.* 3 (2): 211 (1841)

Posibles microespecies emparentadas con el olivo:

O. africana Miller, *Gar. Dict.*, ed. 8, n. 4 (1768)

O. europaea subsp. *africana* (Miller) P. S. Green, *Kew Bull.* 34 (1): 69 (1979)

O. Chrysophylla Lam., *Encycl.* 4: 544 (1798)

O. ferruginea Royle, *Illustr. Bot. Himal.* 267 (1823)

O. indica Burm., *Fl. Ind.* 6 (1790)

O. laperrini Batt. & Trabut, *Bull. Soc. Bot. France* 58: 672 (1912)



Figura I.4. Distribución geográfica de las especies originarias de *Olea europaea* L.

Sibilm Zohary (1995) basándose en datos citológicos llega a la conclusión que su antecesor habría que buscarlo en las poblaciones de acebuches de la zona oriental del Mediterráneo.

EL ACEBUCHE.

Los botánicos consideran estas plantas como una subespecie dentro de *O. europaea*. Debe denominarse:

O. europaea subsp. *oleaster* (Hoffmans & Link) Negodi, Arch. Bot. Sist. 3: 79 (1927).

Otros autores consideran que las diferencias entre las plantas cultivadas y las silvestres son menores y bajan el nivel de éste taxón a variedad (Pereira, 1939; Amaral & Rocha, 1972; Pignatti, 1982; Amaral, 1984).

Los acebuches formarían pequeños o grandes bosques (acebuchales) antes de la introducción del olivo. El hombre primitivo los utilizaría para la obtención de aceite y consumiría sus frutos. Con la llegada del olivo, y en cuyo origen pudo intervenir, se produce la coexistencia de plantas relacionadas, que pueden hibridarse y que revierten a niveles más primitivos al escaparse de cultivo o al ser estos abandonados (Loussert & Brousse, 1980). Es decir, la presencia de acebuches, olivos cultivados y olivos asilvestrados pueden intercambiar información genética.

Por todo lo anterior, la diferenciación entre acebuches y olivos presenta una enorme dificultad. A tal fin se han utilizado índices basados en caracteres morfológicos, agronómicos y biológicos para separar las variedades y cultivares. Entre los morfológicos se usan caracteres de semillas y frutos, flores e inflorescencias, hojas, ramas, tronco, forma y porte del árbol, etc. Estos índices no ofrecen resultados claros debido a la elevada variabilidad que se produce, incluso entre individuos de la misma variedad (Loussert & Brousse, l. c.); pese a ello, son útiles para la realización de inventarios varietales de olivos cultivados.

No es difícil llegar a la conclusión, que en la naturaleza puedan coexistir en áreas más o menos próximas, acebuches verdaderos, olivos cultivados y olivos asilvestrados que por germinación de semillas revierten a sus caracteres primitivos. Esto ha llevado a Loussert & Brousse (1980) a considerar como el mismo taxón a todos los ejemplares de *Olea europaea* sin separación de taxones, y en el cual acebuches y olivos cultivados serían extremos de una misma variación.

I.2.5. CRITERIOS DE SEPARACIÓN ENTRE LOS RESTOS DE ACEBUCHE Y OLIVO CULTIVADO.

Los yacimientos arqueológicos nos pueden aportar datos sobre la evolución de los acebuches a olivos cultivados aclarando o aportando datos sobre su parentesco y pautas de sus modificaciones por cultivo. La explicación es sencilla, el hombre primitivo, como buen recolector, utilizaría sus frutos en su alimentación y su madera en los fuegos y hogares de sus viviendas. El estudio de estos restos que contienen gran información podrían aclarar grandes dudas como:

¿Cuándo empiezan a aparecer los restos de olivo cultivado? ¿Existe un criterio que permita diferenciar los restos de acebuche y olivo cultivado? ¿Cómo se puede distinguir los restos procedentes de un ejemplar de tipo silvestre de los de uno de tipo cultivado?

Ni el estudio del polen (Palinología), ni el estudio del fruto (Carpología) llegan a diferenciar los individuos silvestres de los cultivados. En cambio el estudio de los carbonos (Antracología) parece aportar datos más fiables.

La Palinología establece el cultivo del olivo a partir del momento en que el porcentaje de granos de polen de *Olea* aumenta de manera significativa, o bien cuando se presentan acompañados por los granos de polen procedentes de algunas especies herbáceas como “*Centaura solsticialis*” (cardo alazorado) (Triat Laval, 1982), mala hierba acompañante de estos cultivos. Finalmente la identificación de la variedad cultivada se ha conseguido, con muchas limitaciones, por otros autores (Baruch, 1986).

La Carpología tiene también sus limitaciones para el estudio del olivo dada la gran variedad de sus frutos en cuanto a forma y tamaño que hace difícil distinguir entre ejemplares de acebuche y olivo cultivado (Van Zeist, 1980; Lipschitz & al., 1991). Algunos autores consideran la posibilidad de separar frutos procedentes de ejemplares de acebuche de los de olivo cultivado a partir de una longitud inferior a los 10 mm (Renfrew, 1973); sin embargo el hecho de que algunos de los frutos de acebuches estudiados presenten valores superiores a los 10 mm, como por ejemplo los casos de

Can Tintorer y de Campos, parecen indicar la poca fiabilidad que tiene la aplicación de los índices biométricos sobre los huesos de olivo.

Un caso distinto es el que se ha desarrollado a partir del análisis antracológico de los anillos de crecimiento (Vernet & al., 1983; Vernet & al., 1987; Grau Almero, 1990; Rodríguez & Vernet, 1991). El olivo silvestre presenta un ancho en los anillos inferior o igual a 1000 μm , a diferencia de los de tipo cultivado, que es superior o igual a 1000 μm . A pesar de todo, los anillos no son fáciles de documentar. En la mayoría de los casos estudiados por la Antracología se demuestra que los anillos de crecimiento anuales se presentan en término medio más cercano a la variedad cultivada (Vernet & al., 1983; Rodríguez & Vernet, 1991). Esta medida pone de manifiesto que el crecimiento anual de los anillos se encuentra en correlación con las condiciones medioambientales; así las medidas de crecimiento rápido (temperaturas más suaves) parecen indicar que se asocian a la variedad cultivada, y las de crecimiento lento (temperaturas más extremas o secas) corresponderían de manera general a la variedad silvestre.

También el estudio del análisis mineral de la madera aplicado al material antracológico abre nuevas perspectivas sobre el estudio de los carbones de olivo (Terral, 1993). En éste trabajo se muestra que la composición química de la madera y de los carbones puede ser un criterio sistemático de distinción entre el olivo silvestre y el olivo cultivado pues ciertos elementos estructurales de la madera (calcio, potasio, azufre, magnesio) pueden revelar la transformación de la planta de tipo silvestre a la de tipo cultivado.

Nosotros también en esta memoria, hemos observado y comprobado que mediante el análisis químico de los aceites de acebuchina y de oliva podemos diferenciar ambas plantas.

I.2.6. ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

EL ACEBUCHE.

Según el libro “Arqueología de las plantas” de Ramón Buxó, hasta la fecha el testimonio más antiguo sobre la existencia del acebuche (*Olea europaea* L. subsp. *oleaster*) en el Mediterráneo, está representado por los restos de madera del yacimiento palestino de Har Ha Negev correspondiente al Paleolítico medio y fechado alrededor de 43000 años a.C. (Lipschitz & al., 1991).

La antracología demuestra también el carácter indígena del acebuche en el Mediterráneo Occidental; así en el sur de Francia se han identificado fragmentos aislados de acebuche en diversas muestras desde el Würm antiguo al postglaciar (Vernet, 1973) y por las referencias que se tienen de este árbol desde el Paleolítico superior en la Cova de l’Espirit (Solari & Vernet, 1990).

En España, se ha determinado la presencia del olivo en carbones de madera de los niveles epipaleolíticos de la Cueva de Nerja (Málaga) (aproximadamente 10860±160 a.C.), con una extensión maximal hacia los inicios del Neolítico (Bernabeu & al., 1993). Asimismo restos de ésta especie se han encontrado en el Neolítico del sur de Cataluña, concretamente en Mines de Can Tintorer (Gavá, Barcelona) (Villalba & al., 1986) cuya evolución es bastante parecida a la definida en la zona de Levante donde está presente durante el mismo periodo (Vernet & al., 1983). También se han encontrado restos de carbones de olivo en la Cueva del Toro (Antequera, Málaga) en los niveles del Neolítico medio y final (O. Rodríguez, inédito), así como los encontrados durante el Calcolítico de Campos y de Los Millares (Almería) (Rodríguez, 1992) y los de Las Pilas (Mojácar, Almería) (O. Rodríguez: comunicación oral), del Bronce de Fuente Álamo (Schoch & Schweingruber, 1982), de Cerro de las Viñas (Coy, Murcia) y de Rincón de Almendricos (Lorca, Murcia) (Grau Almero, 1990).

Región	Yacimiento	Período	Restos de <i>Olea</i>
Noreste	Can Tintorer	Neolítico medio	*
	Cova 120	Calcolítico/Bronce antiguo	*
	Illa d'en Reixac	Ibérico	**
	Culip IV	Época romana	**
	Vilauba	S. v-finales s. vii d.C.	**
Levante	Cova de les Cendres	Neolítico antiguo	*
	Serra Grossa	Bronce	*
	La Seña	Edad del Hierro	**
	Castellet de Bernabé	Edad del Hierro	**
Sureste	Cueva del Toro	Neolítico reciente	*
	Cueva de Nerja	Neolítico reciente	*
	Campos	Calcolítico	*
	Los Millares	Calcolítico	*
	Fuente Álamo	Bronce	*
	Castillo de Doña Blanca	Primera edad del Hierro	**

* *Olea europaea oleaster* (acebuche, olivo silvestre). ** *Olea europaea* (olivo cultivado).

Figura I.5. Yacimientos peninsulares con presencia de restos de *Olea*.

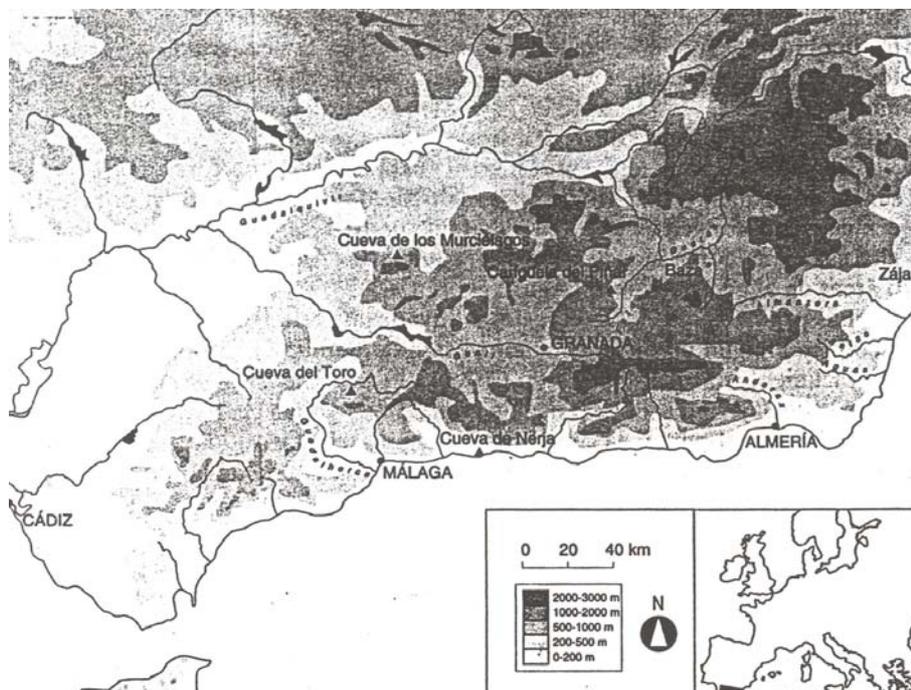


Figura I.6. Situación de los principales asentamientos de la época neolítica con presencia de restos carpológicos de la región sur y el sureste.

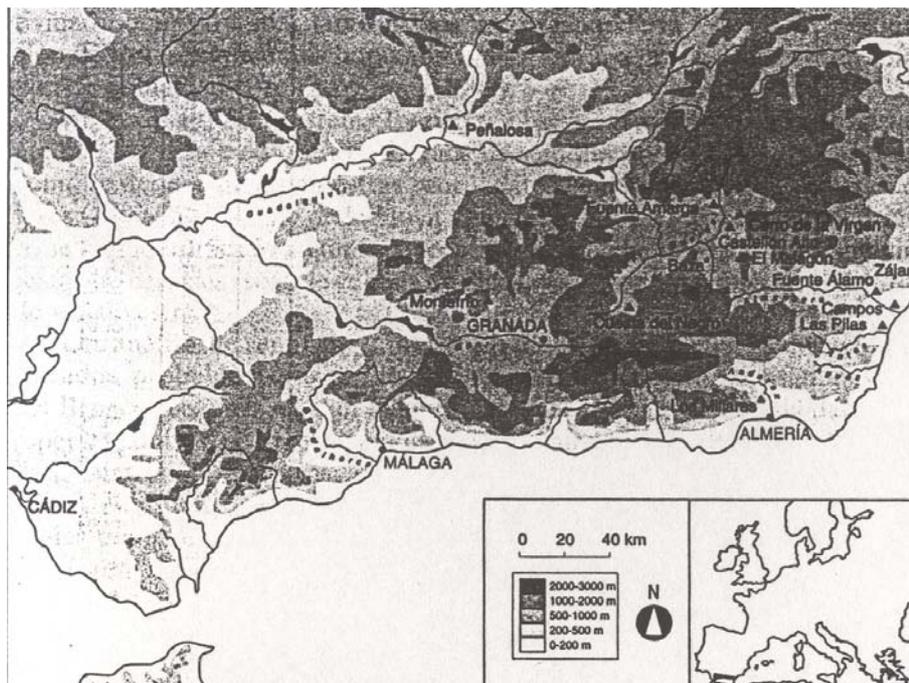


Figura I.7. Situación de los principales asentamientos del Cobre y del Bronce con presencia de restos carpológicos del sureste.

Los análisis de semillas confirman, con la presencia de huesos de acebuche, que esta planta forma parte de la flora silvestre del Mediterráneo Occidental. En el próximo Oriente han sido identificados diversos fragmentos y un hueso de acebuche entero en los niveles de Halaf de Ras Shamra (Van Zeist & Bakker-Heeres, 1985).

En el Mediterráneo Occidental han sido localizados diversos restos en el sur de Francia: en un nivel mesolítico de la Cova de l'Espirit, en Salses (Pirineos Orientales) (Leveu & al., 1991); en un contexto de la edad del Bronce de la Cueva de Las-Caounos de Gruissan (Aude), y en la de Gaougnas de Cabrespine (Marinval, 1988). También se ha identificado un resto de esta planta en un nivel del Bronce medio de la Cueva de Montou (Pirineos Orientales), que coincide también con el análisis antracológico.

En Italia, el acebuche está también documentado en un nivel de la época mesolítica de la Grotta dell'Uzzo, en Sicilia (Costantini, 1991).

En la Península Ibérica, las referencias carpológicas de olivo silvestre coinciden bastante con los datos antracológicos anteriores a la edad del Hierro: en el noreste, en el Neolítico medio de Can Tintorer (Gavá, Barcelona) (Buxó & al., 1992), en el Calcolítico/Bronce antiguo de la Cova 120 (Agustí & al., 1987); en Levante, en el Neolítico antiguo de la Cova de les Cendres; y en el sureste, en niveles del Neolítico final de la Cueva del Toro (Antequera, Málaga) y de la Cueva de Nerja (Málaga) (Hopf & Pellicer, 1970), en el Calcolítico de los Millares y de Campos (Almería), y finalmente en el Bronce de Fuente Álamo (Stika, 1988) y de Serra Grossa (Hopf, 1971).

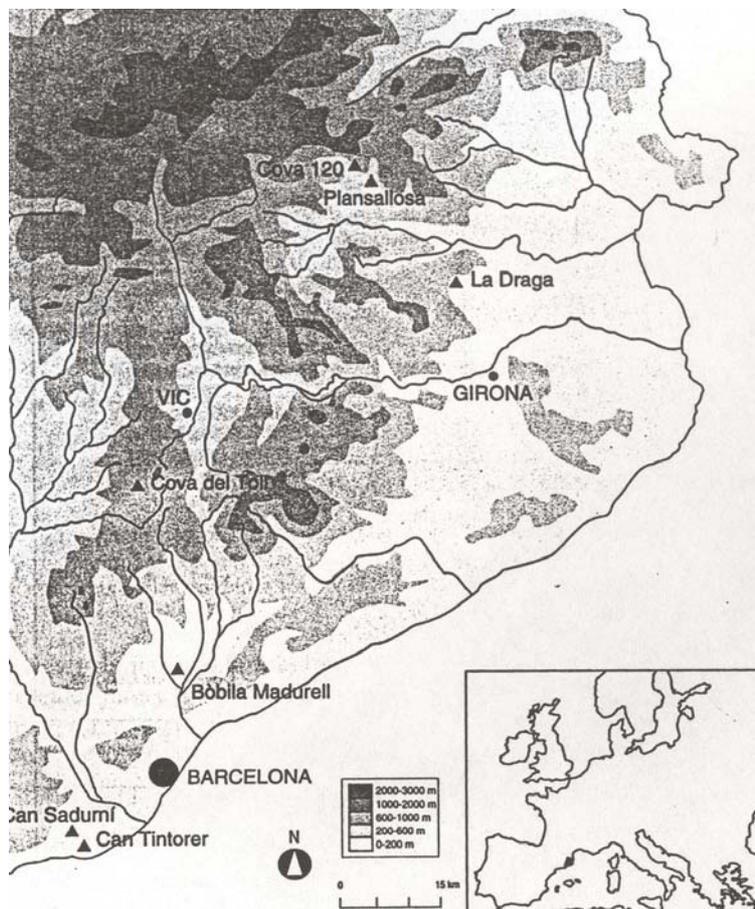


Figura I.8. Situación de los principales asentamientos de la época neolítica con presencia de restos carpológicos de la región del noreste.

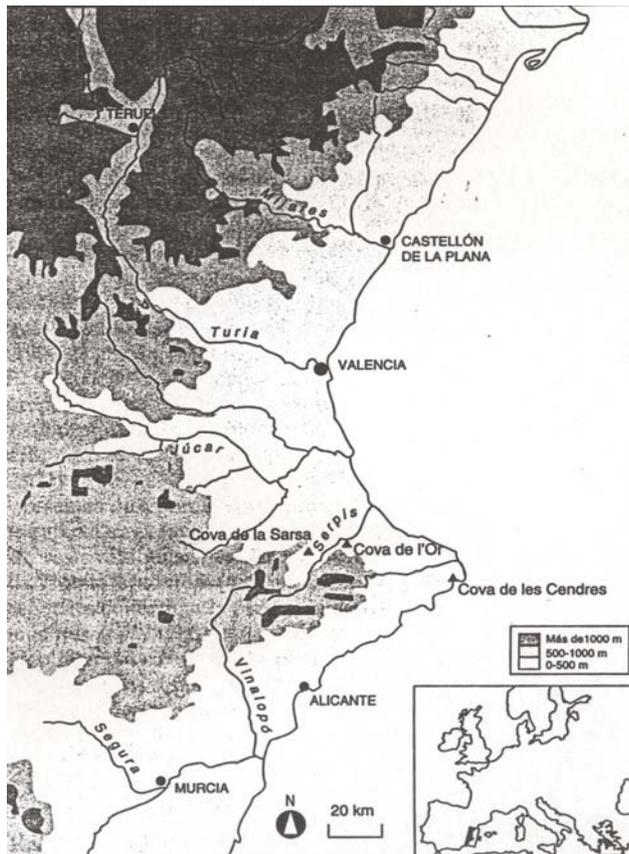
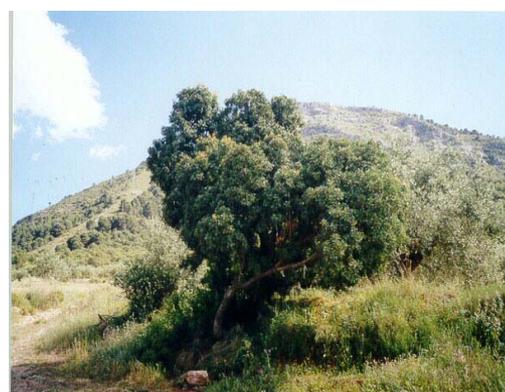


Figura I.9. Situación de los principales asentamientos de la época neolítica con presencia de restos carpológicos de la región de levante.

El acebuche es una especie propia de comunidades vegetales de tipo termomediterráneo (*Oleo-lentiscetum*). Desde finales del Mesolítico al Bronce antiguo este vegetal se asocia al lentisco y a la encina (Solari & Vernet, 1990). En la Península Ibérica, su presencia, desde el Neolítico al Calcolítico, se hace notar en el bosque bajo litoral o en el matorral de romero y brezo.



Fotografía I.31. Encina.



Fotografía I.32. Lentisco.

EL OLIVO.

La presencia segura del olivo cultivado no está bien documentada antes de los inicios del cuarto milenio a.C. en el Próximo Oriente (van Zeist, 1980). Otros autores consideran que el cultivo del olivo se situó en el norte de Palestina y el sur de Siria durante el periodo Calcolítico de Teleilat Ghassul al norte del mar Muerto (3700-3200 a.C.) (Zohary & Hopf, 1993; Zohary & Spiegel-Roy, 1975) y en otros yacimientos del mismo periodo en el valle del Jordán (Neef, 1990). Estos investigadores demostraron que el cultivo de *Olea europaea* comenzó, junto a un pequeño grupo de plantas frutales como la vid, la palmera datilera y la higuera, en el cercano Oriente. Más tarde, en la temprana Edad del Bronce (tercer milenio a.C.), las aceitunas como también, uvas e higos constituían una importante aportación a la agricultura mediterránea; primero en el Levante y más tarde también en la región del Egeo. El uso extensivo de los olivos en estas áreas durante la Edad del Bronce, viene indicado no solamente por la cantidad de restos carbonizados encontrados, sino también por la aparición de numerosas “presses” (prensas), vasijas de almacenamiento de aceite y por representaciones artísticas de olivos y procesamiento del aceite (Boardman, 1976; Stager, 1985), o incluso por la presencia de elementos utilizados para la producción de aceite destinado a la exportación en Kommos, en un yacimiento del Minoico reciente (Blitzer, 1991). La exportación posterior (siglo VII a.C.) del aceite de oliva del Levante a Egipto está bien documentada (Stager, l.c.). El cultivo del olivo fue introducido probablemente en el Mediterráneo occidental por los griegos y fenicios a través de sus colonias ultramarinas (Boardman, l. c.). Su propagación fue tan grande que la isla de Samos, llamada Elaeofitos, es decir “plantada de olivos”, y Quíos y Delos eran descritas como “cubiertas de bosques de olivos” (Boskou, 1998). En el siglo VI a.C. se extendió por toda la cuenca del Mediterráneo, pasando a la isla de Sicilia y de allí a la Italia meridional (García-Donas, 2001).

En Italia faltan testimonios arqueológicos que permitan confirmar la producción de aceite anterior al siglo IV a.C., aunque algunas informaciones sugieren una posible fabricación en la zona central de Italia en el siglo VII a.C. (Vallet, 1962).

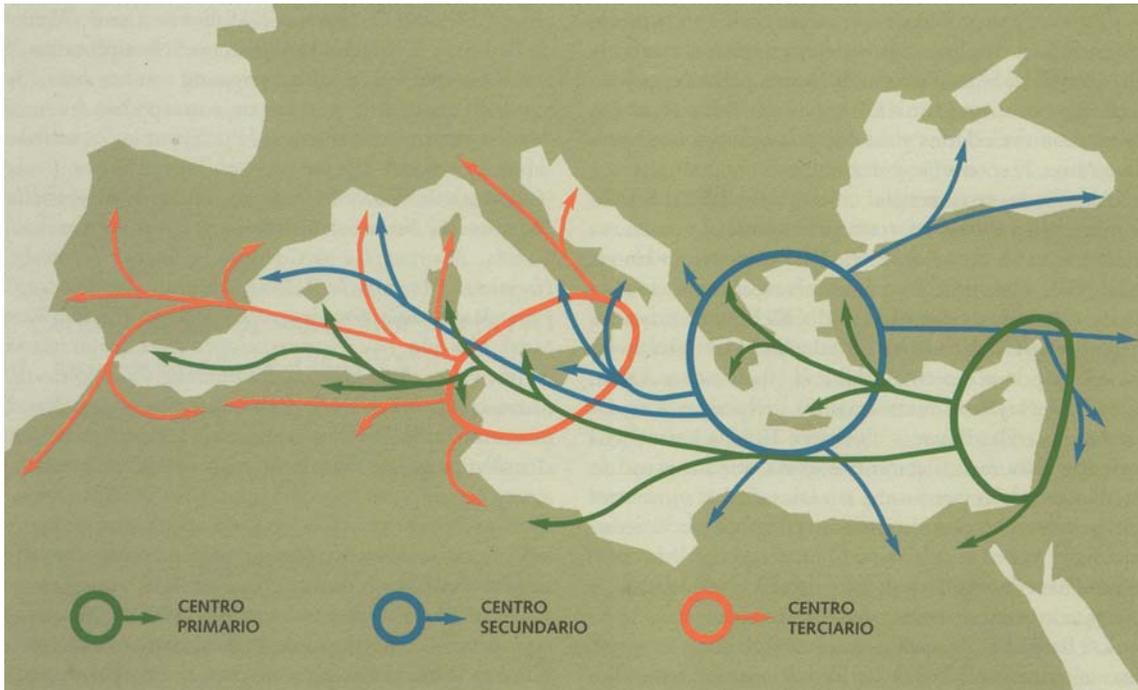


Figura I.10. Difusión del cultivo del olivo en la Cuenca del Mediterráneo.

En el sur de Francia, el cultivo del olivo aparece como una introducción de los griegos y se propaga bajo la influencia romana (Leveau, & al., 1991), hasta el punto de que en tiempo de los romanos, la oleicultura ya se había extendido por toda la geografía conocida en el Viejo Mundo.

La introducción del olivo en la Península Ibérica es muy controvertida. Según la información que ha utilizado únicamente textos clásicos (sin contrastar los datos con los resultados arqueobotánicos), algunos autores consideran que el olivo fue introducido por los fenicios en el II milenio (Schulten, 1963). Sin embargo, Tarradell (1975) separa las informaciones de los autores clásicos y las divide en tres grupos: los que como Plinio niegan la presencia de olivos en la época prerromana; los que afirman su presencia, caso de Avieno, y otros que explican la presencia del olivo de manera puntual, como es Apicio. Tarradell concluye que estas informaciones proceden de autores de la época romana posteriores al siglo II de nuestra era, que no tenían un conocimiento de primera mano de la Península Ibérica, y que se basaban en dos o tres fuentes documentales diferentes para sus escritos. Por último, Tarradell defiende que la introducción del olivo en España fue probablemente tardía y la relaciona con la civilización romana.

Los datos carpológicos encuentran algunas dificultades para señalar de qué tipo o variedad se está hablando a partir de la segunda Edad del Hierro. Así los restos de aceituna identificados en Illa d'en Reixac, los de la época romana y de la tardorromana en Vilauba no presentan índices biométricos próximos a los ejemplares griegos de la Edad del Hierro, con una longitud media de 11,6 mm (Renfrew, 1973). Por otra parte los restos de endocarpios descubiertos en el yacimiento del Castillo de Doña Blanca (Chamorro, 1994), (contexto íntimamente relacionado con la colonia fenicia de Gadir), presentan el olivo en una fecha bien anterior a la Edad del Hierro (600-500 a.C.).

Otros hallazgos recientes muestran resultados contradictorios. Si aplicamos los resultados de los índices biométricos, los ejemplares descubiertos en el Camp del Turia, serían una mezcla de variedades cultivadas con silvestres y lo mismo ocurre con el yacimiento de la Seña, que un endocarpio descubierto pertenece a la variedad cultivada, (longitud 11,6 mm) y los de Castellet de Bernabé (longitud 8 mm), pertenecerían a la variedad silvestre (Pérez, 1993).

Los datos arqueobotánicos de la Península Ibérica, sobre todo al sur de Cataluña, revelan diferencias con el sur de Francia en la aparición del olivo. Estas diferencias pueden explicarse no solamente por la evolución del contexto bioclimático, sino también por la evolución de las diferentes influencias culturales a lo largo del tiempo.

Su cultivo vendría más tarde desarrollado por las culturas griega, romana y árabe. Esto es probablemente así, porque en el español aparecen vocablos que derivan de estas tres culturas. La influencia romana se refleja en las palabras olivo, oliva y óleo que vienen del latín *olivum*, *oliva* y *oleum*, y que a su vez procede de la palabra griega *elaion*. En cuanto a los árabes se han dejado notar en las palabras aceite y aceituna, que proceden de los términos árabes *zait* y *zaitum*, que procede del término hebreo *zeit* o *sait*.

En Andalucía, no se desarrollaría el cultivo del olivo hasta la llegada de los romanos. Al principio, los romanos de la colonia hispana tenían que traer aceite de Italia debido a que se han encontrado restos de ánforas romanas del siglo I antes de Cristo provenientes de las regiones de Apulia y Calabria. Es a partir del emperador Augusto, cuando Andalucía se convirtió en el principal proveedor de aceite del Imperio, desde

finales del siglo I a.C. Las regiones olivareras más importantes eran Córdoba, Sevilla y Écija, es decir los valles regados por el Guadalquivir y el Genil. Probablemente se embarcaba el aceite por el río Guadalquivir, desde Écija para abajo, dónde el río era navegable (Eslava, 2003). Según Strabón, los grandes barcos llegaban hasta Sevilla, los de menor calado hasta Ilipa (Alcalá del Río) y las pequeñas embarcaciones hasta Córdoba e incluso Cástulo (en Jaén) (Contreras, 2002). El material arqueológico encontrado prueba que la Bética se convirtió en la región principal aceitera del Imperio. El aceite andaluz llegaba a Roma y a todos los confines del Imperio, como lo prueban las ánforas olearias encontradas en Inglaterra o en la India. El aceite se transportaba en ánforas olearias, que llevaban en el asa el sello o *figlina* del alfarero, desde el puerto de Sevilla a Ostia, el puerto de Roma. Como las ánforas no eran retornables, una vez vaciadas se rompían y se arrojaban los tientos a un descampado cercano al puerto de Ostia. La cantidad de ánforas rotas fue creciendo entre los siglos I y III después de Cristo, formando el Monte Testaccio o monte de los tientos, que es una colina artificial formada por unos veinticinco millones de ánforas rotas. El arqueólogo Remesal ha descubierto que el 80 % de las ánforas proviene de Andalucía y que la época de éstas oscila entre el siglo I y el III después de Cristo. Las exportaciones de aceite de la Bética alcanzaron su máximo desarrollo durante el emperador Antonino Pío, sucesor de Adriano. En los siglos II y III después de Cristo, el aceite procedente de Andalucía se hizo imprescindible en Roma. Así lo demuestran testimonios de la época como el de Marcial, que le parecía que era insuperable, o Plinio que decía que sólo lo igualaba el aceite de Histria (comarca entre Italia y Serbia) (Eslava, l.c.). También lo atestigua la narración “De bello hispánico”, cuyo autor es anónimo y que estaba al servicio de Julio César en el año 45 a.C. En esta narración se dice que cuando las tropas de Julio César se enfrentaron con las de Pompeyo en la Hispania, éstas acamparon entre los olivos en la región del Aljarafe que rodea Sevilla, tradicional enclave de éstos árboles y famoso por su excelente aceite.

I.2.7. PEQUEÑAS PINCELADAS HISTÓRICAS.

Parece ser que los primeros olivos de la Península Ibérica fueron cultivados en Cádiz y Sevilla; Cádiz fue un enclave muy visitado por los fenicios a través de su puerto. Otro tanto ocurrió con Sevilla, al ser el río Guadalquivir siempre navegable.

L. J. Moderato Columela, hispano-romano nacido en Cádiz, relata ampliamente del olivo, del aceite y del adobo de aceitunas en sus libros “*De Re Rustica*” o “*Doce libros de Agricultura*”. Las técnicas de cultivo y poda están ampliamente documentadas y recogidas magistralmente en los libros de agricultura de Catón.

Abu-Zacaria, hispano-árabe nacido en Sevilla, dejó escrito una obra sobre agricultura española, a finales del siglo XII, en la que manifestaba que gran parte del olivar peninsular fue traído desde África por los musulmanes a causa de una gran sequía que destruyó el olivar autóctono.

El geógrafo y viajero Muhammad Al-Idrishi, que vivió entre los años 1100 y 1166, describe y señala los mayores olivares que se encontraban en la península, haciendo mención especial de los olivares de Priego de Córdoba y del resto de la Subbética. Señala el aceite sevillano como uno de los mejores de toda la Bética.

Los Reyes Católicos, a lo largo de todo el siglo XV, fueron propulsores y propagadores del cultivo del olivo, extendiéndolo por Aragón y otras zonas de la península. Durante su reinado se calcula que se plantaron más de 4.000.000 de olivos, repercutiendo considerablemente en lo que sería el nuevo paisaje de España (Contreras, l.c.).

Cuando se descubrió América, los primeros colonizadores y los misioneros, introdujeron la viña y el olivo. El olivo se cultivó en regiones con climatología similar a la mediterránea, concretamente en Argentina, Chile y California.

A principios del siglo XVII hay una recesión en el cultivo del olivo en España debido quizás a la expulsión de los moriscos en el año 1609, que tan buenos conocedores eran de las prácticas agrícolas. Por estas fechas, se introducen las aceitunas y el aceite español en los Países Bajos que en esa época pertenecían a la corona española.

En el siglo XIX, hacia 1880, culmina el proceso de expansión del olivar en la Península Ibérica, debido a la crisis agrícola que sobrevendría con la implantación de las nuevas industrias en nuestro país.

Sin embargo, en el siglo XX, la desaparición de los derechos señoriales, la entrada en cultivo de las tierras desamortizadas y una coyuntura favorable a la exportación, explican la expansión del aceite y su exportación y venta a otros mercados, principalmente europeos, norteamericano o japonés (Contreras, l.c.).

En la actualidad, el olivo se encuentra difundido por gran parte del mundo como: EEUU, Argentina, Sudáfrica, Australia...

Hoy en día, el consumo de aceite de oliva va en aumento al darse a conocer sus propiedades terapéuticas, que junto a su agradable sabor, le hacen indispensable en cualquier buen plato de cocina.

I.2.8. MITOS Y LEYENDAS.

Muchos historiadores consideran que el olivo forma parte del desarrollo y la cultura de las civilizaciones. El olivo tiene una gran importancia histórica, jugando un papel preponderante en diversos campos como son la dieta, la religión, la medicina, el arte (decoración de cerámica, piezas de oro, etc). También se ha utilizado como símbolo de la paz, de la sabiduría y de la victoria.

Desde tiempos inmemorables, el olivo y sus ramas se han asociado con signos sagrados. La mitología griega y el Antiguo y Nuevo Testamento están llenos de citas referentes al papel del olivo en la religión.

En la mitología griega se habla de Hércules que llevó a Grecia el primer olivo y lo plantó en el monte del Olimpo, en la morada de los dioses. También se habla del origen de la ciudad de Atenas, que se debió a la disputa por la posesión de Atica entre Poseidón, dios del mar y de los terremotos, y Atenea, diosa de la sabiduría y de la inteligencia. Para intentar dilucidar la cuestión, los dioses del Olimpo solicitaron a ambos competidores la donación de un presente creando la criatura más bella y útil para la Humanidad. Poseidón hincó su tridente y salió un caballo (símbolo de la fuerza, del poder y de la guerra); Atenea hincó la tierra con su lanza y surgió un olivo (alimento de los hombres, fuente de luz, remedio para las heridas y enfermedades; símbolo del triunfo, de la vida, de la fertilidad y de la paz). Ante tales donaciones, los dioses del

Olimpo declararon vencedora a Atenea y, en cuyo honor, le pusieron su nombre a la ciudad de Atenas. Por esto unos pensaron que el primer olivo se debe a Atenea y lo veneraban dentro de un recinto de piedra, el Erecteión, situado entre los templos de la Acrópolis o ciudad alta. Los atenienses estaban tan convencidos de la utilidad del olivo como de su carácter sagrado, que se prohibió a los olivaderos arrancar más de dos olivos al año (Eslava, 2003). Así, el sabio Solón (legislador de Atenas que murió en el 560 a.C.) promulgó decretos que impulsaban su plantación (Contreras, 2002). En Atenas se promulgaron leyes relativas al olivo. Aristeos, dios de los animales y de los cultivos, inventó el cultivo de los olivos y los molinos para las aceitunas (Kiritsakis, 1992). En Atenas, existe todavía en la calle Sagrada (Iera Odos) el Olivo de Platón. En los jardines de la Academia fundada por Aristóteles crecían olivos. Estos, según una leyenda, fueron arrasados por las tropas persas en el siglo V a.C.; luego los árboles brotaron haciendo gala de la fama inmortal que los convirtió en símbolo de fecundidad y victoria.

Junto a la vid, el olivo es una constante en la mitología griega y romana. Por ejemplo, Minerva, la Atenea romana, era una de las cuatro deidades que custodiaban los frutos de la tierra y el mar y su obligación era la de salvaguardar la paz y cultivar las artes, llevando por símbolo un búho con una rama de olivo.

Por otra parte en el Antiguo Testamento son numerosas las citas relacionadas con el olivo como la de Adán o la del Diluvio Universal. En el principio de los tiempos, Adán, antes de morir, pidió a Dios el aceite de la misericordia y su hijo Seth recibió en el paraíso tres semillas del árbol de la vida y de la muerte y, poniéndolas en la boca de Adán, una vez muerto y sepultado, vió nacer un olivo, un cedro y un ciprés. Noé, después del Diluvio Universal, soltó una paloma y al regresar ésta apareció con una ramita de olivo en el pico, representando la paz entre Dios y el hombre como símbolo de reconciliación. En la cultura hebrea, el olivo simboliza la paz y la felicidad. También en el Nuevo Testamento hay acontecimientos en los que aparece el olivo, como la oración de Jesucristo en el huerto de Getsemaní (huerto del molino de aceite), o la entrada triunfal del Señor en Belén con palmas y ramos de olivo (conmemorándose en el Domingo de Ramos). Igualmente el aceite de oliva tiene connotaciones sagradas como Óleo en los Sacramentos del Bautismo, de la Confirmación y de la Extrema Unción.

También el aceite de oliva se ha utilizado como fuente de iluminación. Normalmente, el aceite que iba destinado para estos fines era de peor calidad o con defectos organolépticos. Se les llamó aceites lampantes porque iban destinados para lámparas (se usó mucho en el ferrocarril). Muchas veces en las religiones tiene connotaciones sagradas al ser destinado para la iluminación. Por ejemplo, en la religión católica se emplea en la iluminación de las lámparas de los Sagrarios indicando la presencia del Santísimo.

En la religión católica, a la Virgen María, entre muchas advocaciones que tiene, hay una que está relacionada con el olivo y es la Virgen de la Oliva, patrona de varios pueblos, como Vejer de la Frontera (Cádiz). También la Virgen del Rocío está relacionada con un acebuche. Cuenta la historia, que en el siglo XV, un cazador de Mures (actualmente Villamanrique) llamado Gregorio Medina, estando cazando en La Rocina (en el término de Almonte), se encontró en el hueco de un acebuche la talla de la Imagen Sagrada de la Virgen (del siglo XIII), estando oculta del peligro sarraceno, en cuya espalda tenía escrita la leyenda: “María de los Remedios me llamo”. En el lugar de la aparición, en donde está el árbol que contenía a la Virgen que encontró el cazador de Villamanrique, se levantó una ermita.

La veneración por el aceite se encuentra mostrada en estas poéticas y bellas frases del Corán: “Dios es la luz de los cielos y la tierra. Su luz es como la de un candelabro en una hornacina... Se enciende gracias al árbol bendito del olivo, el árbol que no es oriental ni occidental, cuyo aceite alumbra casi sin tocar el fuego: es luz de la Luz”.

La rama del olivo ha simbolizado el signo de amistad y paz entre las naciones. En los juegos olímpicos, como símbolo de victoria, se les coronaba a los ganadores con ramas de olivo. También, en los hogares griegos se sacudían ramas de olivo para expulsar a los malos espíritus.

En la tradición judeo-cristiana, el olivo es símbolo de vida, de felicidad, de paz y de eternidad; y el aceite, símbolo de bendición divina y fraternidad humana.

Los romanos consideraban bárbaros a los que utilizaban para su alimentación grasas animales en vez de aceite de oliva. Así en el Imperio Romano, colonias y

metrópoli, se cocinaba con grasa vegetal; entre los bárbaros se empleaba la animal. También al comienzo de la Edad Moderna, una frontera gastronómica separaba al pueblo castellano/cristiano, consumidor de grasas animales, del árabe/mahometano, consumidor de grasa vegetales (Contreras, l.c.). Hoy en día, se le da mucha importancia a la dieta mediterránea por ser más saludable que otras por contener aceite de oliva, ya que es más rica en ácidos grasos insaturados y baja en colesterol. Hipócrates, padre de la medicina, ya conocía las propiedades terapéuticas del aceite de oliva. Una práctica común de mucha gente es la de tomar una cucharada de aceite todos los días.

También sobre el acebuche podemos citar el siguiente cuento o leyenda. Un comerciante griego llamado Herón, buscando por el Mediterráneo nuevos mercados para sus telas y cerámicas desembarcó en una tierra nueva, en Cádiz. Se quedó sorprendido al ver que el bosque natural de aquellas tierras era el acebuche, o sea el olivo silvestre (*Olea europaea* subsp. *oleaster*) junto a alcornoques y lentiscos. Herón pensó si esta es tierra de acebuches, también se tiene que dar bien el olivo. En el siguiente viaje se trajo unas cuantas plantas de olivo cultivado (*Olea europaea*), que en efecto arraigaron bien y que fueron la base del olivar hispano. Este cuento tiene su sentido porque los fenicios llamaban *Kotinoussa* a Cádiz, que significa “isla del acebuche” (Eslava, 2003). También los griegos llamaban a la ciudad de Córdoba por *Corteb*, que significa “molino de aceite” (García-Donas, 2001).

I.3. LOS FRUTOS: ACEBUCHINA Y ACEITUNA.

La acebuchina y la aceituna son drupas, como el melocotón o la cereza, que contienen una parte carnosa y un hueso en el que se encuentra la semilla. La acebuchina es el fruto del acebuche (*Olea europaea* subsp. *sylvestris* u *oleaster*), y la oliva o aceituna es del olivo (*Olea europaea*).

I.3.1. CARACTERÍSTICAS DE LA ACEBUCHINA.

El fruto del acebuche es la acebuchina, una drupa de forma ovalada o subesférica que consta de dos partes: una externa y carnosa denominada *pericarpio* y otra interna dura llamada *endocarpio*. El pericarpio está constituido por el *mesocarpio*, que es la pulpa, y por el *epicarpio*, que es la piel. El endocarpio es el hueso que contiene

la semilla. Comparando la aceituna con la acebuchina, el grosor del mesocarpio suele ser más delgado en la acebuchina, siendo casi todo endocarpio. Es decir, la mayor proporción del contenido de la acebuchina suele ser hueso más que pulpa, teniendo por tanto un rendimiento graso menor que la aceituna.

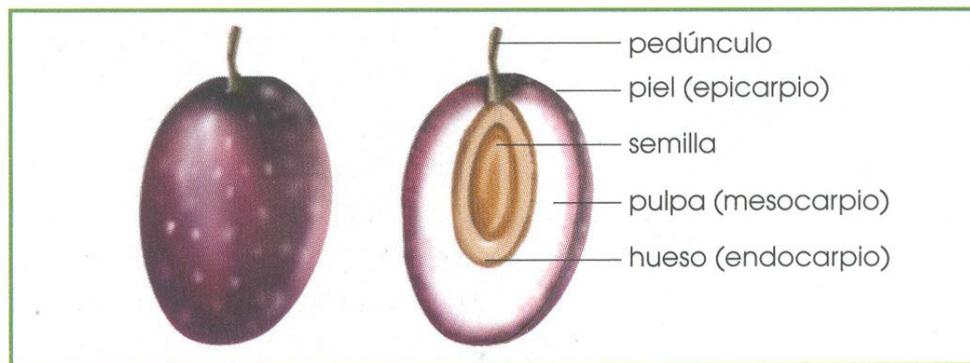
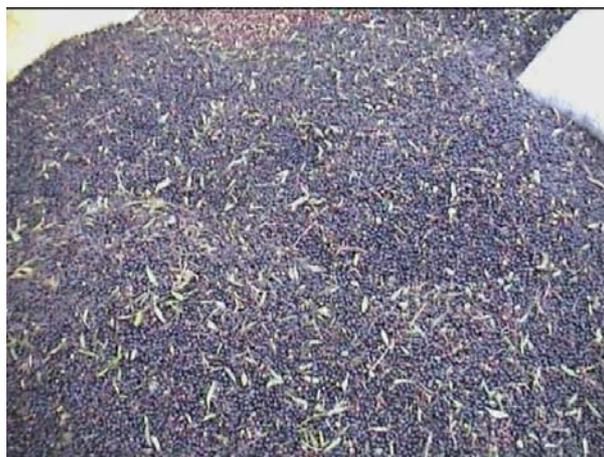


Figura I.11. Partes de la aceituna o de la acebuchina.

El color de las acebuchinas puede ser negro o blanco, pasando por el violeta.



Fotografía I.33. Acebuchinas apiladas.



Fotografía I.34. Acebuchinas.

I.3.2. CARACTERÍSTICAS DE LA ACEITUNA.

El fruto del olivo es la aceituna, y al igual que la acebuchina, es una drupa de forma ovalada con pericarpio y endocarpio. El pericarpio representa el 66 al 85 % del peso del fruto, mientras que el endocarpio varía entre el 13 y el 30 %, que es el hueso que contiene la semilla constituyendo menos del 3 % del peso total del fruto.

La composición química media de las aceitunas es: 50 % de agua, 1,6 % de proteínas, 22 % de aceite, 19,1 % de hidratos de carbono, 5,8 % de celulosa, 1,5 % de sales minerales (Fedeli, 1977).

En cuanto a la cantidad de aceite que contiene el pericarpio es del 96 al 98 % del total de aceite. Mientras que el 2 al 4 % del aceite restante, proviene del hueso. El fruto contiene hasta un 70 % de agua, que es lo que se conoce como “aguas de vegetación”.

Las variedades de olivo con frutos grandes, tienen menor contenido de aceite y mayor proporción de azúcares. Estas se suelen utilizar como aceitunas de mesa. Mientras que las variedades con aceitunas de tamaño medio son destinadas para la obtención de aceite (suelen contener entre un 15 y un 40 % de aceite).

La maduración de la aceituna es lenta (dura varios meses), y varía con la edad y estado del árbol, la altitud del lugar, la variedad, la disponibilidad del agua, la

temperatura ambiental y las prácticas del cultivo (cantidad y tipo de fertilizantes empleados).

La aceituna aumenta de peso hasta octubre o mediados de noviembre. Después, empieza a disminuir de peso por la pérdida de agua. Por tanto, se produce un aumento del contenido de aceite desde octubre a diciembre. La acumulación de aceite empieza a finales de julio y primeros de agosto. Así durante el otoño y el invierno la aceituna se oscurece y el contenido de aceite alcanza su máximo.

I.3.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA ACEITUNA.

Al hablar de la composición química, nos vamos a centrar en la aceituna ya que la bibliografía se ciñe con exclusividad en estudiar al olivo. Como este estudio se realiza sobre la base de que el acebuche y el olivo son dos especies diferentes, y como no existe estudio sobre la composición química de la acebuchina, a continuación se expone la composición química de la aceituna considerando que deba ser la misma que la acebuchina aunque no en las concentraciones de los distintos componentes que pueden ser algo diferentes. Esto es así porque la composición de los frutos puede variar según la variedad cultivada, las circunstancias externas y el grado de madurez.

I.3.3.1. AGUA.

El componente mayoritario en las aceitunas es el agua, representando alrededor del 70 % de su peso. En el caso de las acebuchinas, por los análisis que hemos practicado, el contenido en agua resultó oscilar entre el 37%, siendo el valor más bajo, y el 64 % el más alto. Ésta variación en el grado de humedad depende de la maduración del fruto, así como del grado de humedad que haya sufrido el árbol, es decir de las condiciones ambientales y climatológicas a que esté sometido.

Por tanto, la cantidad de agua que se encuentra en el fruto va a depender de la maduración de éste, de la variedad y también de factores climatológicos y ambientales como el riego (en el caso de los olivos) y del grado de humedad del suelo.

El agua actúa como vehículo diluyente de otros componentes del fruto que son solubles en ella, como ácidos orgánicos, taninos, componentes fenólicos como la oleuropeína, etc. (Kiritsakis, 1992).

I.3.3.2. AZÚCARES.

Al hablar de los azúcares, solamente nos centraremos en las aceitunas ya que en lo que se refiere a las acebuchinas, existen pocos estudios o ningún estudio, que hayamos encontrado, que hable sobre este fruto así como de su aceite. Por tanto, las referencias son sobre la aceituna.

Los azúcares que contiene principalmente la pulpa de las aceitunas son la glucosa y la fructosa como monosacáridos. En algunas variedades también están presentes la manosa y la galactosa y, como disacárido, la sacarosa (Fedeli, 1977). También se han encontrado glucosa y fructosa en el hueso de la aceituna (Kiritsakis, 1992).

La sacarosa va disminuyendo con la maduración del fruto. Los azúcares disminuyen conforme aumenta la cantidad de aceite. En el aderezo de las aceitunas de mesa al estilo sevillano, el contenido de los azúcares disminuye durante la fermentación transformándose en ácido láctico

I.3.3.3. PROTEÍNAS.

Según la variedad y el estado de madurez, la pulpa de las aceitunas contienen entre un 1.5 y un 3.0 % de proteínas. Las aceitunas presentan los mismos aminoácidos que se encuentran en otras plantas (Kiritsakis, 1992).

I.3.3.4. PIGMENTOS.

Los compuestos orgánicos responsables de la coloración de las aceitunas maduras (color púrpura y azul) son las antocianinas y los glicósidos de cianidina y peonidina (Kiritsakis & Markakis, 1987).

Los antocianinos aumentan con el desarrollo de las aceitunas, disminuyendo cuando se pasa de la madurez. El desarrollo de estos pigmentos se ve favorecido por la influencia de la luz (Kiritsakis, 1992).

La coloración de las aceitunas desde el principio hasta conseguir la madurez, pasa del verde al púrpura y azulado para llegar al final al negro. También se obtiene la coloración negra por oxidación en el aderezo de aceitunas al estilo griego o californiano.

El color verde es debido a la clorofila, el púrpura y azul a los antocianinos y el negro a la oxidación de los compuestos fenólicos (Vaughn & al, 1961).

I.3.3.5. COMPUESTOS FENÓLICOS (OLEUROPEINA).

El compuesto fenólico más típico de las aceitunas es un glicósido fenólico llamado oleuropeina, que es el responsable del amargor de los frutos aún sin madurar. Por tanto su concentración disminuye conforme madura la aceituna (Aligizakis, 1982; Kiritsakis y Markakis, 1987).

Las variedades con frutos pequeños se caracterizan por su alto contenido de oleuropeina, mientras que tienen menor contenido las variedades con frutos grandes.

La oleuropeina se encuentra en el agua del fruto. Por tanto, en el proceso de extracción del aceite permanece en el agua.

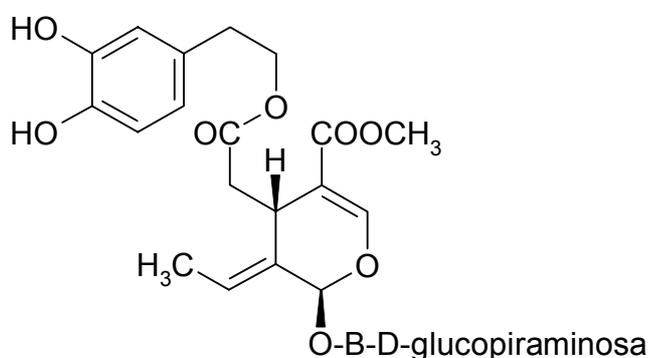


Figura I.12. Oleuropeina.

I.3.3.6. ACIDOS ORGÁNICOS.

En la pulpa de la aceituna se han encontrado pequeñas cantidades de ácidos orgánicos como cítrico, málico, oxálico, malónico, fumárico, tartárico, láctico y acético (Fedeli, 1977). Éstos ácidos se encuentran libres o bien formando sales.

I.3.3.7. SUSTANCIAS MINERALES.

En la pulpa de las aceitunas también se han encontrado sustancias minerales tales como el hierro, el calcio y el potasio entre otros elementos minoritarios. Y se ha visto que el contenido en potasio es superior al contenido total del resto de sustancias minerales juntas (Kiritsakis, 1992).

El contenido metálico de los frutos y también de los aceites va a depender en cierta manera del aporte de sales minerales del suelo en donde se encuentre el árbol y del agua con que se riegue. También va a depender del tratamiento fitosanitario que tenga el árbol. Así un olivo al que se le trata con sulfato de cobre puede que tanto las aceitunas como el aceite que se extraiga de este árbol, tengan un contenido más elevado de cobre.

También el contenido metálico de los aceites va a depender del continente en donde se encuentren almacenados éstos. Así si el depósito en donde se encuentra almacenado el aceite o las tuberías por las que discurre el aceite son de hierro o cobre, puede que éste tenga un contenido superior en dichos metales. Antiguamente también se pintaban el interior de los depósitos con minio, dándose entonces un aumento del contenido en plomo en los aceites que estén en contacto con ésta pintura. Hoy en día estos problemas ya casi no suceden por utilizarse depósitos y tuberías de acero inoxidable.

I.3.4. ANÁLISIS DE LOS FRUTOS.

El análisis de los frutos, que van destinados para la obtención de aceites, fundamentalmente se centran en el rendimiento graso, contenido en humedad y grado de acidez del aceite extraído del fruto. En cuanto al peso y, sobre todo, el calibre de los

frutos interesan más para las aceitunas de verdeo, es decir, para las aceitunas entamadas o encurtidas.

I.3.4.1. CALIBRADO DE LOS FRUTOS.

Como hemos dicho, el calibrado de los frutos es interesante para las aceitunas de verdeo. Se separan los frutos por su tamaño para los distintos envasados. Para ver el calibre de las aceitunas se suelen utilizar unas plantillas en las que vienen dibujadas una serie de aceitunas de diversos tamaños en los que se refleja el calibre de cada una mediante una numeración.

En nuestro estudio, sin embargo, es interesante el calibrado de los frutos para estadísticamente poder diferenciar los distintos frutos de acebuche (acebuchinas) y poder saber la oscilación de tamaños que tienen éstos. Para ver el calibre de las acebuchinas se puede emplear un “pié de rey” pudiéndose dar el largo y el ancho de éstas.

I.3.4.2. PESO DE LOS FRUTOS.

También el peso de los frutos puede ser interesante para estudiar la diversidad de los distintos frutos. Se puede ver el rango de oscilación de los frutos de acebuchina obteniendo el peso unitario o el peso medio de cien acebuchinas.

I.3.4.3. HUMEDAD.

La humedad del fruto va a indicar el grado de maduración que presenta, además de factores ambientales o climatológicos.

Para ver el grado de humedad se tritura el fruto en un molino obteniéndose una pasta. Una porción de esta pasta se pesa y se deseca en una estufa regulada a 105° C hasta peso constante.

I.3.4.4. RENDIMIENTO GRASO DE LOS FRUTOS.

El rendimiento graso indica la cantidad de aceite que se puede sacar de las aceitunas o acebuchinas en el molino. Se obtiene un valor que es aproximativo a la cantidad real que se obtendrá en el molino.

La cuantificación de aceite o grasa total se puede realizar por diversos métodos analíticos: mediante extractores Soxhlet, mediante resonancia magnética nuclear (RMN), por espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR), mediante el molino “Abencor”, etc.

Una vez conocida la grasa total, se puede cuantificar teóricamente, mediante el estudio estadístico realizado por Espejo Gutiérrez, J. (1980), el aceite que sale del molino (aceite de presión), así como el que sale de la extractora mediante disolventes (aceite de orujo) y el que se pierde en los procesos (irrecuperable). Todos estos datos obtenidos mediante el análisis de los frutos (acebuchina u oliva) dan una información al agricultor, almazarero o industrial bastante aproximativa a la cantidad de aceite que se obtendría en el molino y cuánto aceite se sacaría por la extractora de orujo.

Además al cuantificar la grasa total de los frutos, se da una idea al almazarero de cual es el rendimiento que va a tener la aceituna o acebuchina en ese momento, de si el fruto está más o menos maduro.

I.3.4.5. ACIDEZ DEL ACEITE EXTRAÍDO.

Al aceite extractado mediante extractores Soxhlet, se le puede ver la acidez que presenta. La acidez expresa el contenido de ácidos grasos libres que tiene el aceite expresándose en ácido oleico.

La cuantificación de la acidez se realiza mediante una volumetría con hidróxido sódico, expresándose en tanto por ciento de ácido oleico por cien gramos de aceite.

La acidez del aceite extractado, puede dar información al agricultor o empresario de si el fruto está maduro o verde, o si le ha podido picar algún insecto entre otras cosas.

En definitiva, la acidez va a dar información sobre la calidad del aceite que se va a prensar en el molino.

I.4. LOS ACEITES: DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA.

El aceite de oliva se encuentra en forma de diminutas gotas en las células del mesocarpio o pulpa de los frutos. Durante la molienda, se produce la coalescencia, es decir, se unen las gotas microscópicas dando otras más grandes. A continuación, el batido provoca la formación de gotas mayores hasta producir la separación de una fase aceitosa.

El proceso de trituración o molienda, afecta al rendimiento y a la calidad del aceite, bien por la exposición del aceite con el aire (oxidación) o bien por el aporte de trazas metálicas del molino.

También la calidad del aceite se ve afectada en el proceso de batido por la velocidad de giro del batido, por el tiempo de batido y por la adición de agua más o menos caliente.

Tradicionalmente, en los molinos el procedimiento seguido para sacar el aceite de las aceitunas era por presión. Hoy en día, éste procedimiento se está sustituyendo por el de centrifugación o por el de la combinación de ambos métodos.

I.4.1 OBTENCIÓN DEL ACEITE EN LA ALMAZARA.

La obtención de aceite en la almazara o molino se realiza a través de distintos sistemas de extracción que vamos a comentar a continuación.

Hoy en día, siguen existiendo molinos que siguen empleando métodos tradicionales en la obtención de los aceites. Es el caso del molino de Espera en la provincia de Cádiz, que es un edificio histórico del siglo XVIII y que pertenecía a la Diócesis de Sevilla (fotografía I.35).



Fotografía I.35. Almazara de Espera (Cádiz). “Molino de los diezmos” (Siglo XVIII).

I.4.1.1. OBTENCIÓN POR PRESIÓN.

Las etapas que sigue el proceso de extracción de aceite por presión (figura I.13) son las siguientes:

- 1) Eliminación de las hojas de las aceitunas.*
- 2) Lavado de las aceitunas.*
- 3) Molido de las aceitunas.*
- 4) Batido de la pasta.*
- 5) Prensado.*
 - 5.a) Fase líquida (mosto oleoso).*
 - 5.a.1) Separación por centrifugación.*
 - 5.a.1.a) Aceite de oliva.*
 - 5.a.1.b) Alpechín.*
 - 5.b) Orujo.*

Es decir, en primer lugar para la eliminación de las hojas de las aceitunas se utilizan unas máquinas que succionan las hojas mediante aspiración. A continuación se llevan a un tambor por el que circula agua para el lavado de las aceitunas. Con esto se

eliminan todas las impurezas (materias vegetales como hojas y ramitas, polvo y partículas del suelo, etc.).

Una vez deshojadas y limpias las aceitunas, se procede a su molturación mediante molinos de piedra (empiedros) (fotografías I.36, I.37 y I.38), que es el molino tradicional, o mediante molinos metálicos (de martillos, dentados, de discos, cilíndricos o de rodillos). Con el molido o molturación de las aceitunas se consigue la separación del aceite de los tejidos del fruto. Con esto se rompen las células de la pulpa para liberar el aceite de las vacuolas formándose gotas mayores.



Fotografías I.36 a I.38. Molinos de piedra o empiedros.

La pasta obtenida en el molido de las aceitunas se lleva a una batidora. Las batidoras tienen un eje horizontal (batidoras semicilíndricas) o vertical (batidoras semiesféricas) que está provisto de unas cuchillas inclinadas o de forma espiral que son

las que remueven la pasta. Las batidoras llevan una doble pared o tuberías por las que circula el agua de calentamiento. Al aumentar la temperatura se producen cambios en la viscosidad del aceite obteniéndose un mayor rendimiento. Por un lado, se favorece el fenómeno de coalescencia, formándose gotas mayores a partir de otras más pequeñas, y por otro lado, se facilita la rotura de la emulsión aceite/agua. Se suelen utilizar sustancias coadyuvantes para recuperar parte de aceite que queda retenido en la aceituna, bien porque quede en las células que no se han roto, o esté atrapado en los tejidos coloidales del citoplasma, o porque esté emulsionado en la fase acuosa. Como coadyuvante se suele emplear el talco micronizado. El talco es un mineral lipofílico, actuando en la emulsión de aceite/agua rompiéndola. Los coadyuvantes empleados no afectan a la composición de los aceites (Boskou, 1998).

Seguidamente se lleva la pasta de aceitunas a la prensa (fotografías I.39 a I.43). Para ello, se dispone la pasta en capachos de esparto o de fibras sintéticas (fotografías I.44 y I.45). Se colocan los capachos llenos de pasta en una unidad móvil con un cilindro perforado. La unidad móvil y su carga se someten bajo presión hidráulica (versión moderna). Antiguamente, las prensas funcionaban por la fuerza aplicada por los hombres o por los animales. Es importante que la distribución de la pasta sea lo más uniforme posible para que la presión sea la misma en todos los puntos y no haya desgaste de los capachos.



Fotografías I.39 y I.40. Prensas hidráulicas.



Fotografía I.41, I.42 y I.43. Prensas hidráulicas.

Una vez que la prensa ha realizado su trabajo, por una parte se obtiene una fase líquida (aceite más agua de vegetación o alpechín) al escurrir los capachos, que pasa a la unidad móvil (fotografía I.46), y por otro lado, una fase sólida (orujo) que queda en los capachos.

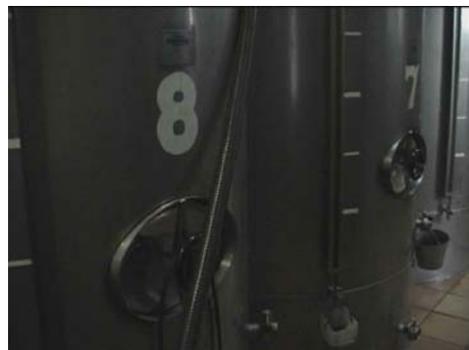


Fotografías I.44 y I.45. Capachos de prensa.



Fotografía I.46. Carrito o unidad móvil donde se recogen el aceite y el alpechín provenientes de los capachos.

La fase líquida se trasvasa a una centrífuga vertical, en la que se separan el aceite del agua. Por un lado se obtiene el aceite de oliva virgen, y por otro el alpechín o agua de vegetación que está constituida por agua (proveniente del fruto o por la aportada en el proceso) con algo de aceite emulsionado y con restos de los frutos (restos de pellejo y pulpa de los frutos). Los alpechines son contaminantes ya que están constituidos básicamente por materia orgánica, sales minerales de hierro, calcio, fósforo y potasio. También contienen fenoles, polifenoles y productos amargos (oleuropeina). Los alpechines suelen ser aguas de color negra, con olor desagradable cuando fermentan. Para su biodegradación se suelen emplear en irrigaciones controladas en las tierras de cultivo, ya que suministran a la tierra grandes cantidades de materia orgánica, potasio, nitrógeno y fósforo.



Fotografías I.47 y I.48. Depósitos para la conservación de los aceites.

El proceso de obtención de aceites por presión tiene ventajas e inconvenientes. Entre las *ventajas* están:

- Inversión reducida.
- Maquinaria simple y robusta.
- Bajo contenido de humedad en el orujo.
- Pequeña cantidad de agua residual (alpechín), conteniendo poco aceite.

En cuanto a las *desventajas* están:

- La maquinaria requiere mucho espacio.
- Se necesita mucha mano de obra.
- Contaminación de los capachos.
- Proceso discontinuo.

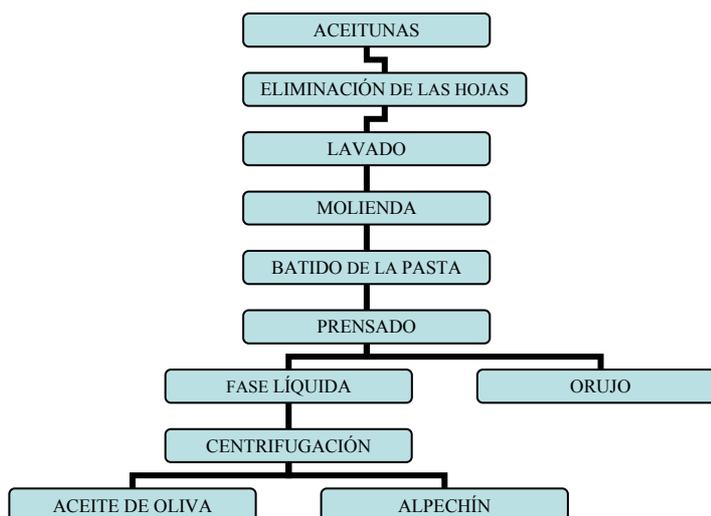


Figura I.13. Etapas de extracción de aceite de oliva por el proceso de presión.

I.4.1.2. OBTENCIÓN POR CENTRIFUGACIÓN.

La obtención de aceite mediante el proceso de centrifugación (figura I.14) sigue las siguientes etapas:

- 1) *Eliminación de las hojas de las aceitunas.*
- 2) *Lavado de las aceitunas.*
- 3) *Molido de las aceitunas.*

- 4) *Batido de la pasta.*
- 5) *Adición de agua.*
- 6) *Centrifugación.*
 - 6.a) *Fase líquida (mosto oleoso).*
 - 6.a.1) *Separación por centrifugación.*
 - 6.a.1.a) *Aceite de oliva.*
 - 6.a.1.b) *Alpechín.*
 - 6.b) *Orujo.*

La fase primera a la cuarta ya se ha comentado anteriormente en el proceso de obtención de aceite por presión. En cuanto a la fase de centrifugación, la obtención de aceite se basa en la diferencia de densidad de los constituyentes de la pasta, es decir, aceite, agua y orujo. Las fases líquidas se separan de la sólida mediante la aplicación de fuerzas centrífugas.

Las centrífugas horizontales, también llamadas *decantadores*, consisten en un recipiente alargado de forma cilíndrico-cónica, en cuyo interior hay un rotor hueco de la misma forma con aletas helicoidales (Boskou, 1998). La diferencia de velocidad de giro entre el recipiente y el rotor, que gira a más velocidad (de 3500 a 3600 r.p.m.) expulsa por un extremo al orujo y sale por otro el agua y el aceite. La fuerza centrífuga acentúa la diferencia entre los pesos específicos de los líquidos inmiscibles (aceite y agua) y de la materia sólida (orujo).

Hemos de decir que los decantadores suelen ser de tres fases, es decir, por un lado del aparato sale el aceite, por otro el orujo y por otro lado las aguas de vegetación (alpechín).

Por los años 70 y 80 aparecieron los decantadores de dos fases, en los que sale el aceite por un lado y por otra parte el orujo con las aguas de vegetación (alpeorujo). Los decantadores de dos fases no necesitan la adicción de agua. Por tanto, se obtienen orujos con mayor contenido de humedad al quedarse las aguas de vegetación en el orujo, y también se obtienen aceites más ricos en polifenoles y o-difenoles confiriéndoles mayor estabilidad.

Resumiendo, la única *desventaja*, que presenta el decantador de dos fases frente al de tres, es que se obtienen orujos con un contenido de humedad superior. Mientras que las *ventajas* que presenta son:

- Ahorro de agua y energía (no necesita el empleo de agua potable caliente).
- Aceites producidos con mayor estabilidad (contenido mayor en polifenoles y o-difenoles).
- No produce aguas de vegetación.

Por otra parte, como ya dijimos en el método de presión, el aceite y el agua se separan en centrífugas de descargas automáticas y de eje vertical.

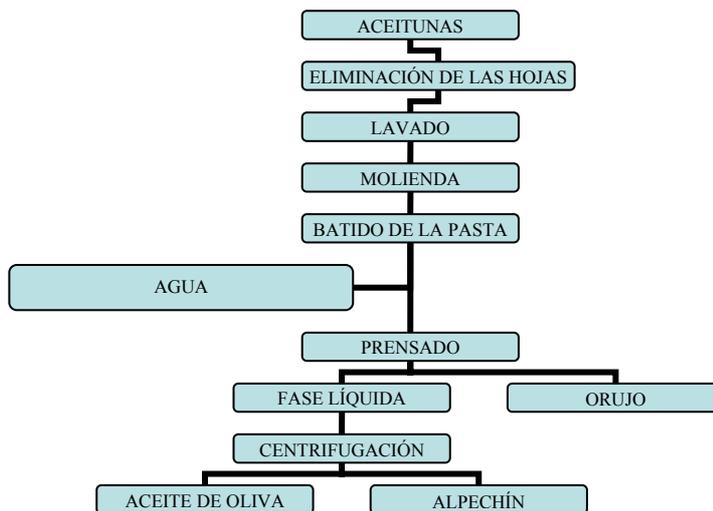


Figura I.14. Etapas de extracción de aceite de oliva por centrifugación.

La obtención de aceite por el método de centrifugación también tiene sus ventajas e inconvenientes. Entre las *ventajas* están:

- La maquinaria ocupa poco espacio.
- Proceso continuo y automatizado.
- Poca mano de obra.

Y las *desventajas* que tiene son:

- Costes altos.

- Especialización de los operarios.
- Consumo de agua caliente.
- Consumo elevado de energía eléctrica.
- Se obtiene un orujo muy húmedo.
- Producción elevada de aguas de vegetación con contenido alto de aceite.

I.4.1.3. OBTENCIÓN POR PERCOLACIÓN.

Las etapas que se sigue para la obtención de aceite por percolación o extracción parcial (figura I.15) son las siguientes:

- 1) *Eliminación de las hojas de las aceitunas.*
- 2) *Lavado de las aceitunas.*
- 3) *Molido de las aceitunas.*
- 4) *Batido de la pasta.*
- 5) *Percolación.*
 - 5.a) *Fase líquida (mosto oleoso).*
 - 5.a.1) *Separación por centrifugación.*
 - 5.a.1.a) *Aceite de oliva.*
 - 5.a.1.b) *Alpechín.*
 - 5.b) *Orujo.*

La fase de percolación o extracción selectiva consiste en que el aceite de oliva se extrae por existir diferentes tensiones superficiales de las fases líquidas en la pasta, es decir, entre el aceite y el alpechín. La tensión interfacial del aceite de oliva es menor que la del agua de vegetación, y es por esta razón por la que al sumergir en la pasta (masa) una cuchilla metálica (de acero) se cubre preferentemente con una capa de aceite. Al retirar la cuchillada acero, el aceite se separa de las otras fases, y gotea creando una corriente de mosto oleoso (Aparicio & Harwood, 2003.).

La primera planta que trabajó según este método de percolación, denominado método Acapulco, se remonta a 1911. Más tarde (1929-1930) se modificó y se conoció como método Acapulco-Quintanilla. Sin embargo, fue Francisco Buendía quien en 1951

construyó el prototipo “Alfin” (conocido como “Sinolea”) con el que superaría los inconvenientes surgidos en los anteriores prototipos.

El sistema “Sinolea” es una versión continua que consta de una cuba semicilíndrica en cuyo fondo tiene una rejilla de acero inoxidable. Hay unas láminas móviles que penetran a través de las aberturas de la rejilla, hundiéndose lentamente en la pasta de aceituna. Al subir las cuchillas, el aceite gotea de éstas, y es por esta razón por lo que se llama este proceso como percolación o goteo. En este proceso, las placas de acero se sumergen y se sacan continuamente de la pasta de aceituna.

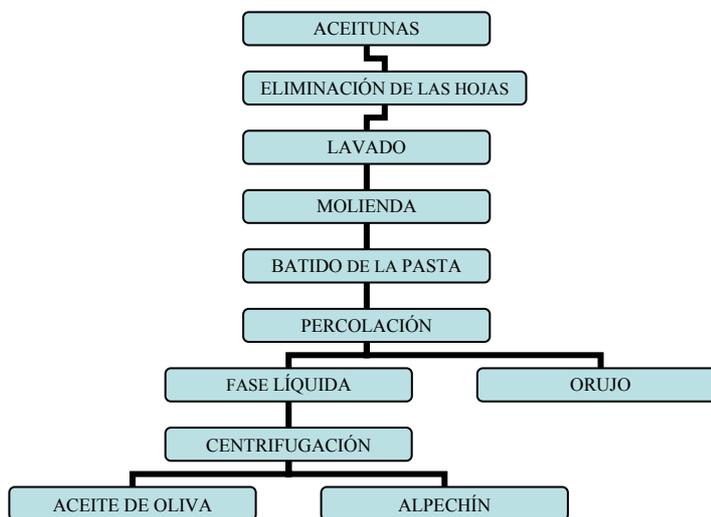


Figura 15. Etapas de extracción de aceite de oliva por percolación.

Las *ventajas* en la obtención de aceite de oliva por percolación son las siguientes:

- El aceite obtenido mantiene intactas sus características, particularmente su contenido en polifenoles (Di Giovacchino, Solinas & Miccoli, 1994).
- Extracción a temperatura ambiente. No necesita agua de dilución.
- Proceso automático.
- Poca mano de obra.
- Consumo limitado de energía.

En cuanto a las *desventajas* son:

- No agota la pasta de aceituna.
- Orujo húmedo (50-65 %) con alto contenido en aceite (8-12 %).

I.4.1.4. SISTEMA COMBINADO DE EXTRACCIÓN.

Rapanelli, en 1972, combinó los sistemas de extracción por filtración selectiva y por centrifugación. El sistema consta principalmente de una unidad de filtración selectiva (“Sinolea”) y una decantadora centrífuga horizontal.

Las etapas que sigue este método son las siguientes:

- 1) *Eliminación de las hojas de las aceitunas.*
- 2) *Lavado de las aceitunas.*
- 3) *Molido de las aceitunas.*
- 4) *Batido de la pasta.*
- 5) *Percolación. **
 - 5.a) *Fase líquida (mosto oleoso).*
 - 5.a.1) *Separación por centrifugación.*
 - 5.a.1.a) *Aceite (aceite “Sinolea”).*
 - 5.a.1.b) *Alpechín.*
 - 5.b) *Orujo (Pasta de aceituna con alto contenido en aceite).*
 - 5.b.1) *Adición de agua.*
 - 5.b.2) *Batido de la pasta.*
 - 5.b.3) *Centrifugación. ***
 - 5.b.3.a) *Aceite y agua.*
 - 5.b.3.a.1) *Separación por centrifugación.*
 - 5.b.3.a.1.a) *Aceite del decantador.*
 - 5.b.3.a.1.b) *Alpechín.*
 - 5.b.3.a.1.b) *Alpechín y aceite (se separan por centrifugación).*

En este proceso, la mayor parte de aceite de oliva (70-80 %) se separa en la unidad “Sinolea” *, centrifugándose después para separar el agua y otras sustancias presentes. El restante aceite (20-30%) se recupera por dilución de la pasta con agua caliente, batido y centrifugación en un decantador ** (Kiritsakis, 1992). El aceite

obtenido del sistema “Sinolea” es de muy alta calidad preservando su aroma, ya que no se utiliza agua caliente para su extracción. En cambio el aceite obtenido a través del decantador tiene un color más oscuro (contiene más clorofila) que el aceite “Sinolea”, ya que se somete a más batido.

Las *ventajas* que presenta el sistema combinado de percolación y centrifugación son:

- Reducción de mano de obra.
- Obtención de un aceite de baja acidez.
- El aceite “Sinolea” conserva componentes volátiles.

En cuanto a las principales *desventajas* son:

- Instalación cara.
- Baja concentración de fenoles debido a las pérdidas por adición de agua.

Antiguamente, se combinaban los sistemas de percolación y presión posterior de la pasta mediante capachos. Las principales desventajas que presenta esta combinación son:

- Necesita misma potencia que el sistema de prensado.
- Utiliza capachos (presentado los inconvenientes que comentamos con anterioridad en el sistema de presión).
- Operación discontinua.

Este método combinado ha dejado de usarse, empleándose el sistema combinado de percolación y centrifugación.

I.4.2. OBTENCIÓN DEL ACEITE A ESCALA DE LABORATORIO.

La obtención del aceite a escala de laboratorio se realiza mediante pequeñas plantas experimentales de extracción de aceite de oliva. La obtención de aceite a escala de laboratorio se suele basar en el método de centrifugación.

El esquema que se sigue a escala de laboratorio para la obtención de aceite es el siguiente:

- 1) *Eliminación de las hojas de los frutos.*
- 2) *Lavado de los frutos.*
- 3) *Molido de los frutos.*
- 4) *Batido de la pasta.*
- 5) *Adición de agua.*
- 6) *Centrifugación.*
 - 6.a) *Fase líquida (mosto oleoso).*
 - 6.a.1) *Separación por centrifugación.*
 - 6.a.1.a) *Aceite de oliva.*
 - 6.a.1.b) *Alpechín.*
 - 6.b) *Orujo.*

Como vemos el proceso es idéntico al que se realiza en un molino, pero a escala reducida además de que la maquinaria es diferente no sólo en cuanto al tamaño, sino también en cuanto al diseño. En este trabajo se empleó un molino a escala de laboratorio patentado por la firma Abengoa denominado “Abencor”.

Basándonos en las acebuchinas, en un primer lugar se procede a la limpieza de los frutos. Para ello se deshoja manualmente las acebuchinas, además de arrancarles las ramitas. Este suele ser un proceso laborioso en el que se debe de disponer de cierta dosis de paciencia.

En el siguiente paso se procede a la molturación de los frutos mediante el empleo de un molino eléctrico o triturador de laboratorio. Este molino dispone de una pequeña tolva por la que se introducen las acebuchinas libres de hojas y ramitas. El molino en su interior tiene una especie de tornillo que va arrastrando a los frutos hacia unas palas o martillos, que los tritura contra una placa con orificios o criba. A través de la criba va saliendo la pasta de aceituna o de acebuchina que se recoge en una bandeja. A este tipo de molino se le denomina de martillos.

Existen también molinos manuales. En estos molinos, a diferencia de los de martillo, además de no ser eléctricos, tienen un eje en forma de tornillo que conduce a los frutos hacia dos placas dentadas que están girando una paralela a la otra. El eje se

acciona por medio de una manivela con la que se hace que el molino entre en movimiento.

Al igual que en las almazaras, una vez triturado los frutos, se procede al batido de la pasta de aceituna o de acebuchina. Para ello, en el laboratorio, se dispone de una termobatidora (fotografías I.49 y I.50). Esta consiste en un baño termostático (con una resistencia que regula el calor) que contiene ocho huecos para introducir ocho cazos de batido (en donde se introduce la pasta). Dispone de ocho palas de batido individuales para cada cazo (fotografía I.51). Al iniciar el batido, se le adiciona a la pasta talco micronizado como coadyuvante para facilitar la salida de las gotas de aceite de la pasta, y agua caliente. La pasta se bate durante 30 minutos aproximadamente.



Fotografías I.49 y I.50. Termobatidora.



Fotografía I.51. Cazo de batido con pasta de acebuchinas.

Una vez que ha terminado el tiempo de batido, se pasa la pasta a una centrífuga vertical. La centrífuga consta de un tambor de acero inoxidable que gira a 3500 r.p.m. y en el fondo tiene un tapón que hace pasar la fase líquida (aceite más alpechín) a través de un cono hacia el recipiente de recolección (fotografía I.52). El tiempo de centrifugación es de un minuto. Una vez separadas las fases, el orujo se queda pegado a las paredes del tambor de acero.



Fotografía I.52. Centrífuga de laboratorio.

Después se procede a separar las fases líquidas (aceite y aguas de vegetación) mediante centrifugación. Una vez obtenido el aceite se conserva en el frigorífico, en frascos de vidrio, hasta la realización de su posterior análisis.

Este proceso de obtención a escala de laboratorio es totalmente discontinuo.

I.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES.

Los aceites, en general, cuando se los somete a la acción de una base (sosa o potasa) se produce el fenómeno de la saponificación de la grasa, es decir, se transforma en jabón. Desde éste punto de vista, podemos clasificar los distintos componentes de los aceites en constituyentes saponificables y en constituyentes insaponificables. Unos y otros conforman la fracción saponificable y la fracción insaponificable.

El aceite de oliva está constituido por una fracción saponificable, lo que supone más del 98% del aceite y por una fracción insaponificable constituida entre el 1.5% y el 0.5%. Entre los constituyentes de la fracción saponificable están los: *triglicéridos*, *diglicéridos* (que pueden ser 1,2-diglicéridos provenientes de la síntesis de los triglicéridos, o bien 1,3-diglicéridos provenientes de la hidrólisis de los triglicéridos), *ceras* (que son ésteres de ácidos grasos y alcoholes grasos), *ésteres de esteroides*, *alcoholes terpénicos* y *ácidos grasos libres* (Pérez-Camino, Moreda & Cert, 1996). La fracción saponificable está formada por triglicéridos o triacilglicerol constituidos por ácidos grasos de 16 a 24 átomos de carbono siendo el mayoritario el ácido oleico. La relación porcentual entre los diferentes ácidos en el aceite de oliva es función de la variedad, zona de cultivo, etc. (Aparicio & Alonso, 1994; Aparicio, Alonso & Morales, 1994). Los constituyentes de la fracción insaponificable son: *esteroides*, *dialcoholes terpénicos* (como son el eritrodiol y el uvaol), *alcoholes triterpénicos* (como el butirospermol, el cicloartenol, el 24-metilen-ciclotartanol, etc), *alcoholes alifáticos* (dicosanol, tetracosanol, etc), *tocoferoles* (α , β , γ y δ), *hidrocarburos esteroideos* (estigmasta-3,5-dieno), *hidrocarburos terpénicos* (escualeno), *4,4-metil-esteroides* (obtusifoliol, gramisterol, cicloeucalenol, etc), *compuestos fenólicos y flavonoides*, *pigmentos* (clorofila, caroteno), *compuestos volátiles responsables de los aromas de los aceites* (Aparicio & Harwood, 2003).

I.5.1. FRACCIÓN SAPONIFICABLE.

En esta fracción, que constituye aproximadamente el 98% de los aceites, está formada principalmente por triglicéridos y por ácidos grasos libres.

I.5.1.1. ÁCIDOS GRASOS.

Los ácidos grasos se encuentran en su gran mayoría combinados con glicerina, en forma de triglicéridos, o libres confiriéndole al aceite su carácter mas o menos ácido, dependiendo de la mayor o menor concentración de éstos.

Los ácidos grasos no se encuentran solamente como ácidos grasos libres cuando lo están en pequeña proporción, comunicando una cierta acidez al aceite, sino que también se encuentran formando ésteres, habitualmente con la glicerina, para dar lugar a

los glicéridos (como mono, di y triglicéridos y fosfátidos). También pueden formar ésteres con alcoholes grasos de estructura lineal (ceras) o terpénica (ésteres de terpenos y ésteres de esteroides).

Los aceites vegetales comestibles raramente contienen ácidos grasos de cadena ramificada o con número impar de átomos de carbono, o ácidos grasos insaturados con menos de 16 átomos de carbono o con más de 20 átomos de carbono (Aparicio & Harwood, 2003).

I.5.1.2. TRIGLICÉRIDOS.

Como dijimos anteriormente, la fracción saponificable de los aceites de oliva es aproximadamente del 98 % y que, entre los constituyentes de esta fracción se encuentran sobre todo triglicéridos, además de diglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos libres entre otros productos. Los triglicéridos son ésteres provenientes de la unión del trialcohol glicerina (1, 2, 3-propanotriol) con ácidos grasos, ya sean los tres iguales con el mismo número de átomos de carbono (R), dos iguales y uno diferente o bien los tres diferentes.

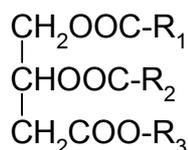


Figura I.16. Triglicérido.

I.5.1.3. MONO- Y DI-ACILGLICEROLES.

Los aceites, aparte de contener mayoritariamente triglicéridos, también contienen glicéridos parciales. La presencia en los aceites de mono-acilgliceroles (monoglicéridos) y di-acilgliceroles (diglicéridos), en parte es debida a una biosíntesis incompleta y, principalmente, a una hidrólisis del aceite. Es decir, cuando los diacilgliceroles son de estructura 1,2-diacilo, son productos intermedios en la síntesis de los triglicéridos; y cuando son de estructura 1,3-diacilo, son productos provenientes de

la hidrólisis de los tri-acilgliceroles (triglicéridos) (Pérez-Camino, Moreda & Cert, 1996)

Se puede usar la determinación de di-acilgliceroles para evaluar la calidad de los aceites, ya que según el estudio de Mariani & Fedeli (1985) la presencia de di-acilgliceroles en el aceite de oliva indica que es de baja calidad.

I.5.1.4. CERAS.

Las ceras son ésteres de alcoholes grasos con ácidos grasos. Las principales ceras de los aceites de oliva son de número de carbono par, es decir, ésteres C-36 a C-46.

Las ceras se producen mediante una esterificación entre los alcoholes presentes en el aceite y los ácidos grasos libres. Cuando se produce una hidrólisis de los triglicéridos se aumenta el contenido de ácidos grasos libres, originándose un aumento en la velocidad de la reacción de esterificación.

Varios autores han demostrado que se producen cambios en la concentración de ceras de los aceites de oliva de forma natural. Así se ha visto que tiene lugar un incremento en el contenido de ceras durante el almacenamiento del aceite de oliva virgen. Este incremento depende de la concentración de las especies reactivas y de las condiciones de almacenamiento (Mariani & Venturini, 1996). De esta manera, una elevada concentración de alcoholes alifáticos, puede provocar con el tiempo un aumento del contenido de ceras inicial. Este mismo aumento se ha detectado, tras el almacenamiento, en aceite de oliva virgen usado como cobertura de conservas vegetales envasadas en vidrio (Mucciarella & Marsilio, 1997).

También se ha observado diferencias en el contenido de ceras de aceites de oliva de distintas variedades obtenidos por sistemas de presión y centrifugación, siendo ligeramente superior el contenido de ceras en los aceites obtenidos por presión (Ranalli & Serraiocco, 1996). También se ha visto que el contenido en ceras varía de los aceites obtenidos en primera y en segunda centrifugación, siendo los valores más altos en los aceites de oliva de segunda centrifugación (llamados también de “repasso”). Además,

también se produce un aumento en la formación de ceras cuando se realizan varios procesos de centrifugación consecutivos (Alba Mendoza & al., 1996).

I.5.1.5. ÉSTERES DE ESTEROLES.

También los esteroides pueden estar presentes en forma esterificada en los aceites. La esterificación de los esteroides se produce entre los grupos hidroxilos que tienen con ácidos grasos libres. La estructura de los esteroides es una estructura esteroidea que deriva del anillo ciclopentano-perhidrofenantreno con diferentes radicales y, entre ellos grupos alcohólicos o hidroxilos.

I.5.1.6. FOSFOLÍPIDOS O FOSFÁTIDOS.

En las grasas vegetales, principalmente se encuentran los fosfoglicéridos (lecitina, cefalina, fosfatidil-linositol) y también esfingolípidos. Los fosfolípidos tienen carácter lipófilo y polar, siendo buenos emulgentes. Los fosfolípidos son más inestables que los triglicéridos y se oxidan y enrancian con más facilidad, teniéndose que separar en algunos aceites en las operaciones de refinado (proceso de desgomado) (Primo, 1997).

Los aceites nuevos pueden contener pequeñas cantidades de fosfolípidos (entre 40 y 135 ppm). Los aceites viejos tienen cantidades más pequeñas (Vitagliano, 1961).

Los principales fosfolípidos encontrados en el aceite de oliva son: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidil-linositol y fosfatidilserina (Cert & al, 1994). El ácido oleico es el ácido graso predominante en estos fosfolípidos.

El proceso de desgomado, en la refinación de los aceites, consiste en tratar los aceites con agua o vapor, con lo que los fosfátidos se hidratan y se hacen insolubles en la fase grasa. Por centrifugación posterior, se separan los fosfátidos junto con el agua en exceso. Deshidratando el producto se obtiene la lecitina.

El aceite de oliva por contener cantidades pequeñas de fosfolípidos no suele desgomarse. La principal fuente de fosfátidos es el aceite de soja seguido del germen de maíz (Primo, l.c.).

I.5.2. FRACCIÓN INSAPONIFICABLE.

La fracción insaponificable constituye entre el 1,5 y el 2 % de los aceites. Como su nombre indica es la parte que no forma jabones en los aceites.

I.5.2.1. HIDROCARBUROS.

Los hidrocarburos presentes en los aceites de oliva pueden ser de diversa naturaleza (terpénicos, esteroideos o policíclicos aromáticos).

I.5.2.1.A. HIDROCARBUROS TERPÉNICOS.

En los aceites de oliva se han encontrado dos hidrocarburos en cantidades considerables: escualeno y β -caroteno. El β -caroteno lo estudiaremos en la sección de los pigmentos. El escualeno es un hidrocarburo insaturado de treinta átomos de carbono ($C_{30}H_{50}$). Es un triterpeno lineal polímero del isopreno. El escualeno está presente en todos los aceites y grasas vegetales, especialmente en el aceite de oliva.

El escualeno es un precursor bioquímico de de la biosíntesis de de los esteroides. Es el principal constituyente de la materia insaponificable pudiendo llegar hasta el 40 % del peso total.

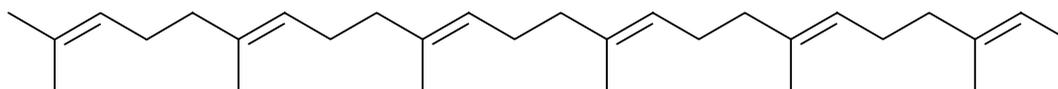


Figura I.17. Escualeno.

I.5.2.1.B. HIDROCARBUROS ESTEROIDEOS.

Los hidrocarburos esteroideos, no se encuentran de forma natural o se encuentran en cantidades por debajo de 0,15 mg/Kg en los aceites de oliva virgen.

Estos hidrocarburos aparecen en los procesos de refinación por deshidratación de los esteroides. Cuando el aceite es sometido a un calentamiento durante su refinación, se produce la deshidratación de los esteroides del aceite, es decir; un grupo hidroxilo se combina con el hidrógeno del carbono adyacente formando un doble enlace o insaturación. El hidrocarburo más significativo que se forma es el estigmasta-3,5-dieno a partir del β -sitosterol en los procesos de refinación (Cert et al, 1994). Esta técnica sirve para evidenciar la presencia de aceite refinado en aceite de oliva virgen.

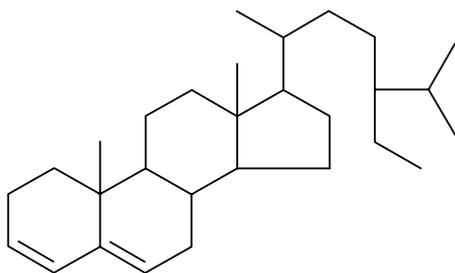


Figura I.18. Estigmasta-3,5-dieno.

I.5.2.1.C. HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS.

Los hidrocarburos aromáticos presentes en los aceites de oliva son, entre otros: fenantreno, fluoranteno, 1,2-benzoantraceno, criseno y perileno (Fedeli, 1977).

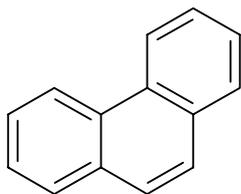


Figura I.19. Fenantreno.

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos se han encontrado en los aceites de oliva en pequeñísimas cantidades. Según algunos autores los valores encontrados pueden variar desde por debajo de 1 ppb hasta 700 ppb. Según Tiscornia, estos compuestos son más producto de la contaminación que hayan sufrido los aceites que de metabolitos propiamente dicho (Tiscornia, Fiorina y Evangelistis, 1982). Su análisis se practica por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detector de fluorescencia, o bien, por cromatografía gaseosa con detector de espectroscopia de masas.

1.5.2.2. TOCOFEROLES.

En el año 1922, Evans realizó unas experiencias con ratas a las que se les sometió a una dieta con grasa sintética o enranciada, observando que los embarazos no llegaban a buen término. Postuló un factor vitamínico, existente en las grasas naturales, al que se le llamó *tocopherol* por su efecto y vitamina E por el orden. En 1936, Evans aisló el producto activo.

Los tocoferoles son compuestos heteroácidos de alto peso molecular. Se han identificado varios tocoferoles aislados y se han designado como α , β , γ y δ - tocoferol. Todos tienen un núcleo de cromano sustituido con grupos fenólicos y metilos y una cadena lateral saturada, de 16 átomos de carbono, con tres esqueletos de isopreno. Se diferencian unos de otros en la posición de los grupos metilos sustituyentes. Las estructuras químicas de los cuatro tocoferoles son las siguientes:

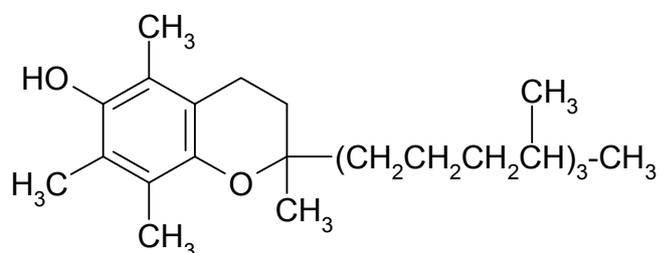


Figura I.20. α -tocopherol. (5, 7, 8 Trimetil-tocol).

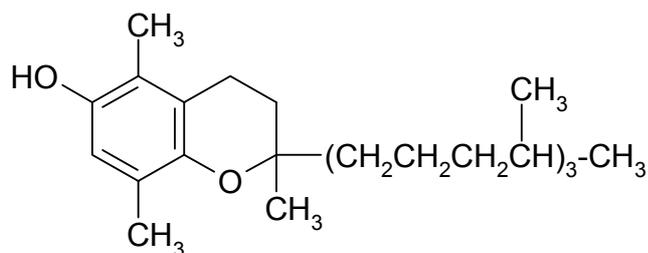


Figura I.21. β -tocoferol. (5, 8 Dimetil-tocol).

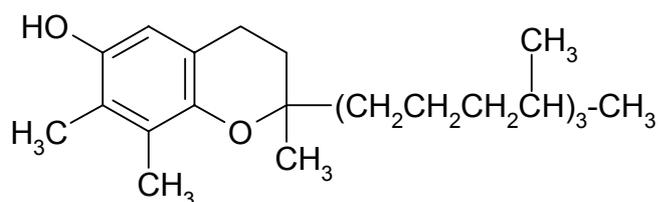


Figura I.22. γ -tocoferol. (7, 8 Dimetil-tocol).

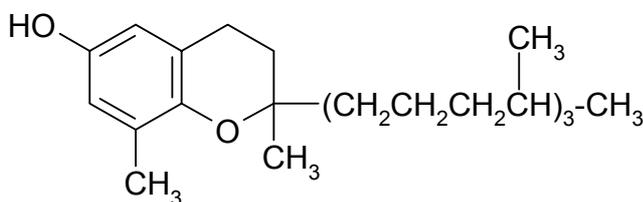


Figura I.23. δ -tocoferol. (8 Metil-tocol).

Los tocoferoles están presentes en el aceite de oliva en su forma libre y no esterificada. Esto se confirma por los trabajos de Speek y colaboradores (Speek, Schnjrer & Schreurs, 1985), que determinaron el contenido de homólogos de vitamina E en varias muestras de aceite de oliva antes y después de la saponificación. No encontraron variaciones en el contenido de tocoferoles.

Los tocoferoles son formidables agentes antioxidantes naturales y confieren estabilidad a la grasa o aceite que los posee. Por tanto, los tocoferoles son unos constituyentes importantes en el aceite de oliva, ya que le da estabilidad, y tienen un papel biológico beneficioso como antioxidantes. Se sabe que el consumo de aceite de

oliva produce beneficios debido a su composición de ácidos grasos y a la presencia de antioxidantes naturales (vitamina E). Muchos expertos están de acuerdo que el daño causado por los radicales libres está relacionado con los cambios celulares y extracelulares que ocurren con el tiempo con el proceso de envejecimiento, en las enfermedades crónicas y en las coronarias (Packer, 1991). Se ha sugerido que los riesgos coronarios se pueden reducir consumiendo alimentos ricos en vitamina E, además de dejar de fumar, controlar el peso, consumir menos colesterol y grasas saturadas, hacer ejercicio, etc. (Covian, 1994).

Según Primo Yúfera (1997), la vitamina E, además de la A y D, se absorbe y transporta con las grasas y se almacena en el tejido adiposo, pero se metaboliza por oxidación y se excreta, por lo que el riesgo de toxicidad por dosis altas es menor. Su propiedad más interesante es la de antioxidante, captando radicales peróxido que se producen por metabolismo oxidativo. Estos radicales libres peroxidan los ácidos insaturados de las membranas celulares iniciando reacciones en cadena. La acción captadora de los tocoferoles protege la membrana de las alteraciones producidas por la peroxidación. Varias corrientes de investigación asocian la peroxidación con el envejecimiento celular y, en este sentido, el papel de la vitamina E cobra mayor importancia. No se conoce bien la acción de la vitamina E en la especie humana. En los animales de laboratorio previene una forma de esterilidad con aborto prematuro. En el hombre parece que disminuye la tasa de colesterol en la sangre. También el déficit de vitamina E puede provocar algunas retinopatías, anemias hemolíticas por fragilidad de la membrana celular, y patologías diversas en el recién nacido. Experiencias con dosis altas indican un efecto beneficioso sobre la incidencia de aterosclerosis, de algunas enfermedades de cáncer, alteraciones de la córnea, etc.

La dosis de vitamina E recomendada es de 10 a 20 mg/día, aunque la falta de síntomas claros hace difícil precizarla y también depende de la ingesta de grasas insaturadas.

La presencia de tocoferoles en los aceites, aparte de su acción vitamínica, su acción antioxidante frena el enranciamiento de las grasas y la degradación oxidativa de la vitamina A y carotenoides presentes en los alimentos.

I.5.2.3. ALCOHOLES GRASOS.

Los alcoholes grasos pueden ser lineales (alifáticos) o triterpénicos.

I.5.2.3.A. ALCOHOLES ALIFÁTICOS O LINEALES.

Los alcoholes alifáticos son compuestos de estructura lineal. Según el número de átomos de carbono, estos alcoholes pueden ser el monocosanol (C-21), dicosanol (C-22), tricosanol (C-23), tetracosanol (C-24), pentacosanol (C-25), hexacosanol (C-26), heptacosanol (C-27) y octacosanol (C-28). Normalmente en los aceites de oliva los alcoholes con cantidades más relevantes son los de número par, mientras que los impares se encuentran en pequeñas cantidades.

Los alcoholes alifáticos son precursores de la formación de ceras. Así, un alto contenido de alcoholes puede traer como consecuencia que el contenido de ceras aumente a lo largo del tiempo.

I.5.2.3.B. ALCOHOLES TRITERPÉNICOS.

Los alcoholes triterpénicos son también denominados por 4,4-dimetilesteroles. Los principales alcoholes triterpénicos que están presentes en los aceites de oliva son: β -amirina, butirospermol, cicloartenol y 24-metilencicloartanol (Itoh, Tamura & Matsumoto, 1973) (figuras I.24, I.25, I.26 y I.27).

Según Itoh & al. (1973), encontraron diferencias significativas en el contenido de alcoholes triterpénicos entre el aceite de oliva (presión) y el de orujo (extracción), sobre todo en el porcentaje de 24-metilencicloartanol.

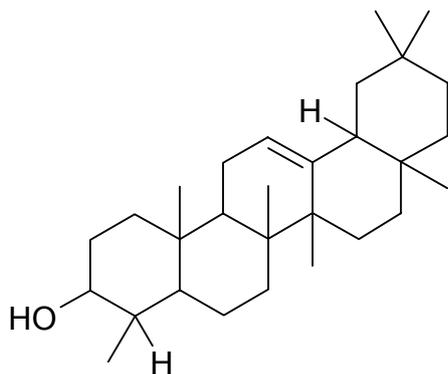


Figura I.24. β -amirina.

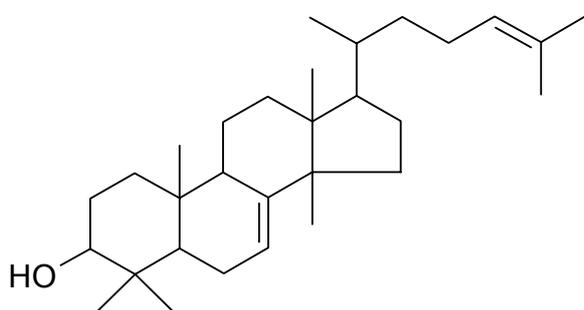


Figura I.25. butirospermol.

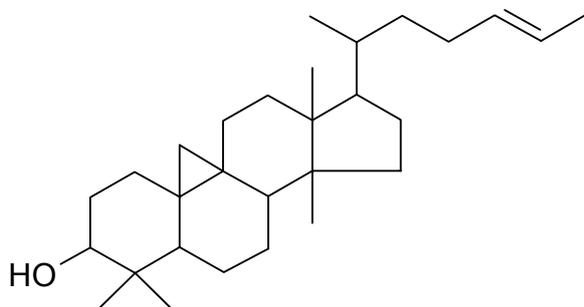


Figura I.26. cicloartenol.

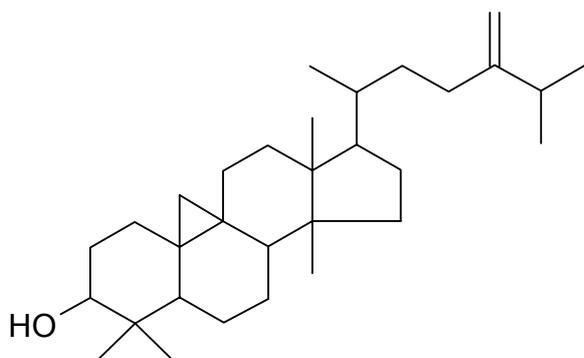


Figura I.27. 24-metilen-cicloartanol.

I.5.2.3.C. DITERPENOIDES.

Dentro de la fracción alcohólica se han encontrado lo que se denominan diterpenoides acíclicos, concretamente dos de ellos: el fitol y el geranilgeraniol. Según los autores (Mariani, Venturini, Bondioli, Fedeli & Grob, 1992; Paganuzzi, 1979), probablemente el fitol provenga de la clorofila.

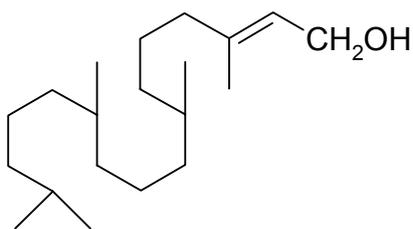


Figura I.28. Fitol.

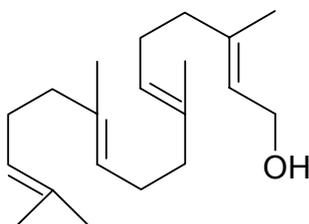


Figura I.29. Geranylgeraniol.

I.5.2.4. ESTEROLES.

Los esteroides comprenden un amplio grupo de compuestos que presentan una estructura molecular análoga. Su estructura proviene del ciclopentano-perhidrofenantreno. La diferencia entre los diversos esteroides está en el número y posición de los dobles enlaces y en la naturaleza de la cadena lateral. Los esteroides se encuentran en todos los aceites ya sean de origen vegetal como animal. En el aceite de oliva se presentan un total de 15.

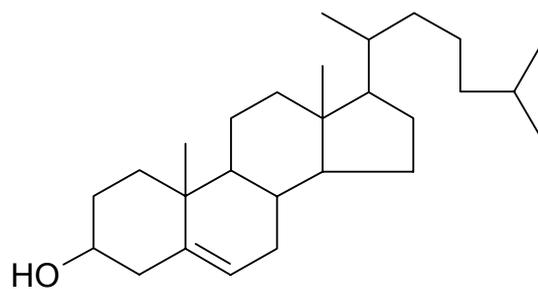


Figura I.30. Colesterol. (Δ -5-colesten-3 β -ol).

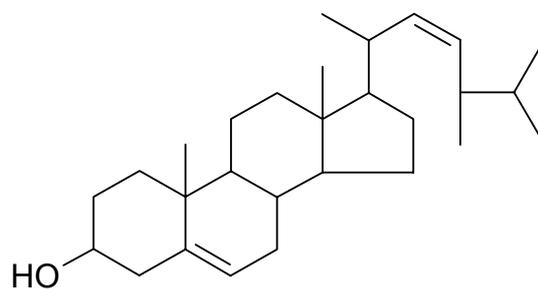


Figura I.31. Brasicasterol. ((24S)-24-metil- Δ -5,22colestadien-3 β -ol).

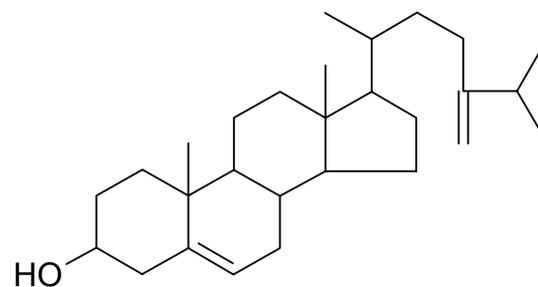


Figura I.32. 24-metilen-colesterol. (24-metilen- Δ -5,24-colesten-3 β -ol).

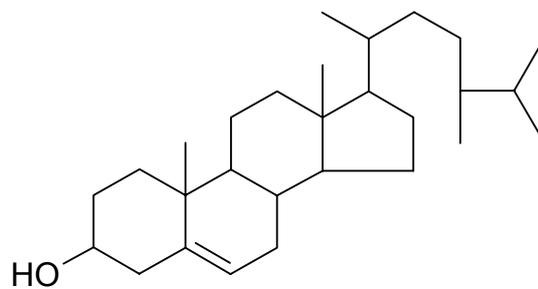


Figura I.33. Campesterol. ((24R)-24-metil- Δ -5-colesten-3 β -ol).

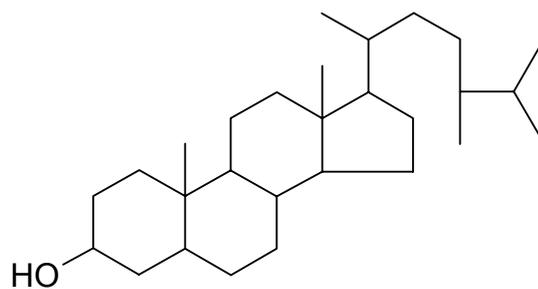


Figura I.34. Campestanol. ((24R)-24-metil-colestan-3 β -ol).

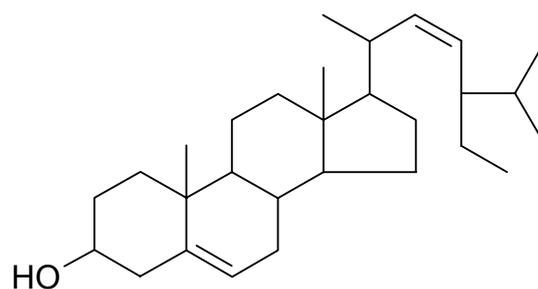


Figura I.35. Stigmasterol. ((24R)-24-metil- Δ -5, 22-colestadien-3 β -ol).

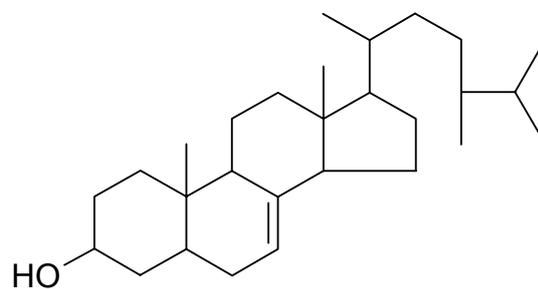


Figura I.36. Δ -7-Campesterol. ((24R)-24-metil- Δ -7-colesten-3 β -ol).

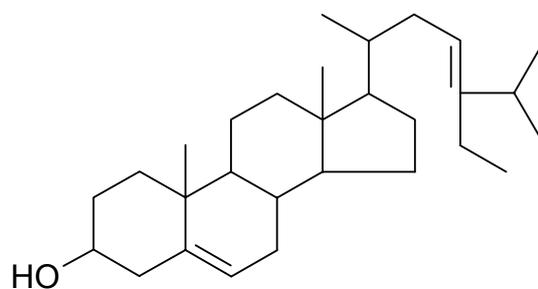


Figura I.37. Δ -5-23-estigmasterol. ((24R,S)-24-etil- Δ -5-23-colestadien-3 β -ol).

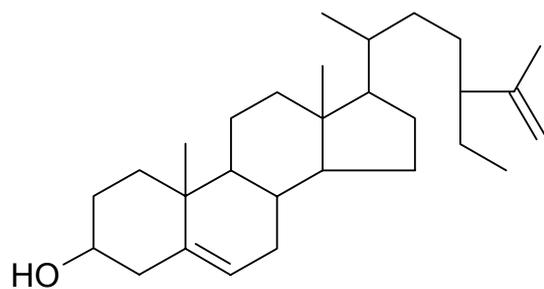


Figura I.38. Clerosterol. ((24S)-24-etil- Δ -5-25-colestadien-3 β -ol).

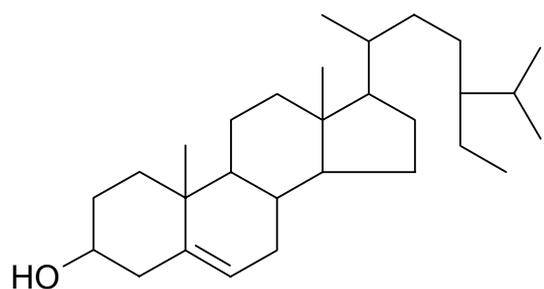


Figura I.39. β -sitosterol. ((24R)-24-etil- Δ -5-colesten-3 β -ol).

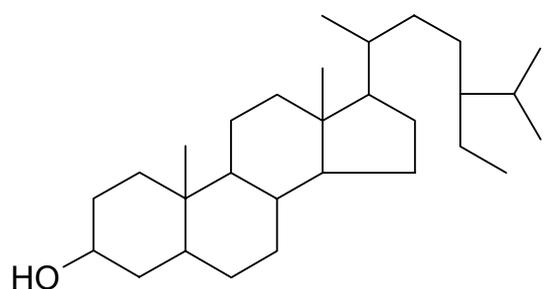


Figura I.40. Sitostanol. ((24R)-24-etil-colestan-3 β -ol).

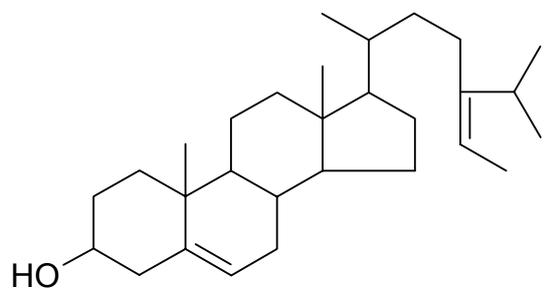


Figura I.41. Δ -5-avenasterol. ((24Z)-24-etiliden-5-colesten-3 β -ol).

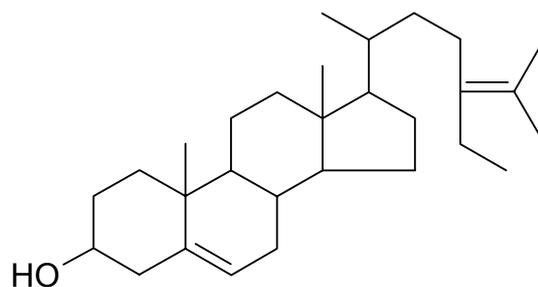


Figura I.42. Δ -5-24-estigmastadienol. ((24R,S)-24-etil- Δ -5-24-colestadien-3 β -ol).

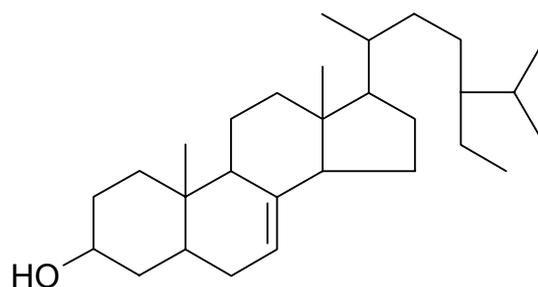


Figura I.43. Δ -7-estigmastenol. ((24R,S)-24-etil- Δ -7-colesten-3 β -ol).

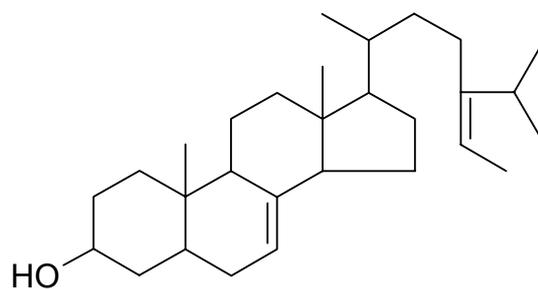


Figura I.44. Δ -7-avenasterol. ((24Z)-24-etiliden- Δ -7-colesten-3 β -ol).

I.5.2.5. 4 α -METIL-ESTEROLES.

Los compuestos denominados 4 α -metil-esteroides (o esteroides 4-monometil) son productos intermedios en la biosíntesis de los esteroides. Se encuentran en los aceites de oliva en pequeñas cantidades. Los más predominantes son el obtusifoliol, gramisterol, cicloeucalenol y citrostadienol (Boskou, 1998).

I.5.2.6. DIALCOHOLES TRITERPÉNICOS.

En el insaponificable de los aceites de oliva y de orujo también se encuentran dos alcoholes triterpénicos pentacíclicos, que son el eritrodiol (homo-olestranol, 5 α -olean-12-en-3 β , 28-diol) y el uvaol (Δ -12-ursen-3 β , 28-diol). Estos dos dialcoholes triterpénicos (eritrodiol y uvaol) fueron identificados por Fedeli (1977). Las estructuras del eritrodiol y del uvaol son las siguientes:

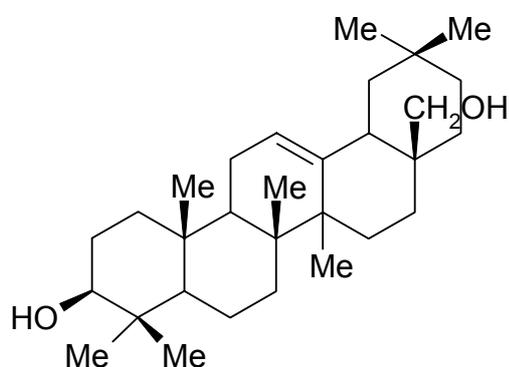


Figura I.45. Eritrodiol.

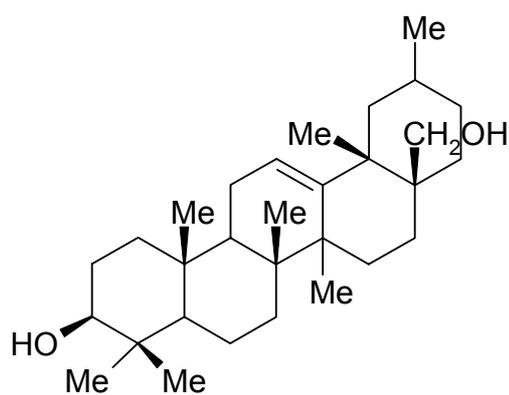


Figura I.46. Uvaol.

I.5.2.7. ÁCIDOS HIDROXITERPÉNICOS.

Los ácidos hidroxiterpénicos pentacíclicos son la forma oxidada de los dialcoholes triterpénicos. En el aceite de oliva, los ácidos hidroxiterpénicos presentes son: ácido oleanólico, ácido maslínico, ácido ursólico, ácido betulínico, ácido 2 α -hidroxi-ursólico y ácido deoxiursólico (Boskou, 1998).

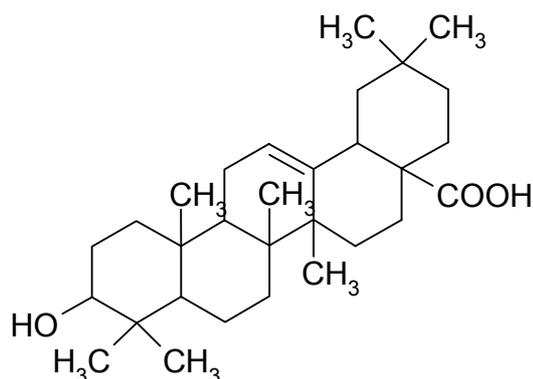


Figura I.47. Ácido oleanólico.

I.5.2.8. PIGMENTOS.

Los colores de los aceites de oliva virgen van desde el verde (oscuro a claro) al dorado o amarillo. Estos colores son debido al contenido de pigmentos presentes en los aceites. Los pigmentos están involucrados en los mecanismos de auto-oxidación y en la foto-oxidación. Los pigmentos naturales presentes en el aceite de oliva son las clorofilas y feofitinas y los carotenoides.

Las *clorofilas* y las *feofitinas* pueden ser a o b, y son las responsables del color de los aceites. Las estructuras moleculares de la clorofila y de la feofitina contienen cuatro grupos pirrólicos con un átomo de magnesio, en el caso de la clorofila, y de dos átomos de hidrógeno, en el de la feofitina. La concentración de clorofilas en los aceites va a depender de:

1) El sistema empleado en la extracción (en la centrifugación directa el contenido de clorofila es superior al método de prensado clásico).

2) La madurez de los frutos (el contenido de clorofila es superior en las primeras épocas de recogida que al final del periodo de recogida que va a ser superior el contenido de xantofilas) (Boskou, 1998).

En cuanto a los *carotenoides* presentes en los aceites de oliva están: la luteína, el β -caroteno, violaxantina y neoxantina. La estructura del β -caroteno es un terpenoide de cuarenta átomos de carbono. Al igual que ocurre con las clorofilas y feofitinas, los carotenoides van a depender de:

- 1) Los sistemas de extracción empleados (la concentración de carotenoides es mayor en la centrifugación que en la percolación).
- 2) Los sistemas de molturación de las aceitunas.

I.5.2.9. COMPUESTOS FENÓLICOS.

Los compuestos fenólicos están presentes en el mesocarpio de la aceituna, y aunque son solubles en agua se han encontrado pequeñas cantidades en el aceite de oliva. Los aceites de oliva virgen contienen sustancias fenólicas que afectan a su estabilidad, sabor y aroma. Estos compuestos se conocen como polifenoles, y son parte de la fracción polar que se obtiene del aceite cuando se extrae con etanol-agua (Cortesi & Fedeli, 1983). Por tanto, la mayor o menor cuantía de estos productos afectan a la estabilidad frente a la oxidación de una manera considerable.

Los polifenoles encontrados en el aceite de oliva y en los alpechines son diferentes a los encontrados en las aceitunas. En los aceites de oliva vírgenes, los polifenoles mayoritarios encontrados son el tirosol y el hidroxitirosol. Además, también se han encontrado otros polifenoles como son: oleuropeina, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido o-cumárico, ácido protocatéquico, ácido sinápico, ácido hidroxibenzóico, ácido p-hidroxifenilacético y ácido homovanílico. Los aceites de oliva refinados no contienen polifenoles porque, al tener carácter polar, son eliminados durante la refinación con el agua de lavado.

En las aceitunas, los polifenoles diferentes encontrados a los que contienen los aceites de oliva son: oleuropeina, verbascósido, luteolín-7-glicósido y rutina (Amiot, Fleuriet & Macheix, 1986). Los principales constituyentes de las aceitunas maduras son

hidroxitirosol, tirosol, ácido vanílico, ácido cafeico, ácido p-cumárico, verbascósido y oleuropeina (Brenes & al., 1992).

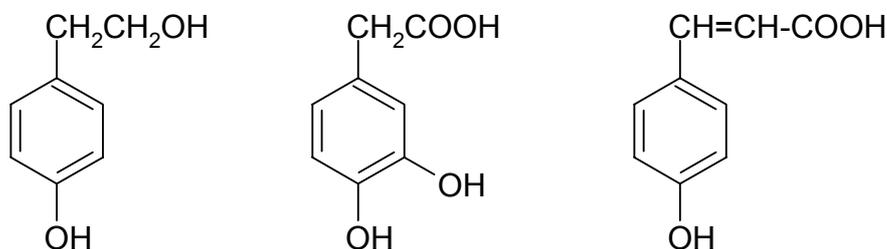


Figura I.48. Estructuras de los polifenoles tirosol, hidroxitirosol y p-cumárico.

El principal glicósido presente en el aceite de oliva es la oleuropeina, que es responsable del sabor amargo de las aceitunas inmaduras (Brenes, l. c.). Las variedades de frutos pequeños se caracterizan por su alto contenido en oleuropeina y bajo contenido en verbascósido. Mientras que ocurre lo contrario con las variedades con frutos grandes (Boskou, 1998). El tirosol y el hidroxitirosol provienen de la hidrólisis de la oleuropeina (Vázquez & al., 1976; Montedoro & Cantaralli, 1961).

Según Boskou (1998), hasta ahora no se ha propuesto ningún método estándar u oficial para la determinación de fenoles naturales del aceite de oliva, y, además, los valores encontrados por diversos investigadores apenas pueden ser comparados en lo que se refiere al contenido total de polifenoles y a los porcentajes de los componentes individualmente.

El contenido de fenoles en los aceites de oliva depende de diversos factores como son:

- 1) La maduración del fruto (que se recolecte más o menos verde).
- 2) El sistema de extracción de aceite empleado. Se ha visto que los aceites obtenidos por el sistema de centrifugación continua, contienen menos polifenoles que los aceites obtenidos por otros sistemas, como el clásico o por percolación.
- 3) Las variables que intervienen en el proceso de extracción en el molino.
 - * Diferencias en la maquinaria de molido.
 - ** Temperaturas aplicadas.

*** Tiempo de contacto del aceite con el agua durante el proceso de extracción.

*** Volumen total de agua utilizada.

Todos estos factores pueden variar la concentración de polifenoles. Así la cantidad de agua utilizada durante el proceso de extracción, afecta a la concentración de polifenoles. Cuando la cantidad de agua es grande, se separan más polifenoles del aceite. Esto ocurre porque el agua produce una solubilización de los tejidos, o mas particularmente por la separación de las sustancias coloidales (proteínas y polisacáridos), que ligan estos compuestos (Kiritsakis, 1992).

Con los decantadores ecológicos de dos fases, como estos sistemas no emplean agua caliente, no hay aguas de desecho, y el agua que contiene las aceitunas de forma natural, es la que aparece en los orujos. Por tanto, los aceites producidos por este sistema de dos fases, tienen concentraciones más altas en compuestos fenólicos, por lo que son más estables ante la autoxidación (Boskou, l. c.).

1.5.2.10. COMPUESTOS VOLÁTILES Y AROMÁTICOS.

Los compuestos volátiles presentes en el aceite de oliva han sido estudiados por diversos investigadores, entre ellos Gutiérrez Quijano, Rafael & al. (1981). Se han identificado más de cien componentes como hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, ésteres, fenoles, terpenos y derivados de furano. Los aldehídos son los componentes mayoritarios que otros componentes aromáticos del aceite de oliva. Estos componentes volátiles dan connotaciones aromáticas a los aceites como olor a picante, a áspero, afrutado, a plátano, manzana, aceituna, aromático, hierbas, heno (pajizo), florido, anaranjado, almendras, olivas cocidas, a pan, a alcohol amílico, etc. Estos productos volátiles y aromáticos influyen en los calificativos del flavor de los aceites, que es la mezcla entre el sabor y el olor de los aceites. Las connotaciones indeseables del flavor tienen calificativos como oxidado, rancio, mohoso, atrojado, olor a pescado, a fritura, sebo, etc.

Según el Reglamento de la CEE 2568/91, en su anexo XII (1991), para la valoración organoléptica de los aceites de oliva virgen se les califica a través de unos atributos que pueden ser positivos o negativos:

- *Atributos positivos:* frutado, amargo, picante.
- *Atributos negativos:* atrojado, moho-humedad, borras, avinado-avinagrado, metálico, rancio, cocido o quemado, heno-madera, basto, lubricante, alpechín, salmuera, esparto, tierra, gusano, pepino.

Montedoro & al., observaron que existen diferencias cuantitativas entre los componentes volátiles de distintas variedades de aceitunas. También indicaron que hay un pequeño cambio en los componentes volátiles totales para las mismas variedades cultivadas en regiones distintas. Sugirieron que la concentración de los distintos compuestos aromáticos del aceite aumenta con el grado de pigmentación durante la maduración de la aceituna.

I.5.2.11. METALES.

El contenido metálico de los aceites es debido a que éstos los contienen intrínsecamente como oligoelementos, o bien a que son aportados externamente por diversos factores. Normalmente las trazas metálicas de los aceites vienen aportadas por elementos externos. Pueden aportarse trazas por el terreno en dónde se encuentre el olivo, por tratamientos fitosanitarios que haya sufrido el olivo, o bien, por maquinaria, depósitos, recipientes o conducciones que estén en contacto con el aceite. Así, si un olivar está en un terreno rico en galena, es probable que el aceite que se obtenga contenga plomo en unos niveles más o menos altos. O bien, si a un olivar se le trata con sulfato de cobre para combatir la plaga de la mosca del olivo (*Bactrocera Oleae*), puede que el aceite que se extraiga contenga niveles de cobre. También puede aportar trazas metálicas al aceite el recipiente que esté en contacto con éste, dependiendo de la naturaleza del continente, es decir, si es de hierro, cobre, o si está pintado con minio (pintura con contenido en plomo). Hoy en día se solventa este problema al utilizarse depósitos de acero inoxidable.

Las trazas metálicas son agentes prooxidantes de los aceites. Los metales que se analizan en los aceites son el hierro, el cobre y el plomo. Según el Consejo Oleícola Internacional (COI), el contenido metálico de los aceites no excederá 3 mg/Kg de hierro, 0,1 mg/Kg de cobre y 0,1 mg/Kg de plomo. La determinación de estos metales, por el método oficial, se hace por absorción atómica con cámara de grafito. Sin

embargo, existen otros métodos alternativos como es el estudiado e investigado por Espejo Gutiérrez, Joaquín (2000), con la colaboración de su hijo Jesús (autor de la presente memoria). Este método se basa en la determinación por espectrofotometría de absorción molecular UV-VIS de los elementos trazas hierro, cobre y plomo. La determinación se basa en la formación de complejos coloreados de hierro con batofenantrolina, de cobre con neocuproina y de plomo con ditizona, regulando previamente las condiciones de pH y eliminando escrupulosamente los posibles interferentes. Anteriormente, se tiene que hacer una extracción en medio ácido de las trazas, en los casos del hierro y del plomo, mientras que el cobre se realiza por calcinación de la muestra. La ventaja de este método es que es menos costoso un espectrofotómetro UV-VIS de absorción molecular que uno de absorción atómica, además de los mantenimientos. La determinación de cada metal por espectrofotometría, lógicamente, se realiza a una determinada longitud de onda respectivamente.

I.6. ANÁLISIS DE LOS ACEITES: DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA.

I.6.1. DETERMINACIÓN DEL COLOR.

El color de los aceites va a depender de su contenido en pigmentos (clorofilas y carotenoides). El color va a depender del grado de maduración que tienen los frutos en el momento de la extracción de los aceites.

La determinación del color de los aceites se suele realizar mediante el colorímetro de Lovibond. Consiste esta medición en la comparación de los aceites frente a unos filtros coloreados que conforman la escala Lovibond. También se mide el color por espectrofotometría UV-VIS a una determinada longitud de onda.

I.6.2. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ.

La acidez (Reglamento CEE 2568/91 y posteriores modificaciones; García-Donas, 2001) determina los ácidos grasos libres en los aceites de oliva y se expresa en tanto por ciento de ácido oleico. El contenido de ácidos grasos libres va a depender del

grado de hidrólisis de los triglicéridos de los aceites. La acidez es una de las características químicas que mejor pueden definir la calidad de un aceite. Así el grado de acidez libre va a depender del estado de los frutos, de su tratamiento o de su conservación. La presencia de ácidos grasos libres es una anomalía y estos se liberan por la ruptura de las moléculas de triglicéridos a través de sus enlaces de éster. Esta hidrólisis (Cimato, 1990) puede estar provocada por diferentes causas como pueden ser:

- a) la actividad microbiológica (*Aspergillus*, *Penicillium*, etc.)
- b) debido a plaga y enfermedades (picadura del fruto por la mosca del olivo (*Bactrocera Oleae*)).
- c) retraso de la época de recolección de la aceituna
- d) retraso de la molturación del fruto, pudiendo darse el fenómeno de atrojamiento, etc.
- e) anomalías en el proceso de elaboración, etc.

La acidez se determina por valoración de los ácidos grasos libres con una solución de hidróxido sódico, previa disolución del aceite con una mezcla de disolventes (hexano/éter).

1.6.3. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PERÓXIDOS.

Entre los diversos métodos para determinar el grado de deterioro oxidativo de los aceites comestibles se encuentra el índice de peróxidos (Aparicio & Harwood, 2003).

El índice de peróxidos es la cantidad de peróxidos presentes en la muestra y se expresa en miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de grasa.

El índice de peróxidos es un parámetro de calidad de los aceites. Éste índice evalúa el estado de oxidación inicial de un aceite. En la oxidación de los aceites los hidroperóxidos pasan a otras sustancias y éste índice también indica el deterioro que pueden haber sufrido ciertos componentes como los tocoferoles (vitamina E) y los polifenoles (Burón & García, 1979). Los peróxidos son el producto de oxidación existente en una muestra en un momento determinado y son los primeros productos de la oxidación de las grasas. Éste índice mide el grado de oxidación primaria de un aceite,

es decir el contenido de hidroperóxidos, y nos indica el estado de conservación del mismo. El índice de peróxidos detecta la oxidación de un aceite antes de que sea perceptible organolépticamente, a pesar de su gran variabilidad y poca representatividad respecto al estado global de oxidación de un aceite (Burón & García, l. c.). Por eso, es fundamental la buena conservación de las muestras preservándolas de la luz y el calor. La luz y la temperatura, junto con el contenido de trazas metálicas son factores que afectan a la buena conservación de los aceites. Es por tanto, el índice de peróxidos junto al ensayo espectrofotométrico en el ultravioleta (K232 y K270), parámetros de calidad que indican el estado de oxidación de un aceite, es decir, desde el principio de la oxidación hasta el enranciamiento de éste. La determinación de hidroperóxidos (productos iniciales de la oxidación) se puede llevar a cabo mediante el método de la IUPAC (1987) u otros métodos oficiales.

I.6.4. DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA EN EL ULTRAVIOLETA.

La prueba espectrofotométrica en el ultravioleta puede proporcionar indicaciones sobre la calidad de un aceite, su estado de conservación y las modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos (como el proceso de refinación). Es, por tanto, esta prueba de las más seguras para conocer el estado de oxidación y conservación de un aceite y permite conocer posibles adulteraciones con aceites refinados o de orujo. La absorción a determinadas longitudes de onda indicadas en el método es debida a la presencia de dienos y trienos conjugados (García-Donas, 2001; Aparicio & Harwood, l. c.). Los valores de estas absorciones se expresan en extinción específica $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ es la extinción de una solución de la matriz grasa al 1% en ciclohexano en cubetas de cuarzo de espesor de 1cm. La extinción específica $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ se expresa convencionalmente como K, también denominado coeficiente de extinción. Estos coeficientes de extinción (K) se miden a diversas longitudes de onda en la zona del ultravioleta, obteniéndose el K_{232} , el K_{266} , el K_{270} y el K_{274} .

I.6.5. DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD.

Se define como la medición del periodo de tiempo de vida útil o comercial de un aceite de manera que el aceite conserve todas sus propiedades sin deteriorarse con el

paso del tiempo (García-Donas, l. c.). Las propiedades de conservación de un aceite dependen también de cuestiones exógenas al propio producto, como pueda ser el tipo de envase, sea traslúcido u opaco (vidrio, pet, pvc, lata, tetrabrik) y también por la temperatura de almacenamiento.

Se han puesto a punto numerosas pruebas basadas en la oxidación acelerada para evaluar la resistencia de los aceites a la oxidación (Aparicio & Harwood, l. c.). Algunos autores señalan algunos inconvenientes a estas pruebas de estabilidad oxidativa. Así según E. N. Frankel (1993) dice que las pruebas de estabilidad oxidativa en las que las temperaturas estén por encima de los 85° C no son fiables debido a los diversos mecanismos implicados. K. Warner, E. N. Frankel, y T. L. Mounts (1989) estudiaron que los resultados del Rancimat y el método del oxígeno activo no coinciden con la prueba de estabilidad realizada a 60° C.

Las pruebas de estabilidad mas usadas son:

- a) Método del oxígeno activo.
- b) Prueba de absorción del oxígeno.
- c) Pruebas de conductividad.
- d) Pruebas de almacenamiento acelerado.
- f) Pruebas de almacenamiento a temperatura ambiente.

En el presente trabajo se vieron dos de estas técnicas:

❖ *Método del oxígeno activo (AOM).*

En éste método, también llamado prueba de Swift, el aire borbotea a través del aceite que se mantiene a 98° C. El periodo de inducción se determina gráficamente, dibujando el IP frente al tiempo.

❖ *Pruebas de conductividad.*

Estas pruebas se basan en la descomposición de los hidroperóxidos y en la formación de ácidos grasos de cadena corta que cambian la conductividad del agua. Los ácidos grasos de cadena corta que se forman, cuando el aceite se calienta a 100° C, son los ácidos fórmico y acético principalmente. Se han desarrollado instrumentos

automatizados como el Rancimat y el Osi (Rossell, 1987), que están basados en el principio de la conductividad.

I.6.6. DETERMINACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS.

El conocimiento de la composición de los ácidos grasos del aceite de oliva es de vital importancia tanto en la descripción como en la detección de posibles adulteraciones del aceite de oliva (Aparicio & Harwood, l. c.). En cierta medida, los ácidos grasos son el carné de identidad de los distintos aceites. La composición de los ácidos grasos de los aceites de oliva no solo depende de la variedad del fruto, sino también de la zona geográfica así como de la situación medioambiental de la campaña.

El aceite de oliva está básicamente compuesto de ácidos grasos monoinsaturados. Atendiendo al tipo de insaturación los porcentajes serían del 72% para ácidos grasos monoinsaturados, 14% para los ácidos grasos poliinsaturados y el 14% restante para los ácidos grasos saturados (Aparicio & Harwood, l. c.). En cuanto a los ácidos grasos insaturados presentan de forma natural la isomería *cis*, pudiendo adoptar la forma *trans* como resultado de ciertas manipulaciones a las que se somete el aceite (León-Camacho, 1997). La norma comercial del Consejo Oleícola Internacional (COI) para los aceites de oliva y de orujo de oliva (COI/T. 15, N° 2), y la norma alimentaria del *Codex Alimentarius* han fijado los porcentajes máximos y mínimos de cada ácido graso del aceite de oliva en: Mirístico (C14:0) ≤ 0.2 %, Palmítico (C16:0) de 7.5 a 20 %, Palmitoleico (C16:1) de 0.3 a 3.5 %, Margárico (C17:0) ≤ 0.3 %, Margaroleico (17:1) ≤ 0.3 %, Esteárico (C18:0) de 0.5 a 5.0 %, Oleico (C18:1) de 55.0 a 83.0 %, Linoleico (C18:2) de 3.5 a 21 %, Linolénico (C18:3) ≤ 0.9 %, Aráquico (C20:0) ≤ 0.6 %, Gadoleico (C20:1) ≤ 0.4 %, Behénico (C22:0) ≤ 0.2 %, Lignocérico (C24:0) ≤ 0.2 %.

Para estudiar los distintos ácidos grasos que constituyen los aceites, se ha empleado la técnica de cromatografía de gases, analizando estos compuestos como ésteres volátiles, normalmente metílicos. Por tanto, se derivatiza la muestra transformando los ácidos grasos en ésteres metílicos, que son compuestos más volátiles y apolares que los ácidos grasos (Primo, 1997). La composición de los ácidos grasos puede determinarse por saponificación de la grasa, acidificación de los jabones,

transformación de los ácidos grasos en ésteres metílicos y cromatografía de gases siguiendo la reacción siguiente:

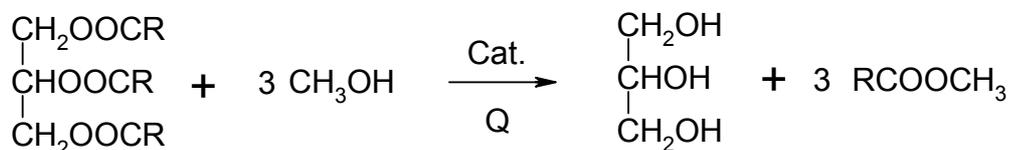


Figura I.49. Reacción de formación de ésteres metílicos de los ácidos grasos.

La reacción de interesterificación posee una cinética lenta, la presencia de agua disminuye el rendimiento y la velocidad de reacción (Ulberth & Henninger, 1992). Para que la reacción se de convenientemente es necesario acelerarla mediante catálisis y/o elevación de la temperatura. Los procedimientos más usuales para la preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos se llevan a cabo en medio metanólico con catálisis alcalina, con catálisis ácida o con catálisis alcalina y ácida.

I.6.7. DETERMINACIÓN DE LOS TRIGLICÉRIDOS.

Una medida de la calidad y pureza de una grasa es la determinación del contenido de ácidos grasos totales, así como la determinación de aquellos que esterifican las diferentes posiciones de la glicerina (Boskou & Morton, 1975). Para realizar el estudio de los distintos ácidos grasos que forman los triglicéridos existen tres pruebas: 1) hidrólisis química para determinar el porcentaje de cada ácido graso, referido al total de los ácidos grasos; 2) hidrólisis enzimática con utilización de lipasa pancreática para conocer el porcentaje de ácidos grasos en posición 2 (β) de la glicerina; 3) hidrólisis enzimática con el uso de fosfolipasa que permite conocer los ácidos grasos en las posiciones 1 (α) y 3 (γ) del triacilglicerol. Los ácidos grasos aislados se determinan por cromatografía de gases.

Los triglicéridos se suelen nombrar con las iniciales de los ácidos grasos, de manera que por ejemplo PPP es la tripalmitina, LLL es la trilinoleína, PLO es el palmitil, linoleil, oleilglicérido, OLLn es el oleil, linoleil, linolenilglicérido, etc. La distribución de los distintos ácidos grasos entre los carbonos 1, 2 y 3 de las moléculas de glicerina puede dar lugar a un gran número de glicéridos distintos (Primo, l. c.).

Teóricamente, basándonos en la composición de ácidos grasos, se pueden presentar más de 70 triglicéridos en el aceite de oliva. Sin embargo, el número de triglicéridos que realmente se encuentran en los aceites de oliva, son mucho menos, ya que algunos no aparecen nunca y otros lo hacen en cantidades despreciables (Boskou, 1998). Según los autores E. Tiscornia, N. Fiorina y F. Evangelistis (1982), los triglicéridos totalmente saturados como PPP (tripalmitina), EEE (triestearina), PEP (palmitil,estearil, palmitilglicérido), EPE (estearil, palmitil, estearilglicérido), etc, nunca se encuentran en el aceite de oliva. Lo mismo ocurre con los triglicéridos triinsaturados que contiene ácido linolénico (PPLn, EELn, PELn, etc). Las tres posiciones del triglicérido no están ocupadas al azar en las grasas naturales. Las posiciones 1 y 3 están esterificadas, preferentemente, con ácidos palmítico y esteárico y con los de más de 18 átomos de carbono. La posición 2 está esterificada, preferentemente, por ácidos grasos de 18 carbonos no saturados. El ácido esteárico está ausente en los triglicéridos con 4 dobles enlaces, y los ácidos palmítico y esteárico no se presentan en triglicéridos con 5 y 6 dobles enlaces. Así el ácido esteárico nunca se encuentra en la posición 2 de un triglicérido tetrainsaturado, por lo tanto, LnEO, LnOE, LEL, LLE, PLnL, LnPL, LnLP, ELnL, LnLE, PLnLn, LnPLn, ELnLn, LnELn, OEL, LPL, LnPO y LEL, no se encuentran en el aceite de oliva.

Según E. Fedeli (1977), los triglicéridos más importantes del aceite de oliva son OOO, POO, OOL, POL y EOO. Según el Reglamento CEE 656/95 (1995); Catalo (1968) y Casari (1978) éstos triglicéridos oscilan en las cantidades siguientes: OOO (40-59 %), POO (12-20 %), OOL (12.5-20 %), POL (5.5-7 %) y EOO (3-7 %).

Se acepta generalmente que, en la biosíntesis de los triglicéridos en el aceite de oliva, se sigue la distribución 1,3 (Tiscornia, Fiorina & Evangelistis, l. c.; Catalo, l. c.; Reglamento CEE 183/93, 1993), aunque se han observado algunas desviaciones a esta regla (Cortesi & al., 1990). Los principales ácidos grasos insaturados, el oleico y el linoleico, están esterificados sobre todo en la posición 2. Esta tendencia es más fuerte con el ácido linoleico (Tiscornia, Fiorina & Evangelistis, l.c.). Numerosas investigaciones han demostrado también que los monoacilgliceroles que corresponden a la posición 2, obtenidos por hidrólisis con la enzima lipasa pancreática, tienen un contenido en ácido graso saturado que no excede del 2 % en todos los tipos de aceite de oliva.

I.6.8. DETERMINACIÓN DE LOS ESTEROLES.

Los esteroides son importantes constituyentes no glicéridicos. Están relacionados con la calidad del aceite de oliva, y se utilizan para comprobar su autenticidad, es decir, para ver su pureza.

El análisis de esteroides es muy interesante desde el punto de vista de la caracterización de un aceite, ya que algunos son típicos de ciertos aceites y otros entran a formar parte de ellos en proporciones fijas (Aparicio & Harwood, 2003). Por ser la composición de esteroides muy característica de cada tipo de aceite o grasa, en el caso del aceite de oliva es muy utilizada y de forma fiable para detectar mezclas fraudulentas con otros aceites y grasas.

Los esteroides en el aceite de oliva pueden estar presentes en su forma libre o esterificada con ácidos grasos (Boskou, l. c.). Aproximadamente, entre el 10 y el 15 % de los esteroides totales están presentes como esterilésteres y en su mayoría entre el 85 y el 90 % como esteroides libres (Boskou & Vlachopoulou, 1986; Grob & al., 1990). Las composiciones de las fracciones libres y esterificadas de los esteroides difieren, tal y como muestran Mariani y sus investigadores (1992). Los esteroides Δ -5 diinsaturados (brassicasterol, estigmasterol y Δ -5-avenasterol), están presentes en concentraciones relativamente altas en la forma libre más que en la esterificada. Mientras que ocurre lo contrario en el caso de los esteroides Δ -7 diinsaturados (Δ -7-avenasterol). Jacini y otros investigadores (1967), han detectado ésteres de esteroides tales como el β -sitosterol, campesterol, estigmasterol, y alcoholes triterpénicos tales como el cicloartenol o el 2, 4, metilen-cicloartenol.

Los valores normales para el contenido total de esteroides son 100-220 mg/100 g (Boskou & Morton, 1975; Calapaj & al., 1993; Paganuzzi, 1985; Boskou & Vlachopoulou, l. c.; Morchio & al., 1987 y Grob & al., l. c.). En los aceites de olivas extraídos, esos valores son hasta tres veces más altos (Morchio & al., l. c.). Se relaciona el contenido total de esteroides con la acidez libre. Los aceites con un alto porcentaje de ácidos grasos libres, también tienen un alto contenido de esteroides totales (Morchio & al., l. c.). Sin embargo, Tiscornia y Bertini (1972), han visto que el contenido en esterol no está relacionado con la acidez del aceite.

Lotti y otros (1982), estudiaron la composición en esteroides de dos variedades italianas cultivadas en siete localidades, y encontraron que la composición en esteroides se veía muy poco afectada por las condiciones climáticas.

La composición en esteroides se ve afectada por el periodo de almacenamiento de las aceitunas y por su tratamiento. Fedeli (1993) indica que el estigmasterol alcanza niveles mayores en las aceitunas que se dejan en el suelo, en el campo. Así Leone y otros (1976), mostraron que durante el almacenamiento, aumenta el índice de peróxidos y disminuyen los esteroides en el aceite de oliva. Camera y sus colaboradores (1978), han encontrado que el contenido de esteroles total y la concentración de algunos componentes, varía notablemente en las diversas etapas del almacenamiento del aceite de oliva. Cuando el almacenamiento es largo, se puede producir un aumento significativo del contenido total de esteroides, un aumento del porcentaje de estigmasterol, y una disminución en el Δ -5.avenasterol. Por otra parte, durante el procesado de las aceitunas se producen unas pérdidas significativas de esteroides. En el proceso de refinación de los aceites, la neutralización puede provocar unas pérdidas del 15 %, y las pérdidas totales que se pueden producir durante la neutralización, decoloración y desodorización, pueden llegar a ser del 25 % (Morchio & al., l. c.). Las pérdidas son más pronunciadas en la fracción de esteroides libres. Por lo tanto, la relación entre esteroides libres y esterificados cambia de forma significativa cuando se refina el aceite.

I.6.9. DETERMINACIÓN DEL ERITRODIOL MÁS EL UVAOL.

Algunos autores opinan que las cantidades totales de eritrodiol más uvaol oscilan de 1 a 20 mg/100g de aceite, pudiendo llegar hasta 250 mg/100 g de aceite (Paganuzzi, 1979 y Mariani, Fedeli & Morchio, 1987). Según Cucurachi y colaboradores (1975), el valor medio del eritrodiol en el aceite de oliva es del 7.2 %. La cantidad de eritrodiol es mucho más elevada en los aceites de oliva obtenidos mediante extracción (aceite de orujo) que en los obtenidos mediante presión (aceite de oliva virgen). Por tanto, su determinación puede servir para comprobar la existencia de aceite de oliva obtenido por extracción. Existen, sin embargo, aceites genuinos de oliva virgen con contenidos de eritrodiol más elevados de lo indicado en el Reglamento de la CEE 2568/91 (1991) que establece que el valor máximo en éstos es de 4.5 %. Son aceites en los que se dan en una determinada región geográfica que por la climatología o por la variedad de la

aceituna, dan un contenido más elevado de eritrodol más uvaol. Es el caso de los aceites de la zona de Huelva y zonas colindantes con Sevilla, en dónde se da mucho el olivar con la variedad verdial de Huévar.

I.6.10. DETERMINACIÓN DE LOS ALCOHOLES ALIFÁTICOS.

Los alcoholes grasos pueden ser lineales o triterpénicos. Los alcoholes grasos son unos constituyentes menores pero importantes en el aceite de oliva, ya que pueden ser utilizados para diferenciar los aceites (Reglamento CEE 2568/91, 1991). Los principales alcoholes lineales (alifáticos) presentes en el aceite de oliva son de cadena par de átomos de carbono (dicosanol, tetracosanol, hexacosanol y octacosanol), mientras que los alcoholes de número impar de carbono (monocosanol, tricosanol, pentacosanol, heptacosanol) se encuentran en trazas (Tiscornia, Fiorina & Evangelistis, 1982; Paganuzzi, 1979; Boskou, Stephanou & Konstantinidis, 1983 y Frega & al., 1992). Algunos aceites de semilla pueden tener presentes alcoholes alifáticos de número impar en mayor cantidad, por lo que este criterio puede usarse para el reconocimiento de mezclas de estos aceites con aceite de oliva (Osborn & Vilhan, 1986; Paganuzzi, 1980 y Tiscornia & al., 1985). El aceite de oliva extraído con disolventes (aceite de orujo) contiene más alcoholes alifáticos que el aceite de oliva virgen. Según el número de átomos de carbono, los alcoholes alifáticos son los siguientes: monocosanol (C-21), dicosanol (C-22), tricosanol (C-23), tetracosanol (C-24), pentacosanol (C-25), hexacosanol (C-26), heptacosanol (C-27) y octacosanol (C-28).

La determinación de los alcoholes alifáticos se realiza por cromatografía de gases con detector de ionización de llamas (FID), previa silanización de los mismos (método CEE 2568/91).

El contenido total de alcohol alifático no pasa normalmente de 35 mg/100g de aceite. El nivel de alcoholes grasos, en el aceite de oliva, es diez veces mayor o incluso más (Paganuzzi, 1979; Boskou, Stephanou & Konstantinidis, l. c. y Frega & al., l. c.). Según Tacchino y Borgoni (1983), determinaron los alcoholes alifáticos de cadena recta saturada, con número par de carbonos, de C-18 a C-28, en aceites de oliva extraídos por presión y por disolventes. No encontraron diferencias cualitativas, pero sí considerables diferencias cuantitativas. Según estos autores, el contenido total en alcoholes fue de 10-

70 mg/100g en el aceite de presión, y 224-434 mg/100 g en el de extracción por disolventes.

Unas condiciones climáticas secas y altas temperaturas, pueden provocar un contenido alto de alcoholes en el aceite de oliva (Boskou, 1998).

I.6.11. DETERMINACIÓN DE LAS CERAS.

Como ya se dijo con anterioridad, las ceras son ésteres de alcoholes grasos con ácidos grasos. Las principales ceras que se encuentran en el aceite de oliva son los ésteres C36, C38, C40, C42, C44 y C46. El contenido en ceras del aceite de oliva es muy bajo, no pasando de 35 mg/100 g (Mariani & al., 1992). Los aceites de oliva procedentes de extracción tienen un contenido muy alto de ceras, con lo cual se puede utilizar como parámetro de pureza distinguiéndose entre los aceites obtenidos por presión de los obtenidos por extracción. Así, según el Reglamento 2568/91 de la CEE (1991), los aceites de oliva vírgenes tienen un valor máximo de ceras de 250 mg/Kg, los aceites de oliva (mezcla de virgen y refinado) y oliva refinado un valor máximo de 350 mg/Kg y los aceites de orujo de oliva un valor superior a 350 mg/Kg.

El perfil del cromatograma de ceras permite distinguir los aceites de oliva virgen, de los de oliva refinado y orujo de oliva debido a que los aceites vírgenes presentan mayor contenido de ceras C36 y C38, que de C40, C42, C44 y C46. Ésta relación es inversa en los aceites refinados de oliva y orujo de oliva (Aparicio y Harwood, 2003). El perfil de un cromatograma de ceras es el siguiente (considerando sólo las ceras de número par de átomos de carbono):

Patrón (laurilaraquidato), C34, C36, C38, C40, C42, C44 y C46

I.6.12. DETERMINACIÓN DE LOS TOCOFEROLES.

Para la determinación del contenido de tocoferoles, se siguen diversos métodos. Existe un método colorimétrico (Emmerie y Engels) que consiste en hacer una reacción coloreada entre el ión ferroso y el α,α -bipiridilo. La determinación se realiza por espectrofotometría UV-VIS a una longitud de onda de 520 nm utilizando una recta de

calibrado de α -tocoferol o hidroquinona. Sin embargo, este método al parecer tiene dificultades cuando la matriz es de naturaleza oleosa.

Existen otros métodos como la determinación de tocoferoles por cromatografía en papel, cromatografía de gases o bien por cromatografía líquida de alta resolución. La cromatografía en papel es un método que no está muy extendido. En cuanto a la cromatografía de gases es un método adoptado por la IUPAC (IUPAC, método 2411, 1987c) y que consiste en una extracción del insaponificable, con la adición de un patrón interno, que posteriormente se somete a una cromatografía en capa fina (TLC). Los tocoferoles obtenidos en la placa, se silanizan y se inyectan en el cromatógrafo de gases.

Nos centraremos en el método para la cuantificación de los tocoferoles en aceites por cromatografía de alta resolución (HPLC) y que es el método estándar adoptado por la IUPAC (IUPAC, método 2432, 1987d). Este método consiste en medir directamente los tocoferoles por inyección directa, tras disolución previa del aceite en n-hexano, en un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) con detector de fluorescencia. Anteriormente se preparan estándares a partir de patrones de cada uno de los tocoferoles y se fabrica una recta de calibrado respectivamente.

Los aceites vegetales son ricos en vitamina E, encontrándose en cantidades diversas. Los tocoferoles confieren estabilidad a la grasa o aceite que los posee, ya que son formidables agentes antioxidantes, siendo su contenido mayor en los aceites vírgenes. Según Karleskind y Wolff (1996), en el aceite de oliva el contenido de tocoferoles totales varía de 50 a 150 mg/Kg siendo el mayoritario el α -tocoferol oscilando entre un 52 % y un 87 %, y en menor cuantía el β -tocoferol (entre un 10 y un 20 %) y el γ -tocoferol (entre un 7 y un 23 %). Según Fedeli (1977), en el aceite de oliva, la concentración de α -tocoferol es de un 88.5 %, la de β y γ -tocoferol de un 9.9 % y la de δ -tocoferol de un 1.6 %. Los trabajos (Speek & al., 1985; Andrikopoulos & al., 1989 y Fedeli & Conesi, 1993) indican que de las distintas formas de vitamina E presentes en el aceite de oliva, el mayoritario es el α -tocoferol en un 95 % del total de tocoferoles, mientras que el 5 % restante corresponde al β más el γ -tocoferol. Según otros autores, en el aceite de oliva el contenido de α -tocoferol es del orden de 12 a 150 mg/Kg (Colakoglu, 1996; Vitagliano, 1961; Gracián & Arévalo, 1965 y Boatella, 1975). Según

Aparicio y McIntyre (1998), en el aceite de oliva el contenido de α -tocoferol oscila de 150 a 200 ppm. Los investigadores no se ponen de acuerdo sobre la presencia de tocoferoles β , γ y δ -tocoferol. Así, Gracián y Arévalo (1965), indicaron que la fluctuación en el contenido de tocoferoles en el aceite de oliva es debida a su destrucción gradual durante la elaboración y el almacenamiento.

Según las variedades de aceitunas, el contenido de tocoferoles varía mucho, entre 5 y 300 mg/Kg (Perrin, 1992). En los aceites de oliva de buena calidad el contenido de tocoferoles suele estar entre 100 y 300 mg/Kg (Speek & al., l.c.; Andrikopoulos & al., l.c. y Fedeli & Conesi, l.c.). En aceites comerciales de baja acidez se han encontrado valores bajos de tocoferoles de 5 ppm (Fedeli, 1977).

Cuando las aceitunas se recogen en el primer periodo de campaña, la concentración de tocoferol es mayor (Fedeli & Conesi, l.c. y Agramunt & al., 1986). Mientras que si se recogen las aceitunas hacia el final, se reduce el contenido de tocoferoles. La biosíntesis de los tocoferoles continúa después de la recogida. El aceite obtenido de aceitunas molidas inmediatamente después de la recogida, puede tener un contenido mucho menor de tocoferoles que el aceite procedente de las mismas aceitunas que se dejan almacenadas durante 10-15 días antes de la molienda. Por otra parte, Gutfinger y Letan (1974), encontraron que los lípidos extraídos de la semilla contenida en el hueso de la aceituna, tenían más tocoferoles que los lípidos procedentes de las partes pulposas (290 mg/Kg contra 186 mg/Kg). En la pulpa, el contenido de γ -tocoferol era mayor (25 % frente a un 7 %).

También se han visto pérdidas de hasta un 50 % de tocoferoles durante la refinación del aceite de oliva. Por tanto, los aceites de oliva que han sido refinados (decolorados y desodorizados) su contenido de tocoferoles queda bastante disminuido. Sobre todo en el proceso de desodorización hay más pérdidas de tocoferoles (Hernández & Riera, 1987).

CAPÍTULO II.-

PARTE EXPERIMENTAL.

II.1. MATERIAL, REACTIVOS Y DISOLUCIONES EMPLEADOS.

A.- MATERIAL.

En el presente trabajo se ha utilizado diverso material fungible de vidrio como se indica en la siguiente relación:

- Matraces esféricos de 250 ml de capacidad provistos de tapón.
- Matraces erlenmeyer de boca ancha de 250 ml de capacidad.
- Matraces en forma de corazón de 250 ml.
- Matraces aforados de 10, 25, 50 y 100 ml de capacidad.
- Tapones de vidrio de diversos tamaños.
- Vasos de precipitados de diversa capacidad (100, 250, 600 ml).
- Embudos de filtración de diversos tamaños.
- Embudos de decantación de 500 ml de volumen.
- Pipetas graduadas de 1, 2, 5 y 10 ml.
- Pipetas aforadas de un sólo enrasedo de 5, 10 ml.
- Probetas de diferentes volúmenes (10, 25, 50 y 100 ml).

- Buretas de precisión de 25 y 50 ml de volumen.
- Columnas provistas de plato poroso para cromatografía en columna.
- Varillas de reflujo para matraces de 250 ml.
- Extractores Soxhlet.
- Refrigerantes para los extractores Soxhlet.
- Viales para cromatografía de volúmenes de 2 y 10 ml, con tapón con septum.
- Pipetas cortas Pasteur de vidrio.
- Agitadores de vidrio, etc.

Además se ha empleado papeles de filtro de tipo cuantitativo como cualitativo de diversos tamaños de diámetro (de 9, de 12,5 ó 13, de 15 cm.) así como puntas de plástico para pipetas automáticas y diverso material de laboratorio (como succionadores o émbolos para pipetas, agitadores magnéticos, etc.).

B.- REACTIVOS.

Los reactivos y disolventes que se emplearon en el presente trabajo fueron de calidad para análisis y calidad para cromatografía líquida (HPLC) dependiendo del uso. También se usaron reactivos certificados para la fabricación de patrones. La relación de los reactivos empleados es la siguiente:

- Éter dietílico (Prolabo).
- Alcohol etílico.
- Alcohol metílico (Merck).
- Ciclohexano (Merck).
- Cloroformo (Merck).
- Hexano, mezcla de alcanos (Prolabo).
- n-Hexano (Merck).
- Heptano, mezcla de alcanos (Prolabo).
- Acetona (Merck).
- Acetonitrilo (Merck).
- Agua desionizada (por intercambiador de resinas).
- Agua bidestilada (Carlo Erba).
- Ácido acético glacial (Panreac).
- Piridina (Merck).

- Hexametildisilazano (Merck).
- Triclorometilsilano (Merck).
- Ioduro potásico (Panreac).
- Hidróxido sódico (Merck).
- Hidróxido potásico (Merck).
- Sulfato sódico anhidro (Prolabo).
- Tiosulfato sódico (Merck).
- Indicador fenolftaleína (Panreac).
- Indicador almidón de patata (Panreac).
- Colorante Sudán I (Janssen-Chimica).
- Laurilaraquidato (Sigma).
- α -Colesterol (Fluka).
- Eicosanol (Fluka).
- α , β , γ y δ - Tocoferol del 95 % de pureza (Calbiochem).

C.- DISOLUCIONES.

Las disoluciones que se emplearon fueron las que a continuación se indican:

- Solución acuosa de hidróxido sódico 0.1 N.
- Solución acuosa de tiosulfato sódico 0.1 N .
- Solución acuosa de tiosulfato sódico 0.002N
- Solución alcohólica etanólica de hidróxido potásico 2 N.
- Solución alcohólica metanólica de hidróxido potásico 0.2 N.
- Solución alcohólica indicadora de fenolftaleína al 1 %.
- Solución acuosa indicadora de almidón al 1 %.
- Solución colorante de Sudán I en hexano al 0.1 %.
- Reactivo de silanización formado por una mezcla de piridina, hexametildisilazano y triclorometilsilano en la proporción 9:3:1 (v/v/v).
- Solución patrón de laurilaraquidato al 0.01 % en hexano.
- Solución patrón de α -colesterol al 0.2 % en alcohol etílico.
- Solución patrón de eicosanol al 0.2 % en alcohol etílico.
- Soluciones patrón de α , β , γ y δ tocoferol al 0.01 % en n-hexano.

II.2. APARATOS.

Las pesadas se realizaron en dos balanzas de precisión con apreciación de cuatro decimales, una Mettler “AT-200” (de peso máximo 200 g.) y una Sartorius “BP-221-S” (de peso máximo 220 g.). También se empleó un granatario Cobos “D-600” con apreciación de un decimal. Para el secado de las muestras se utilizó una estufa Selecta regulada a 105° C.

Para las distintas destilaciones que se realizaron se emplearon dos rotavapores, un Buchi “461” y un Heidolph “Laborota 4001”.

Otros aparatos empleados fueron una centrífuga Selecta “Mixtasel” y otra Eppendorf “Centrifuge 5702”, dos baterías de cuatro placas calefactoras cada una marca Selecta para los extractores Soxhlet, una plancha calefactora marca Selecta “Combiplac” para cocción de matraces provistos de varillas de reflujo, un ultrasonido Selecta “Ultrasons” para desgasificar los disolventes empleados como fase móvil en la cromatografía líquida (HPLC), etc.

Para la obtención de las muestras de aceite de las distintas muestras de acebuchinas se empleó un molino a escala de laboratorio marca Abencor constituido por un triturador, por una termobatidora y por una centrifugadora.

La determinación del color según la escala Lovibond de los distintos aceites de acebuchina y de oliva se efectuaron mediante un tintómetro o colorímetro Lovibond modelo “F”.

Para la medición de la estabilidad de los aceites se empleó el aparato Rancimat “743” de Metrohm.

También se empleó un espectrofotómetro Ultravioleta-Visible de doble haz marca Shimadzu “UV-160 A” para las distintas mediciones espectrofotométricas.

Para las determinaciones cromatográficas de los distintos aceites se emplearon los siguientes cromatógrafos de gases y de líquidos:

a) Determinación cromatográfica de ácidos grasos.

Para la determinación de ácidos grasos e isómeros trans se empleó un gascromatógrafo con doble canal Hewlett-Packard 5680 serie II con dos inyectores split-splitless y dos detectores de ionización de llama (FID). Las columnas que se emplearon son capilares de la marca Supelco “SP2380”

b) Determinación cromatográfica de esteroides, de eritrodioleol más uvaol y de alcoholes alifáticos.

Para la determinación de los esteroides, del eritrodioleol más uvaol, y de los alcoholes alifáticos se empleó un cromatógrafo de doble canal Hewlett-Packard modelo 6890 con control automático de presiones y con doble inyección automática con capacidad para ocho viales cada uno Agilent Technologies “7683”. Los dos inyectores son split-splitless, los dos detectores son de tipo FID (de ionización de llama). Las columnas que se emplearon son capilares de la marca Zebron “ZB-5”.

c) Determinación cromatográfica de ceras.

Para la cuantificación de las ceras se utilizó un cromatógrafo de gases de doble canal marca Hewlett-Packard modelo 6890 con control automático de presiones y con doble inyección automática con bandeja con capacidad de ocho viales cada uno Agilent Technologies “7683”. Los dos inyectores son tipo “on column” (la muestra entra en su totalidad dentro de la columna). En cuanto a los detectores son de ionización de llama (FID). Las columnas que se emplearon fueron capilares de la marca Zebron “ZB 5”.

El control de los tres cromatógrafos de gases como en la adquisición de datos de los mismos, está regido por un ordenador personal Pentium 4. El software empleado es el “CHEMSTATION” de Agilent Technologies.

d) Determinación cromatográfica de los triglicéridos por HPLC.

La determinación de los triglicéridos se realiza por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Para esto se empleó un cromatógrafo líquido de la marca Hewlett-Packard modelo “1050”. Éste cromatógrafo consta de un inyector automático con una bandeja con capacidad para veintiún viales y de una bomba cuaternaria. El detector es de índice de refracción modelo “HP1047-A. La columna empleada es de Merck “Licrospher 100 RP-18”.

También se utilizó este cromatógrafo como separador de fracciones. En concreto se empleó en la recolección de las fracciones de los esteroides junto al eritrodol y de los alcoholes alifáticos. Para ello la columna que se empleó fue de Merck, modelo “Licrospher Si 60”.

En cuanto al control del cromatógrafo y a la adquisición de datos está regulado por un ordenador personal Pentium. El software empleado es el “CHEMSTATION” de Hewlett-Packard.

e) Determinación cromatográfica de los tocoferoles por HPLC.

En la determinación de los tocoferoles (vitamina E) se empleó un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) Merck- Hitachi modelo “Lachrom” Este consta de los módulos siguientes: de un inyector automático modelo “L-7200” con una bandeja para 100 viales, de una bomba cuaternaria modelo “L-7100” y de un detector de fluorescencia modelo “L-7485”. La columna que se utilizó es de Merck “Licrospher Si-60”.

El ordenador personal empleado en el control y en la adquisición de datos fue un Pentium 4. El software empleado fue el “D-7000 HSM HPLC SYSTEM MANAGER” de Merck-Hitachi.

II.3. TOMA Y TRATAMIENTO DE MUESTRAS.

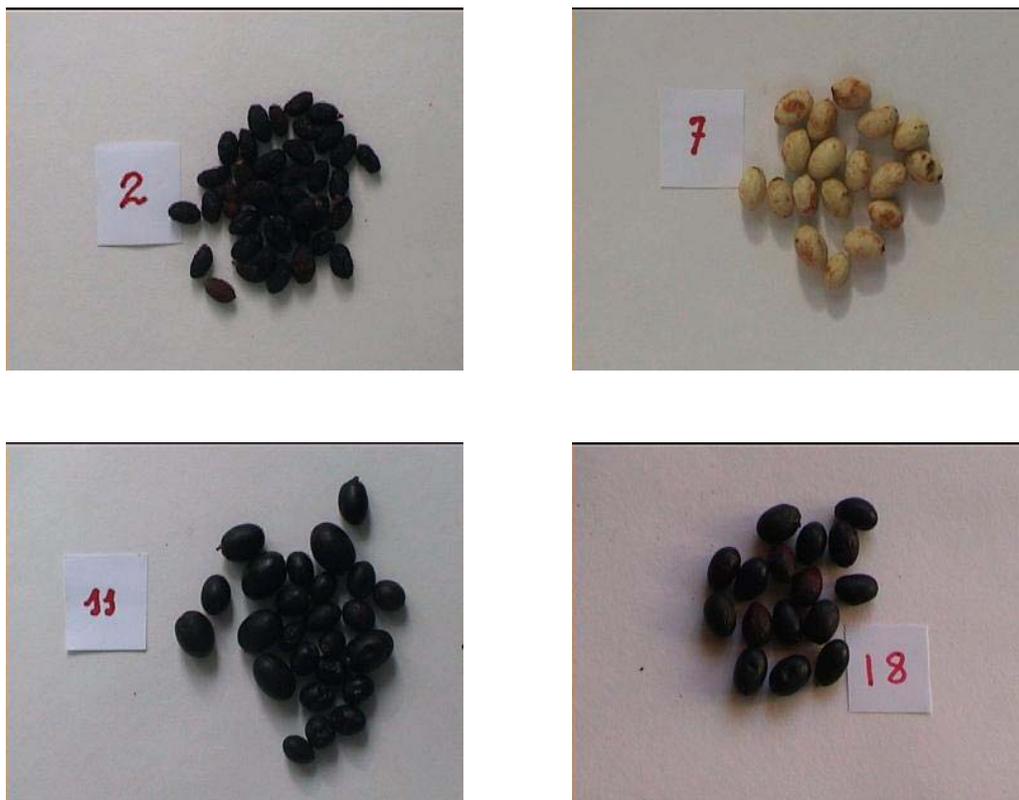
Para la realización del presente trabajo fue previamente necesario un tratamiento en la elaboración de las distintas muestras de aceite de acebuchinas. Para ello, se sacó el aceite de las acebuchinas mediante un molino discontinuo a escala de laboratorio denominado “Abencor” de la firma Comercial Abengoa S.A. Obviamente lo primero que se hizo fue la toma de muestras de los frutos (acebuchinas), y para ello se siguieron los pasos que se indican:

A.- LOCALIZACIÓN Y RECOLECCIÓN.

Para la localización de distintos acebuches, se viajó por tierras de las provincias de Cádiz sobre todo, por Sevilla y por Huelva. Una vez localizados, se procedió a la

toma de muestras de acebuchinas cogiéndose entre tres, cuatro o cinco kilos. Se cogieron por la técnica del ordeño, es decir, cogidas de las ramas de los árboles a mano. Hay que decir que ésta parte ha sido muy laboriosa por no decir casi accidentada, ya que los acebuches, en su gran mayoría, se encuentran en sitios escarpados y en ocasiones casi inaccesibles. Los acebuches se encuentran en riberas, en montículos escarpados y, en general, en terrenos que han quedado libres del cultivo por el hombre por tener una orografía escabrosa. De ésta forma han quedado como verdaderas reliquias, vegetaciones autóctonas conformando bosques originales de acebuches entremezclados con alcornoques y encinas junto a otras especies arbóreas, dando lugar a genuinos bosques ibéricos. Es quizás por ésta razón por la que en la provincia de Cádiz haya mayores cantidades de acebuches, por tener una mayor extensión de orografía abrupta conformando lo que se llama como sierra. En definitiva, debido a que el hombre ha talado éste tipo de vegetación para implantar las zonas de laboreo, es por lo que los acebuches se encuentran en bosques protegidos como son los parques naturales, o bien, en zonas accidentadas que han hecho posible su preservación no sólo a lo largo de los años, sino de los siglos quedando así verdaderas “joyas de la naturaleza”.

La toma de muestras se realizó de manera aleatoria. Así, de la provincia de Cádiz, que es la que contiene mayor número de acebuches, se ha procurado tomar muestras en distintos puntos geográficos de la misma recorriéndose cientos de kilómetros, para que quede lo más representadamente posible. En el caso de Huelva y de Sevilla, por la menor extensión de acebuchales, la toma de muestras ha sido más limitada. En total, entre las tres provincias se han conseguido unas 51 muestras de aceite de acebuchina, de las que siete de ellas se ha obtenido el aceite por extracción con disolvente (hexano) debido a la escasez de frutos (de éstas muestra sólo se ha analizado los parámetros más significativos y que puedan ser diferenciadores). También, una de las muestras es un aceite envasado de acebuchina.



Fotografías II.1 a II.4: Algunas de las muestras de aceitunas en las que se aprecian diferentes formas, tamaños y colores.

En cuanto a las muestras de los aceites de oliva se han buscado y procurado que sean de zonas en donde se han cogido aceitunas, y también aceites procedentes de aceitunas monovarietales (como las variedades *hojiblanca*, *picual*, *verdial*, *manzanilla*, etc.). También se analizaron aceites de otras procedencias. El número de muestras de aceite de oliva virgen que se analizó fue de 42.

En las figuras II.1 a II.3 se han marcado las localizaciones de las diferentes muestras de aceituna y de oliva enumerándolas mediante un círculo rojo y mediante un cuadradito azul respectivamente.



Figura II.1. Mapa de la provincia de Cádiz con la localización de las muestras de aceitunas (numeración en círculo rojo) y las de los aceites de oliva (numeración en cuadrado azul).

La toma de muestras, como ya hemos dicho, ha sido muy laboriosa y difícil ya que en primer lugar se ha tenido que buscar las zonas donde haya acebuches, además de que éstos contengan un número considerable de frutos para poderles sacar el aceite, de manera que se obtuviera cantidad suficiente para realizar los análisis. En un principio, se pensó en buscar muestras por la provincia de Cádiz por encontrarse las mayores extensiones de acebuchales. Hay que decir que no todos los viajes realizados fueron gratificantes en el sentido de haber conseguido algunas muestras, ya que en alguna ocasión se ha tenido que volver a casa con “las manos vacías” por las inclemencias del tiempo (lluvias torrenciales en el Campo de Gibraltar) o por encontrarse con acebuches, pero con escaso contenido de frutos (acebuchinas).

En cuanto a las muestras de oliva, en la provincia de Cádiz, se han conseguido de la zona productora de aceite, es decir de la zona norte de Cádiz.



Figura II.2. Mapa de la provincia de Sevilla con la localización de las muestras de aceitunas (numeración en círculo rojo) y las de los aceites de oliva (numeración en cuadrado azul).

Las tomas de muestras por las provincias de Sevilla y Huelva han sido más escasas, teniendo en cuenta que tienen menor número de acebuchales que la provincia de Cádiz.

En los tres mapas (figuras II.1, II.2 y II.3) no se han marcado las muestras a las que se les extrajo el aceite con disolvente (hexano).

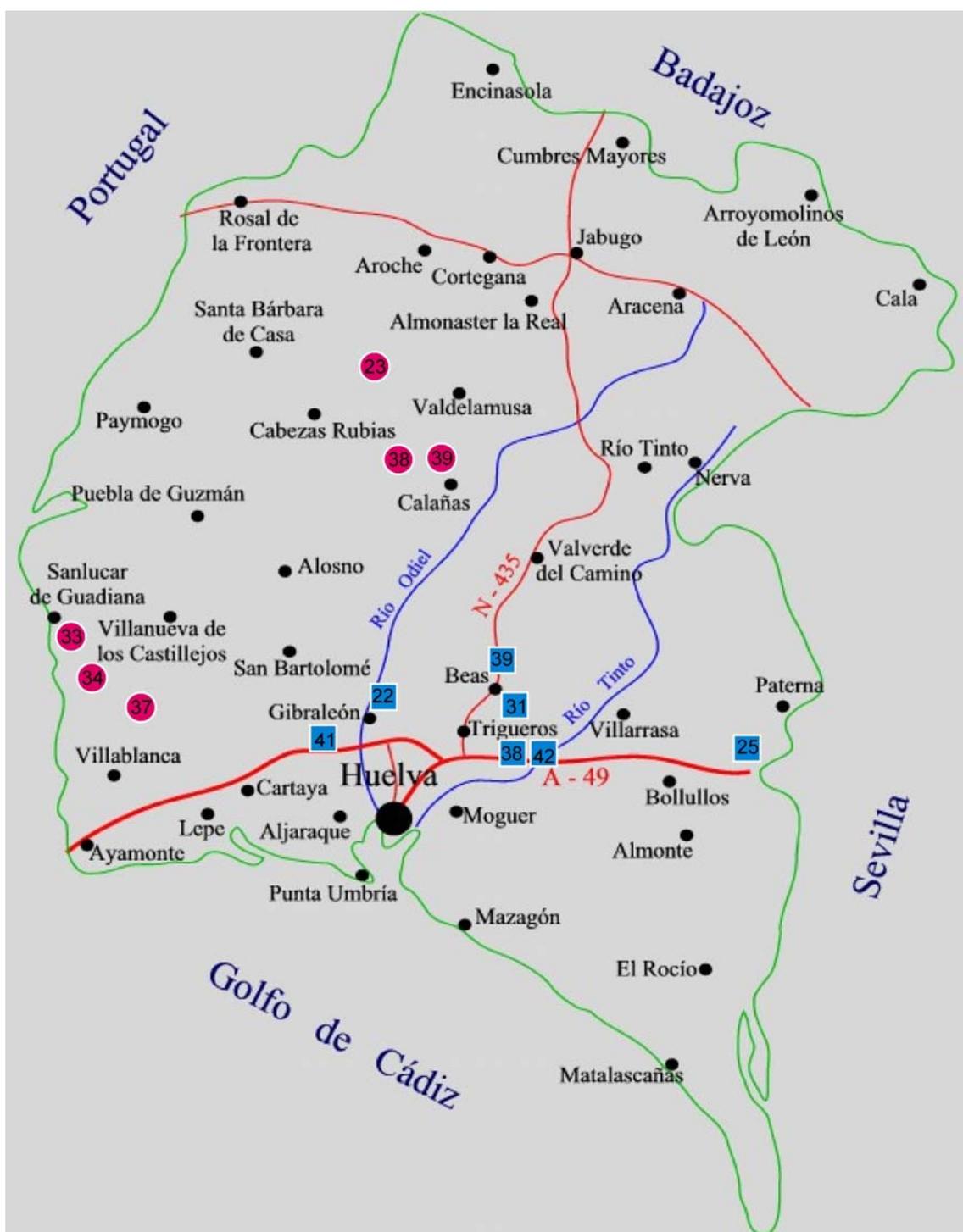


Figura II.3. Mapa de la provincia de Huelva con la localización de las muestras de acebuchinas (numeración en círculo rojo) y las de los aceites de oliva (numeración en cuadrado azul).

A continuación se reseña en una tabla la relación de las distintas muestras de aceite de acebuchina (*tabla II.1*) así como su procedencia, y en otra tabla las muestras de aceite de oliva (*tabla II.2*) en donde se refleja la procedencia así como la variedad de aceitunas de las que provienen:

TABLA II.1
MUESTRAS DE ACEITE DE ACEBUCHINA

Muestra n°	Procedencia	Método de extracción
1	“Las Lomas.” Vejer de la Fra. (CÁDIZ) (10-XI-02/14-XI-02)	F
2	“El Palmar.” Vejer de la Fra. (CÁDIZ) (10-XI-02/14,22-XI-02)	F
2A	“El Palmar.” Vejer de la Fra. (CÁDIZ) (10-XI-02. Extractada con hexano)	Q
3	Zahara de la Sierra. (CÁDIZ) (17-XI-02/22-XI-02)	F
4	Algodonales. (CÁDIZ) (17-XI-02/22-XI-02)	F
5	Espera. (CÁDIZ) (21-XI-02/22-XI-02)	F
6	Arcos de la Fra. (CÁDIZ) (21-XI-02/22-XI-02)	F
6A	Arcos de la Fra. (CÁDIZ) (21-XI-02/22-XI-02)	F
7	Puebla de los Infantes. (SEVILLA) (23-XI-02/5-XII-02)	F
8	El Bosque. (CÁDIZ) (1-XII-02/5-XII-02)	F
9	Ubrique. (CÁDIZ) (1-XII-02/5-XII-02)	F
10	Alcalá de los Gazules. (CÁDIZ) (1-XII-02/5-XII-02)	F
10A	Alcalá de los Gazules. (CÁDIZ) (1-XII-02/Extractada con hexano)	Q

TABLA II.1 (Continuación)
MUESTRAS DE ACEITE DE ACEBUCHINA

Muestra nº	Procedencia	Método de extracción
11	Paterna de Ribera-Medina Sidonia. (CÁDIZ) (7-XII-02/18-XII-02)	F
12	Benalup. (CÁDIZ) (7-XII-02/18-XII-02)	F
13	Facinas. (CÁDIZ) (15-XII-02/18-XII-02)	F
14	Puebla de los Infantes. (CÁDIZ) (18-I-03/30-I-03)	F
15	“Cuesta Media Fanega. Sierra Norte. (SEVILLA) (Extractada con hexano)	Q
15A	“Cuesta Media Fanega. Sierra Norte. (SEVILLA) (Extractada con hexano)	Q
15B	“Cuesta Media Fanega. Sierra Norte. (SEVILLA) (Extractada con hexano)	Q
16	(Aceite envasado comercialmente) (Campaña 2002/2003)	F
17	“Cuesta Media Fanega. Sierra Norte. (SEVILLA) (5-X-03/16-X-03)	F
18	Jerez de la Fra. (CÁDIZ) (12-X-03/22-X-03)	F
19	“Embalse de Barbate.” Alcalá Gazules. (CÁDIZ) (12-X-03/22-X-03)	F
20	San José del Valle. (CÁDIZ) (12-X-03/30-X-03)	F
20A	San José del Valle. (CÁDIZ) (12-X-03/30-X-03)	F
21	Tarifa. (CÁDIZ) (13-X-03/22-X-03)	F
22	Castellar-Los Barrios. (CÁDIZ) (13-X-03/30-X-03)	F

TABLA II.1 (Continuación)
MUESTRAS DE ACEITE DE ACEBUCHINA

Muestra nº	Procedencia	Método de extracción
23	Cerro del Andévalo. (HUELVA) (24-X-03/30-X-03)	F
24	“Venta del Alto.”Sierra Morena. (SEVILLA) (2-XI-03/13-XI-03)	F
25	El Ronquillo. Sierra Morena. (SEVILLA) (2-XI-03/13-XI-03)	F
26	Parque periurbano “La Corchuela”. (SEVILLA) (2-XI-03/13-XI-03)	F
27	La Rinconada. (SEVILLA) (10-XI-03/26-XI-03)	F
28	Las Pajanosas (medianas). (SEVILLA) (30-XI-03/18-XII-03)	F
28A	Las Pajanosas (pequeñas). (SEVILLA) (30-XI-03/18-XII-03)	F
28B	Las Pajanosas (grandes). (SEVILLA) (30-XI-03/Extractada con hexano)	Q
29	“Río Viar”Castilblanco de los Arroyos. (SEVILLA) (14-XII-03/18-XII-03)	F
30	Castellar Viejo. Parque Nat. Los Alcornocales. (CÁDIZ) (2-I-04/30-I-04)	F
31	“Río Guadarranque”Castellar Viejo. (CÁDIZ) (2-I-04/30-I-04)	F
32	“Carretera El Manantial”Castellar Nuevo. (CÁDIZ) (2-I-04/30-I-04)	F
33	S. Silvestre de Guzmán-Sanlúcar Guadiana. (HUELVA) (-I-04/30-I-04)	F
34	“Arroyo de los Acebuches”S. Silv-Sanl. Guad. (HUELVA) (-I-04/30-I-04)	F
35	“Sierra Traviesa”Castilb. Arroyos-El Pedroso (SEVILLA) (24-I-04/13-II-04)	F

TABLA II.1 (Continuación)
MUESTRAS DE ACEITE DE ACEBUCHINA

Muestra nº	Procedencia	Método de extracción
36	Coripe (SEVILLA) (17-I-04/13-II-04)	F
37	S. Silvest. de Guzmán-Sanlúcar Guadiana (HUELVA) (4-I-04/13-II-04)	F
38	Cabezas Rubias-Cerro del Andévalo. (HUELVA) (4-I-04/13-II-04)	F
39	Cabezas Rubias-Cerro del Andévalo. (HUELVA) (4-I-04/13-II-04)	F
40	Puebla de los Infantes-Lora. (SEVILLA) (24-I-04/13-II-04)	F
41	Puebla de los Infantes-Peñaflor. (SEVILLA) (24-I-04/13-II-04)	F
42	Puebla de los Infantes-Peñaflor. (SEVILLA) (24-I-04/13-II-04)	F
43	Puebla de los Infantes. (SEVILLA) (24-I-04/Extractada con hexano)	Q

* F significa aceite extraído *físicamente*, es decir, de manera que se obtenga un aceite (zumo) con todas las características inalterables de un aceite de acebuchina virgen. En definitiva, se obtiene un aceite virgen, a escala de laboratorio, igual al que se obtiene en una almazara o molino de aceite.

Q significa aceite extraído *químicamente*, es decir, mediante el uso de un disolvente (en éste caso con hexano) de manera que se obtiene un aceite con connotaciones de aceite de orujo (con altos contenidos de eritrodíol, alcoholes alifáticos, ceras, etc.). Se ha empleado éste método cuando la cantidad de frutos de la muestra era insuficiente para obtener una cantidad de aceite apreciable para poder realizar los análisis. Con éste método se extrae la totalidad de la grasa que contiene la pasta de la acebuchina (aceite virgen y aceite de orujo).

E significa que el aceite empleado en los análisis está *envasado*.

Nota:

1) Las muestras de la 1 a la 16 son de la campaña 2002/2003 y de la 17 a la 43 son de la campaña 2003/2004.

2) Las fechas que aparecen en la tabla indican cuándo se recolectaron los frutos y cuándo se sacó el aceite de ellos.

3) Todas las muestras se han obtenido mediante un molino a escala de laboratorio, excepto las muestras 2A, 10A, 15, 15A, 15B, 28B y 43 que se han obtenido mediante extracción con hexano.

TABLA II.2
MUESTRAS DE ACEITE DE OLIVA VIRGEN

Muestra nº	Procedencia	Origen	Variedad
1	Prado del Rey. (CÁDIZ) (Campaña 2002/2003)	E	D
2	Meknes. (Marruecos) (Campaña 2002/2003)	M	D
3	Puebla de los Infantes. (SEVILLA) (Campaña 2002/2003)	E	D
4	Olvera. (CÁDIZ) (Campaña 2002/2003)	E	D
5	Algodonales. (CÁDIZ) (Oliva virgen extra. Campaña 2002/2003)	E	D
6	Algodonales. (CÁDIZ) (Oliva virgen. Campaña 2002/2003)	E	D
7	Zahara de la Sierra. (CÁDIZ) (Campaña 2002/2003)	E	D
8	Arcos de la Fra. (CÁDIZ) (Campaña 2002/2003)	E	D
9	Espera. (CÁDIZ) (Campaña 2002/2003)	E	D
10	Pilas. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	M, V

TABLA II.2 (Continuación)
MUESTRAS DE ACEITE DE OLIVA VIRGEN

Muestra nº	Procedencia	Origen	Variedad
11	Pilas. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	M, V
12	Pilas. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	M, V
13	Villanueva de Algaida. (MÁLAGA) (Campaña 2003/2004)	M	D
14	Mairena del Alcor. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	D
15	Mairena del Alcor. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	D
16	Lora del Río. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	D
17	Coria del Río. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	H
18	Coria del Río. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	P
19	Ribera del Fresno. (BADAJOZ) (Campaña 2003/2004)	M	Mr, Pc, P
20	Huévar del Aljarafe. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	M
21	La Campana. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	D
22	Gibraleón. (HUELVA) (Campaña 2003/2004)	E	D
23	Osuna. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	A
24	Osuna. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	D
25	Chucena. (HUELVA) (Campaña 2003/2004)	M	D

TABLA II.2 (Continuación)
MUESTRAS DE ACEITE DE OLIVA VIRGEN

Muestra n°	Procedencia	Origen	Variedad
26	La Campana. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	D
27	Constantina. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	D
28	El Pedroso. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	D
29	Huévar. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	V
30	Puebla de los Infantes. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	D
31	La Peñuela-Niebla. (HUELVA) (Campaña 2003/2004)	M	D
32	Meknes. (MARRUECOS) (Campaña 2003/2004)	M	D
33	La Roda de Andalucía. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	H
34	La Roda de Andalucía. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	A
35	SEVILLA (Campaña 2003/2004)	M	M
36	Villacarrillo. (JAÉN) (Campaña 2003/2004)	M	P
37	Mora de Toledo. (TOLEDO) (Campaña 2003/2004)	M	C
38	Candón. (HUELVA) (Campaña 2003/2004)	E	D
39	Beas. (HUELVA) (Campaña 2003/2004)	E	D
40	Guadalcanal. (SEVILLA) (Campaña 2003/2004)	M	D

TABLA II.2 (Continuación)
MUESTRAS DE ACEITE DE OLIVA VIRGEN

Muestra nº	Procedencia	Origen	Variedad
41	Gibraleón. (HUELVA) (Campaña 2003/2004)	M	P, A y V
42	Candón. (HUELVA) (Campaña 2003/2004)	M	V

* **M** significa que el aceite empleado se ha cogido del *molino* o almazara.

E significa que el aceite empleado está *envasado*, es decir, que es óptimo para el consumo humano y que cumple la legislación vigente.

D significa variedad *desconocida*. La muestra empleada no sabemos por qué variedad o variedades de aceitunas está constituida.

M, Mr, V, H, C, P y Pc significan la variedad de aceitunas *manzanilla, morisca o basta, verdial, hojiblanca, cornicabra, picual o marteña y picuda o carrasqueña* respectivamente.

Nota:

1) Las muestras desde la 1 hasta la 9 son de la campaña 2002/ 2003 y desde la 10 a la 42 son de la campaña 2003/2004.

2) Las muestras de aceite de oliva analizadas las hay que son monovarietales o también formadas por una mezcla de variedades.

B.- LIMPIEZA.

Una vez conseguidas las muestras de acebuchinas, se procedió a la limpieza de las mismas, eliminándole las hojas y ramas que contengan. Se conservaron los frutos en frigorífico hasta la obtención del aceite.

C.- CALIBRADO.

A continuación, a las distintas muestras, se procedió verles el *tamaño medio* y el *peso medio* de los frutos. Se pesaron cien unidades de acebuchina y se vio el peso

medio de los frutos. Mediante un “pié de rey” se midió el calibre de diez unidades de acebuchina a lo largo y a lo ancho de los frutos tomando los valores medios.

D.- EXTRACCIÓN DEL ACEITE.

La extracción de los aceites de las acebuchinas se procedió mediante un molino a escala de laboratorio llamado “ABENCOR” de la firma COMERCIAL ABENGOA S.A. Este molino está homologado por el Instituto de la Grasa de Sevilla (Martínez Suárez & al., 1975). El molino “Abencor” consta de tres partes:

a) MOLINO DE MARTILLOS.

Con el molino se procede a la trituración del fruto (acebuchinas) transformándolo en una pasta.

b) TERMOBATIDORA.

La termobatidora consta de un baño termostático, mediante el cual se regula la temperatura del agua entre 35 y 40° C., y tiene ocho palas de batido para sacar gradualmente las gotículas de aceite durante 30 minutos aproximadamente. En el procedimiento de batido, se pesan entre 700 y 800 gramos de pasta en cada uno de los ocho cazos, se le añaden 200 ml de agua caliente y de 5 a 10 gramos de talco para facilitar la salida del aceite. Se bate, mediante las palas, durante 30 minutos. Después se pasa a la centrifugadora.

c) CENTRIFUGADORA.

Con la centrifugadora se consigue a 3500 r.p.m. la separación del aceite de la pasta proveniente de la termobatidora. Por una parte se obtiene el aceite con el alpechín (agua de vegetación) y por otra parte una fase sólida pastosa llamada alpeorujo (alpechín y orujo).

Una vez separadas la fase sólida (alpeorujo) y la fase líquida (aceite mas alpechín) se procede a decantar el aceite del alpechín. El aceite separado se conserva en botes de cristal con tapón de rosca en frigorífico, preservándolo en la oscuridad hasta la realización del análisis. Hemos de decir, que los parámetros de calidad de los aceites pueden verse influidos por el grado de maduración del fruto así como por el grado de

inalterabilidad del mismo. Así si el fruto está muy maduro o está picado por la mosca conteniendo larvas de éstas, pueden verse afectados negativamente los parámetros de acidez, índice de peróxidos, K232 y K270, e incluso el grado de estabilidad (Rancimat) de los aceites. Por tanto, los parámetros de calidad de los aceites nos van a indicar el grado de maduración y la conservación de los frutos de los cuales provienen. También estos parámetros reflejan las condiciones de almacenaje de los aceites, es decir, si se preservan del aire, de la luz y del calor.

E.- RENDIMIENTO.

A las distintas muestras de acebuchina (frutos) se les vio el rendimiento graso (grasa total) y el grado de humedad. Siguiendo el trabajo realizado por J. Espejo Gutiérrez (1980) se obtuvieron los valores de los aceites de presión y de orujo, así como las cantidades de orujo e irrecuperable. También se le vio la acidez a la grasa extractada mediante una valoración con hidróxido sódico 0.1 N. En la tabla II.3 se muestran las características de los distintos frutos (color, tamaño, peso, rendimiento graso, humedad, etc.).

TABLA II.3
ESTUDIO DE LAS ACEBUCHINAS (FRUTOS)

MUESTRA	COLOR	PESO (g.)		TAMAÑO (cm.)	
		100 unidades	Unitario	Largo	Ancho
1	Negra	58.1	0.58	1.33	0.90
2	Negra	23.8	0.24	1.13	0.71
2A	Negra				
3	Negra	102.8	1.03	1.82	1.27
4	Negra	50.15	0.50	1.09	1.09
5	Negra	58.15	0.58	1.31	0.9
6	Negra	96.45	0.96	1.56	1.07
6A	Negra	60.25	0.60	1.30	0.87
7	Blanca	62.95	0.63	1.32	1.00
8	Negra	103.35	1.03	1.61	1.12
9	Negra	31.45	0.31	1.13	0.83
10	Negra	38.25	0.38	1.15	0.85
10A	Negra	70.45	0.70	1.66	0.94
11	Negra	58.45	0.58	1.22	0.90
12	Negra	48.2	0.48	1.03	0.76

TABLA II.3 (Continuación)
ESTUDIO DE LAS ACEBUCHINAS (FRUTOS)

MUESTRA	COLOR:	PESO (g.)		TAMAÑO (cm.)	
		100unidades	Unitario	Largo	Ancho
13	Negra	47.0	0.47	1.11	0.78
14	Negra	49.8	0.50	1.49	0.98
15	Negra				
15A	Negra				
15B	Negra				
16	Aceite				
17	Negra	67.7	0.68	1.32	0.91
18	Negra	62.35	0.62	1.27	0.91
19	Negra	64.5	0.65	1.25	0.85
20	Negra	42.3	0.42	1.26	0.72
20A	Negra	80.1	0.80	1.44	0.96
21	Negra	43.6	0.44	1.15	0.78
22	Negra	54.05	0.54	1.18	0.86
23	Negra	108.4	1.08	1.37	1.10
24	Negra	53.85	0.54	1.13	0.87
25	Negra	70.0	0.70	1.24	0.87
26	Negra	104.2	1.04	1.40	1.06
27	Negra	98.2	0.98	1.43	0.95
28	Negra	70.25	0.70	1.36	0.88
28A	Negra	23.35	0.23	0.90	0.63
28B	Negra	174.9	1.75	1.78	1.23
29	Negra	70.35	0.70	1.23	0.95
30	Negra	41.45	0.41	1.19	0.68
31	Negra	34.9	0.35	0.97	0.66
32	Negra	32.4	0.32	0.99	0.69
33	Negra	47.55	0.48	1.10	0.78
34	Negra	36.65	0.37	0.93	0.70
35	Negra	45.15	0.45	1.04	0.82
36	Negra	66.35	0.66	1.13	0.89
37	Negra	28.15	0.28	0.84	0.63
38	Negra	50.95	0.51	1.27	0.76
39	Negra	22.6	0.23	0.84	0.64
40	Negra	63.8	0.64	1.48	0.77
41	Negra	120.65	1.21	1.32	1.08
42	Negra	58.00	0.58	1.13	0.75
43	Blanca	68.65	0.69	1.17	0.89

TABLA II.3 (Continuación)
ESTUDIO DE LAS ACEBUCHINAS (FRUTOS)

MUESTRA	HUMEDAD (%)	GRASA TOTAL (%)	ACIDEZ (%)	ORUJO (%)	IRRECUPER. (%)	ACEITE DE PRESIÓN (%)	ACEITE DE ORUJO (%)
1	54.38	10.82	1.87	40.72	0.3	7.06	3.46
2	51.29	11.93	1.02	43.03	0.3	7.97	3.66
2A	48.55	11.43	27.15	46.82	0.3	7.15	3.98
3	37.21	20.62	0.53	49.34	0.3	16.13	4.19
4	43.82	8.36	1.26	55.95	0.3	3.30	4.76
5	44.95	11.74	0.62	43.31	0.3	7.76	3.68
6	54.50	15.16	0.64	35.50	0.3	11.84	3.02
6A	48.14	12.84	0.45	45.65	0.3	8.66	3.88
7	62.10	7.33	1.53	35.77	0.3	3.99	3.04
8	51.02	8.88	0.92	46.92	0.3	4.59	3.99
9	50.45	8.27	0.99	48.30	0.3	3.86	4.11
10	56.67	9.87	1.08	39.15	0.3	6.24	3.33
10A	56.91	10.43	1.12	38.21	0.3	6.88	3.25
11	50.79	10.68	1.37	45.08	0.30	6.55	3.83
12	41.00	13.60	1.47	53.12	0.30	8.78	4.52
13	43.06	11.67	0.90	52.97	0.30	6.87	4.50
14	48.24	15.98	1.96	41.86	0.30	12.12	3.56
15							
15A							
15B							
16							
17	56.85	7.97	1.01	41.16	0.3	4.17	3.50
18	51.20	6.53	1.08	49.46	0.3	2.03	4.20
19	55.01	7.77	0.76	43.55	0.3	3.77	3.70
20	52.94	10.22	1.91	43.10	0.3	6.26	3.66
20A	58.39	10.59	0.80	36.29	0.3	7.21	3.08
21	52.03	5.70	0.82	49.46	0.3	1.20	4.20
22	55.24	8.36	0.66	42.59	0.3	4.44	3.62
23	59.34	7.28	0.89	39.05	0.3	3.66	3.32
24	58.86	10.82	0.71	35.47	0.3	7.50	3.02
25	63.22	6.13	0.88	35.86	0.3	2.78	3.05
26	61.39	6.70	0.78	37.33	0.3	3.23	3.17
27	57.49	7.72	0.81	40.70	0.3	3.96	3.46
28	50.19	8.04	2.66	48.87	0.3	3.59	4.15
28A	54.15	7.86	1.26	44.45	0.3	3.78	3.78

TABLA II.3 (Continuación)
ESTUDIO DE LAS ACEBUCHINAS (FRUTOS)

MUESTRA	HUMEDAD (%)	GRASA TOTAL (%)	ACIDEZ (%)	ORUJO (%)	IRRECUPER. (%)	ACEITE DE PRESIÓN (%)	ACEITE DE ORUJO (%)
28B	63.72	11.31	1.74	29.21	0.3	8.53	2.48
29	58.07	7.48	0.95	40.31	0.3	3.75	3.43
30	59.45	7.95	5.03	38.14	0.3	4.41	3.24
31	54.53	10.94	2.27	40.40	0.3	7.21	3.43
32	61.87	8.17	9.15	35.05	0.3	4.89	2.98
33	47.16	12.16	0.78	47.60	0.3	7.81	4.05
34	51.14	8.14	0.60	47.64	0.3	3.79	4.05
35	45.47	19.90	0.61	40.52	0.3	16.16	3.44
36	52.75	11.01	0.80	42.40	0.3	7.11	3.60
37	48.02	8.73	1.43	50.60	0.3	4.13	4.30
38	51.98	9.8	3.65	44.72	0.3	5.70	3.80
39	46.35	10.89	2.21	50.03	0.3	6.34	4.25
40	55.34	11.40	0.64	38.91	0.3	7.79	3.31
41	51.46	15.67	0.61	38.46	0.3	12.10	3.27
42	49.20	8.25	0.76	49.78	0.3	3.72	4.23
43	52.48	7.61	0.95	46.69	0.3	3.34	3.97

II.4. PROCEDIMIENTOS.

A continuación se exponen los procedimientos seguidos, en primer lugar en los frutos, así como los empleados en los aceites de acebuchina y en los de oliva.

II.4.1. FRUTOS (ACEBUCHINA).

II.4.1.a. HUMEDAD.

La humedad es la cantidad de agua contenida en el fruto y se expresa en tanto por ciento de agua sobre la totalidad del fruto.

Para cuantificar el tanto por ciento de humedad, se pesan en una bandeja de aluminio previamente tarada, entre 40 y 50 gramos de pasta de acebuchina proveniente

de la trituración del fruto en el molino, extendiéndola en una capa delgada. Se deseca en una estufa regulada a 105° C durante dos horas. Al cabo de ese tiempo se va comprobando la pérdida de peso y se va repitiendo la misma operación hasta que el peso sea constante. Se calcula la humedad refiriéndola a cien gramos de muestra.

II.4.1.b. GRASA TOTAL.

La grasa total se realizó mediante la técnica de extracción por Soxhlet. Para ello, una vez seca la pasta, ésta se desmenuza y se introduce en un cartucho de extracción que se mete en un extractor Soxhlet. Se coloca el extractor en un matraz de 250 ml., previamente pesado con una piedrecita de plato poroso. Se le añade un volumen de hexano de manera que al sifonear el extractor, no se quede el matraz nunca sin disolvente. Se coloca el matraz con el extractor Soxhlet, conectado a un refrigerante, en una placa calefactora y se regula de manera que la extracción se haga durante tres horas como mínimo. Una vez transcurrido ese tiempo, se destila el disolvente (hexano) del matraz en un rotavapor de manera que en el quede el aceite extractado. Se mete el matraz en la estufa a 105° C durante una hora para eliminar posibles restos de humedad y de disolvente. Se saca, se deja enfriar unos 45 minutos y se pesa. Se calcula el tanto por ciento de grasa.

Con este método cuantificamos la totalidad de la grasa que contiene el fruto, pero no sabemos la parte correspondiente al *aceite de presión* (zumo que fluye de la prensa), al *aceite de orujo* (que es el aceite que queda retenido en la torta (orujo) y que se saca por extracción con disolventes (hexano)) y a las *pérdidas irre recuperables* (que es el aceite que se escapa en el alpechín, el residuo del orujo extractado y los derrames propios del proceso). Para cuantificar teóricamente *el aceite de presión*, *el aceite de orujo*, *las pérdidas irre recuperables* y *la cantidad de orujo* (torta que queda en los molinos una vez sacado el aceite por presión) nos hemos basado en el trabajo realizado por J. Espejo Gutiérrez (1980).

Una vez conocidas experimentalmente la humedad (H) y la grasa total (G), el *orujo* (O) se obtiene de:

$$100 - H - G = \text{"Seco"} \cdot 1.17 = \% \text{Orujo (O)} \quad (\text{II.1})$$

Por otra parte el *aceite de orujo* (AO) se obtiene de:

$$AO = \frac{\text{"Seco"} \cdot 1.17 \cdot 8.5}{100} \quad (\text{II.2})$$

Por otra parte, las pérdidas irrecuperables por escape de alpechín, residuo en el orujo extractado y derrames son del orden del 0.3% del total, cuando se trabaja correctamente, por lo que puede calcularse el aceite de presión (AP) por la fórmula siguiente:

$$AP = G - (0.1 \cdot \text{"Seco"} + 0.3) \quad (\text{II.3})$$

Con este cálculo teórico, se pueden obtener los datos correspondientes a los rendimientos obtenidos industrialmente en las almazaras para la extracción de aceite por métodos físicos, es decir, por prensado. Hemos de decir que la prensada no es siempre uniforme en todos los casos a lo largo de una campaña, ya que en el grado de agotamiento intervienen no solamente factores mecánicos sino la complejidad fisicoquímica de la masa, (complejidad relacionada con el grado de maduración de los frutos, la variedad de los mismos, factores climáticos, etc., etc.).

II.4.1.c. ACIDEZ.

La acidez determina la cantidad de ácidos grasos libres, expresados en tanto por ciento de ácido oleico, según la norma de la C.E.E. 2568/91 (1991) ó UNE 55011 (Acidez). Para ello disolvemos el aceite en una mezcla de disolventes (éter dietílico y etanol en la proporción 1:1) y se valora con una solución de hidróxido sódico 0.1 N con unas gotas de fenolftaleína.

II.4.2. ACEITES (DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA).

Para estudiar los aceites de acebuchinas hemos empleado las normas oficiales para aceites de oliva del Reglamento 2568/91 de la C.E.E. (1991).

El aceite de oliva está compuesto principalmente por triglicéridos (98 – 99 %) y en menor cantidad, por ácidos grasos libres cuya proporción va a depender del grado de hidrólisis de los triglicéridos (Espejo Gutiérrez, 1997). Y en una menor proporción, entre un 0.5 % y un 1.5 %, formado por constituyentes no glicéridos. La fracción más pequeña es la fracción insaponificable formada por componentes minoritarios como esteroides y eritrodiol, alcoholes alifáticos y triterpénicos, tocoferoles (α , β , γ y δ), hidrocarburos esteroideos (estigmasta-3,5-dieno), polifenoles, compuestos aromáticos, etc, etc. Ésta fracción es fundamental y determinante para ver la autenticidad de los diversos tipos de aceite de oliva, además de añadir propiedades sensoriales y biológicas únicas.

Para el análisis de los aceites de oliva y de acebuchina hay una serie de parámetros que nos evalúan la calidad, y otros parámetros que nos indican el grado de pureza (García-Donas, 2001). Los parámetros físico-químicos que nos definen la calidad de un aceite son: acidez, índice de peróxidos y coeficiente de extinción en el ultravioleta (UV) K232, K270 y δK . Un parámetro que también nos puede dar una orientación de cómo está el aceite es la estabilidad al enranciamiento u oxidación inducida (“Rancimat”) (Papase & Cabre, 1988; Gutiérrez, 1989; Riquelme & Romojaro, 1989 y Serra & Ventura, 1988-1990), que lo que indica es el estado de conservación del aceite a lo largo del tiempo.

Por otro lado, también se midió el color de los aceites mediante el colorímetro Lovibond.

En cuanto a los parámetros de pureza que se vieron fueron los ácidos grasos con sus isómeros “trans”, los triglicéridos, los esteroides y el eritrodiol mas el uvaol, las ceras y los alcoholes alifáticos, etc. Otro parámetro de pureza que no se vió por no venir al caso con el estudio que nos atañe, es la prueba de hidrocarburos esteroideos (estigmasta-3,5-dieno) que lo que determina es la presencia de aceite refinado en aceite de oliva virgen.

II.4.2.a. COLOR.

El color de los distintos aceites se determinó mediante el empleo del colorímetro Lovibond. El colorímetro consta de un compartimento en donde se coloca una cubeta de cristal de aproximadamente 25 ml. de capacidad. Éste compartimento está iluminado por dos lámparas de radiación visible.

Se rellena la cubeta con el aceite y se coloca en el habitáculo. El aparato consta de un visor por el que se ve una esfera dividida en dos mitades. El colorímetro dispone de una escala de cristales coloreados constituida por unidades rojas, amarillas, azules y blancas. En una mitad del visor se ve el aceite y en la otra, la escala de cristales de colores que se van metiendo de manera que queden lo mas igualadas posible las dos mitades. Una vez hecho esto, se ve la escala y se anotan las unidades empleadas para igualarse al color del aceite. De esta manera se mide el color de los aceites según la escala Lovibond. Así por ejemplo, aceites con tonalidades amarillas emplean lógicamente unidades amarillas, mientras que en los que son verdes se utilizan más unidades azules junto con amarillas.

II.4.2.b. ACIDEZ.

La acidez (Reglamento CEE 2568/91) determina los ácidos grasos libres en los aceites de oliva y se expresa en tanto por ciento de ácido oleico.

El procedimiento empleado en la determinación de acidez, fue el contemplado en el Anexo II del Reglamento de la CEE 2568/91 (1991) o en la norma UNE 55011.

Procedimiento.

En un matraz Erlenmeyer de 250 ml se pesan aproximadamente de 5 a 10 g de aceite previamente filtrado. Se disuelve la muestra en 50ml de una mezcla de éter dietílico y etanol en la proporción de volumen 1:1, previamente neutralizada.

Agitando se valora con una solución acuosa de hidróxido sódico 0.1N hasta viraje del indicador (fenolftaleína) al color ligeramente rosa.

Resultados.

La expresión de la acidez en porcentaje de ácido oleico viene dada por la fórmula:

$$\% (\text{ en ácido oleico}) = \frac{V \cdot f \cdot 2.82}{P} \quad (\text{II.4})$$

siendo:

V: es el volumen en ml. de la solución valorada de hidróxido sódico utilizada.

f: es el factor de corrección de la solución acuosa 0.1N de hidróxido sódico.

P: peso en gramos de la muestra utilizada.

El peso molecular del ácido oleico es 282.

II.4.2.c. ÍNDICE DE PERÓXIDOS.

El índice de peróxidos es un parámetro de calidad de los aceites. Éste índice evalúa el estado de oxidación inicial de un aceite.

El procedimiento seguido en la determinación del índice de peróxidos es el que está contemplado en el Anexo III del Reglamento de la CEE 2568/91 (1991) o en la norma UNE 55023.

Procedimiento.

Se pesan entre 1.0 y 1.2 g de aceite en un matraz esférico de fondo plano provisto de tapón. Se disuelve la muestra en 10ml. de cloroformo calidad “para análisis”. Se añaden 15ml de ácido acético glacial “para análisis”, 1ml de solución acuosa saturado de yoduro potásico “para análisis”. Se cierra rápidamente el matraz y se agita durante 1 minuto. A continuación se mantiene en la oscuridad durante 5 minutos exactamente. Se le añaden aproximadamente 75ml de agua destilada. Se valora (agitando al mismo tiempo vigorosamente) el yodo liberado con la solución factorizada de tiosulfato sódico 0.002N, añadiendo 5ml. de solución de almidón al 0.1% como indicador.

Paralelamente se realiza un ensayo en blanco (con los reactivos). Al volumen consumido en el problema se le resta el volumen del blanco.

Resultados.

El índice de peróxidos se expresa en miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de grasa, y da la cantidad de peróxidos que oxidan el yoduro potásico en las condiciones descritas, mediante la fórmula siguiente:

$$IP = \frac{V \cdot N \cdot f \cdot 1000}{P} \quad (\text{II.5})$$

siendo:

V: mililitros de solución valorada de tiosulfato sódico 0.002 N. empleados en el ensayo, convenientemente corregidos para tener en cuenta el ensayo en blanco.

N: normalidad de la solución de tiosulfato sódico 0.002 N empleada.

f: factor de corrección de la normalidad de la solución de tiosulfato sódico 0.002 N.

P: peso en gramos de la muestra problema.

II.4.2.d. ENSAYO ESPECTROFOTOMÉTRICO EN EL ULTRAVILOETA.

La prueba espectrofotométrica en el ultravioleta permite conocer el estado de oxidación y conservación de un aceite así como posibles adulteraciones con aceites refinados o de orujo. La absorción a determinadas longitudes de onda indicadas en el método es debida a la presencia de dienos y trienos conjugados (García–Donas, 2001) y (Aparicio & Harwood, 2003). Los valores de estas absorciones se expresan en extinción específica $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ que es la extinción de una solución de la matriz grasa al 1% en ciclohexano en cubetas de cuarzo de espesor de 1cm. La extinción específica $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ se expresa convencionalmente como K, también denominado coeficiente de extinción.

Para la determinación de los coeficientes de extinción se empleó el método oficial del Anexo IX del Reglamento de la CEE 2568/91 (1991) o la norma UNE 55047.

Procedimiento.

Se pesan entre 0.05 g y 0.08 g de aceite, previamente filtrado, en un matraz aforado de 10ml. Se disuelve y se enrasa con ciclohexano. Se mide en el espectrofotómetro de doble haz UV-VIS. en las longitudes de onda comprendidas entre 232 y 274 nm. Para ello se llenan las dos cubetas con ciclohexano para ajustar el cero. Se saca una de las cubetas y se llena con el problema. Se mide con respecto a la cubeta de referencia a las longitudes de 232 a 274 nm.

Resultados.

Las extinciones específicas o coeficientes de extinción a las diversas longitudes de onda se calculan como sigue:

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{c \cdot e} \quad (\text{II.6})$$

siendo:

K_{λ} : extinción específica a la longitud de onda λ .

E_{λ} : extinción medida a la longitud de onda λ .

c : concentración de la disolución en g. por 100ml.

e : espesor de la cubeta en cm.

Los coeficientes de absorción a longitudes de onda alrededor de 270 nm se determinan también calculando el valor del ΔK :

$$\Delta K = K_m - \left(\frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2} \right) \quad (\text{II.7})$$

donde K_m es la extinción específica a la longitud de onda m , que es la máxima absorción alrededor de 270 nm.

II.4.2.e. ESTABILIDAD U OXIDACIÓN INDUCIDA (“RANCIMAT”).

Como ya dijimos en el capítulo I, la estabilidad es la medición del periodo de tiempo de vida útil o comercial de un aceite de manera que el aceite conserve todas sus propiedades sin deteriorarse con el paso del tiempo (García-Donas, l. c.).

Procedimiento.

Para la realización de esta prueba se empleo un aparato Rancimat de la casa Methron. Esta prueba mide la estabilidad de los aceites al someterlos a una oxidación forzada con un flujo de aire de 10 l/h a una temperatura de 100° C. (Éste mismo aparato también puede dar la estabilidad AOM, pero en éste caso es a 98° C.). Para ello se pesan 2 g. de aceite en un tubo de ensayo del aparato. El “Rancimat” consta de dos bloques termostáticos con capacidad para cuatro tubos cada uno, de manera que se pueden medir hasta ocho muestras a la vez. Se regula cada bloque a 100° C. en donde se introducen los tubos con las muestras. Cada tubo de ensayo está cerrado con un tapón del que salen unos tubos de goma que están conexas por un lado con unos vasos que contienen agua destilada y, por otro lado, con una bomba que esta insuflando oxígeno (aire) a las muestras de aceite contenidas en dichos tubos de ensayo. De esta forma, la bomba hace borbotear en el agua destilada los gases provenientes de las muestras de aceite. A su vez, los vasos de agua destilada contienen un electrodo para medir la conductividad de ésta. La estabilidad de un aceite se mide en horas de estabilidad y representa el tiempo que un aceite permanece sin alterar sus características. En la medición de la estabilidad se obtiene una gráfica en la que se representa la conductividad en $\mu\text{S}/\text{cm}$. frente al tiempo en horas. Cuando el aceite termina de oxidarse, la conductividad alcanza un máximo que es proporcional al tiempo medido en horas. Aproximadamente una hora de la medición de la estabilidad corresponde a un mes de vida del aceite. Según el estado de oxidación en que se encuentre el aceite, terminará la medición de la estabilidad antes o después. Así cuanto mejor sea el aceite desde el punto de vista oxidativo, mayor será la estabilidad de éste. Los gráficos del “Rancimat” están controlados mediante un ordenador con el software correspondiente. Como se ha dicho anteriormente, el mismo aparato Rancimat da la estabilidad tanto a 100° C. (Estabilidad Rancimat) como a 98° C. (Estabilidad AOM).

Resultados.

La estabilidad se expresa en horas “de vida” de un aceite. Es decir, son las horas que aguanta un aceite después de someterlo a una oxidación forzada o inducida. Como ya hemos dicho, cada hora de vida de un aceite, después de someterlo a la prueba del “Rancimat”, equivale aproximadamente a un mes de vida de este.

II.4.2.f. ÁCIDOS GRASOS.

El procedimiento seguido está basado en el método A del anexo X del Reglamento de la CEE 2568/91 (método IUPAC nº 2301 (1987a)). Para ello, se ha realizado el análisis mediante el método de metilación en frío y posterior cromatografía de gases de los ésteres metílicos formados. La metilación en frío es una alternativa a la realizada en caliente. La ventaja que tiene es que es un método mucho más rápido.

Procedimiento.

Se ponen aproximadamente 30 gotas de aceite en un tubo de ensayo provisto con tapón de rosca. Se añaden 30 gotas de solución metanólica de hidróxido potásico KOH 0.2 N y a continuación 3 ml. de hexano P.A. Se tapa el tubo y se agita violentamente durante un minuto aproximadamente. Se dejan decantar las fases orgánica y acuosa. En la fase de hexano se encuentran los ésteres metílicos de los ácidos grasos. A continuación, en un cromatógrafo de gases preparado para ésta determinación, se inyectan 0.3 µl. de la fase orgánica.

Condiciones del cromatógrafo de gases.

El cromatógrafo de gases empleado es de la marca Hewlett-Packard, modelo HP5890 serie II. Consta dos canales con inyector split-splitless y dos detectores de ionización de llama FID.

- Columnas: Columnas capilares de la marca Supelco SP2380 con una película interna de Poli (90% biscianopropil) 10% cianopropilfenilsiloxano con una longitud de 60 m por 0.25 mm de diámetro interno por 0.2 µm. de espesor de película.

Las condiciones de temperatura para la determinación de ácidos grasos son las siguientes:

- Inyector: 250° C.

- Detector: 260° C.

- Horno: (T máxima: 225° C).

(Nivel 1°) T inicial: 150° C. Se asciende 1° C/min. hasta 190° C permaneciendo constante durante 3 min.

(Nivel 2°) Se asciende 4° C/min. hasta 200° C permaneciendo constante 1.5 min.

- Duración del cromatograma: 48 min.

- Gas portador: Hidrógeno.

Resultados.

Los ácidos grasos se expresan en tanto por ciento sobre la totalidad de ellos. Cada pico del cromatograma corresponde a un determinado ácido graso y para la cuantificación de éstos se integran dichos picos encerrando el área correspondiente. Según el tamaño de cada pico tendrá un valor más grande o más pequeño. El porcentaje de cada uno de los ácidos grasos es la razón entre el área del pico correspondiente y la suma de las áreas de todos los picos de los ácidos grasos multiplicado por cien.

$$\% \text{ del ácido graso } x = \left(\frac{A_x}{\sum A} \right) \cdot 100 \quad (\text{II.8})$$

siendo:

A_x : el área del pico x.

$\sum A$: la suma de las áreas de todos los picos.

De ésta forma, la suma de los porcentajes de todos los ácidos grasos es el 100%.

Perfil del cromatograma de ácidos grasos.

En la gascromatografía de ácidos grasos, el cromatograma resultante, que aparece en la figura II.4, da el perfil siguiente de los distintos ácidos grasos con sus nombres y número de átomos de carbono y de insaturaciones. Los ácidos grasos normalmente están en posición *cis* por naturaleza, pero puede que parcialmente alguno de ellos se de en posición *trans*. Son los casos del ácido oleico que tiene un pico isómero *trans*, el ácido linoleico que tiene dos picos isómeros *trans* y el ácido linolénico que puede presentar hasta cuatro picos isómeros *trans*. También se da la isomería de posición como en el ácido palmitoleico, que en el cromatograma aparece desdoblado en dos picos por estar el doble enlace en distinto número de átomo de carbono.

Ácido mirístico. (C14:0)

Ácido palmítico. (C16:0)

Ácido palmitoleico. (C16:1)

Ácido margárico. (C17:0)

Ácido margaroleico. (C17:1)

Ácido esteárico. (C18:0)

Ácido *trans*-oleico. (C18:1)

Ácido oleico. (C18:1)

Ácido *trans*-linoleico. (C18:2)

Ácido linoleico. (C18:2)

Ácido *trans*- linolénico. (C18:3)

Ácido linolénico. (C18:3)

Ácido aráquico. (C20:0)

Ácido gadoleico. (C20:1)

Ácido behénico. (C22:0)

Ácido lignocérico. (C24:0)

Hemos de decir que con la columna empleada, el ácido aráquico se separa antes que el ácido linolénico con sus correspondientes isómeros *trans*.

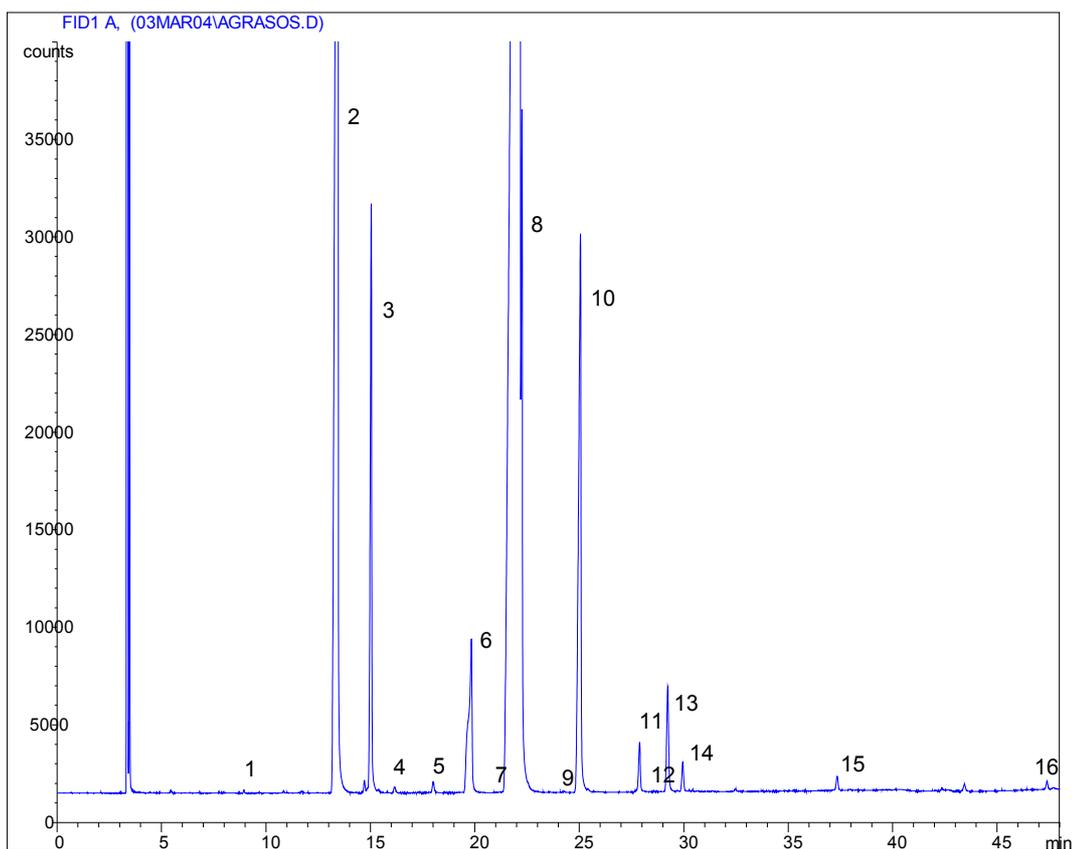


Figura II.4.- Cromatograma de ácidos grasos. 1, ácido mirístico; 2, ácido palmítico; 3, ácido palmitoleico; 4, ácido margárico; 5, ácido margaroleico; 6, ácido esteárico; 7, ácido trans-oleico; 8 ácido oleico; 9, ácido trans-linoleico; 10, ácido linoleico; 11, ácido aráquico; 12, ácido trans-linolénico; 13, ácido linolénico; 14, ácido Gadoleico; 15, ácido behénico; 16, ácido lignocérico.

II.4.2.g. TRIGLICÉRIDOS.

La determinación de los triglicéridos se realizó, siguiendo el método del Reglamento de la CEE 2568/91 en su anexo VIII (1991), por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Éste método permite efectuar la separación y determinación de la composición de los triglicéridos de los aceites vegetales según su peso molecular y grado de insaturación expresado por su número equivalente de carbonos mediante cromatografía de líquidos de alta resolución en fase inversa.

Procedimiento.

Se pesan 0.2 g. de aceite en un vial de 2 ml. de capacidad. Se disuelve el aceite en acetona hasta completar el vial y se tapa con un tapón con septum. Se inyecta en el cromatógrafo líquido 10 µl. del vial conteniendo el aceite disuelto en acetona.

Condiciones del cromatógrafo líquido (HPLC).

El cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) empleado es de la marca Hewlett-Packard, serie 1050. Consta de cuatro módulos: un módulo con una bomba cuaternaria, un módulo, en donde va la columna, con control termostático de la temperatura de la columna, otro módulo con un inyector automático con una bandeja con capacidad para 21 viales para muestras, y por último, un detector de índice de refracción HP1047-A.

- Columna: Licrospher 100 de Merck RP-18 con una longitud de 250 mm y 4.6 mm de diámetro interior, rellena de partículas de sílice de 5 µm de diámetro.
- Temperatura de la columna: 40° C.
- Fase móvil: Acetona/Acetonitrilo al 50 %.
- Gradiente: Isocrático.
- Flujo de la fase móvil: 1.2 ml/min.
- Duración del cromatograma: 31 minutos.

Resultados.

Para el cálculo de los triglicéridos se utiliza el método de normalización interna, es decir, se considera que la suma de las áreas de los picos de los diferentes triglicéridos es igual a 100 %. Se calcula el porcentaje de cada triglicérido mediante la fórmula:

$$\% \text{ del triglicérido } x = \frac{A_x}{\sum A} \cdot 100 \quad (\text{II.9})$$

donde,

A_x : área del pico.

ΣA : sumatorio de las áreas de todos los picos.

El resultado se da con un solo decimal.

Perfil del cromatograma de los triglicéridos.

El orden de aparición de los distintos triglicéridos es de menor a mayor número equivalente de carbonos. El cálculo del número equivalente de carbono viene dado por la fórmula:

$$ECN = CN - 2n \quad (\text{II.10})$$

siendo,

CN: número de carbonos.

n: número de enlaces dobles.

Así, por el número de equivalente de carbonos, el orden de aparición de los triglicéridos es el siguiente:

ECN 42

LLL, LLnO, PLnO

ECN 44

OLL, PoOL, PLL, LnOO, POLn

ECN 46

OLO, PoOO, PLO, SLL, PPL

ECN 48

OOO, POO, SOL, POP, PLS

OTROS

1), 2), 3).

El perfil cromatográfico de los triglicéridos es el siguiente:

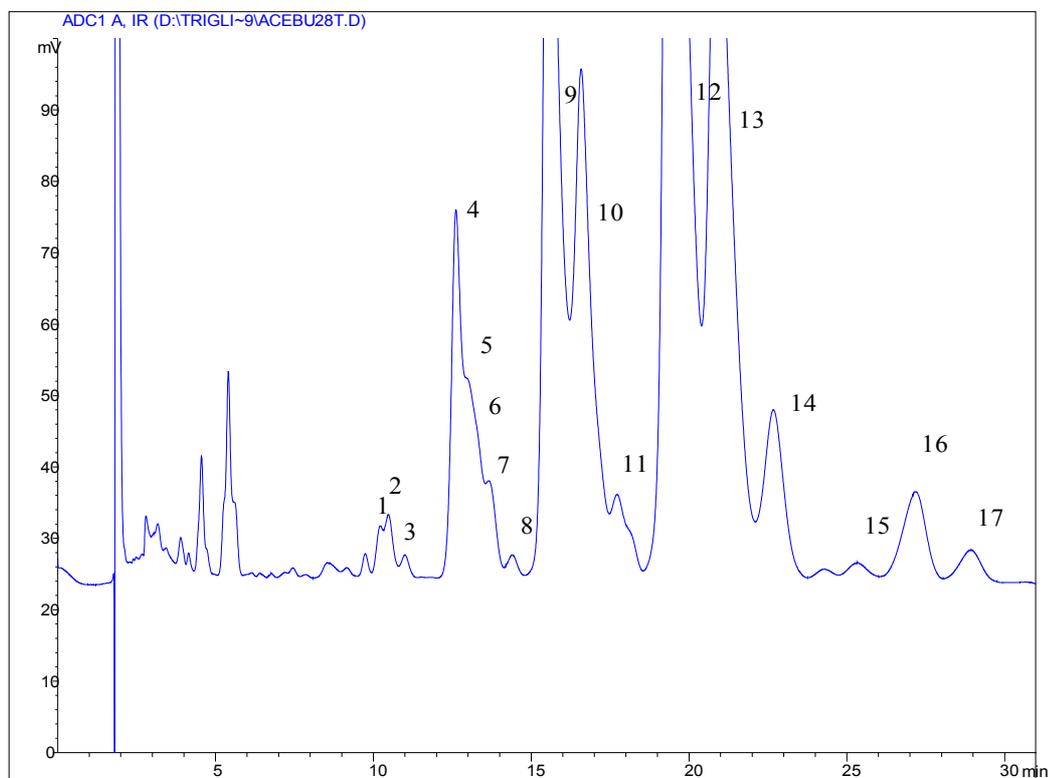


Figura II.5.- Cromatograma de triglicéridos. 1, LLL; 2, LLnO; 3, PLnO; 4, OLL; 5, PoOL; 6, PLL; 7, LnOO; 8, POLn; 9, OLO + PoOO; 10, PLO + SLL; 11, PPL; 12, OOO + POO; 13, SOL + POP; 14, PLS; 15, 16 y 17(sin identificar).

En el cromatograma aparecen picos que son la suma de dos triglicéridos, como son los casos: OLO+PoOO, PLO+SLL, POO+SOL, POP+PLS. En el grupo, que hemos denominado “otros” aparecen tres picos que no están identificados.

II.4.2.h. ESTEROLES.

La determinación de los esteroides se realizó siguiendo el método del Reglamento de la CEE 2568/91, en concreto en el Anexo V, mediante cromatografía de gases con columna capilar. La separación de la fracción de los esteroides en el insaponificable se realizó mediante recolección de fracciones por HPLC (Varona-Viera & León-Camacho, 1995). Los esteroides se determinan por cromatografía de gases tras derivatización de éstos como sililesteroides. Éste método determina el contenido de esteroides en las

materias grasas, expresado como contenido de cada uno de los esteroides analizados y como contenido total de esteroides.

Procedimiento.

En un matraz erlenmeyer de 250 ml se pesan 5 g de aceite. Se le añade 0.5 ml de patrón interno α -colestanol al 0.2 % en etanol para la cuantificación de los esteroides. Se le añade 50 ml de solución etanólica 2 N de hidróxido potásico KOH. Se coloca el matraz provisto de una varilla de reflujo en una placa calefactora. Se hierve durante 20 minutos para saponificar el aceite. Transcurrido éste tiempo se enfría. A continuación se vierte el contenido del matraz en un embudo de decantación de 500 ml y se procede a extraer la muestra con 100 ml de agua y 100 ml de éter dietílico. Se extraen dos veces más con 50 ml de éter. Los extractos etéreos se transvasan previamente a otro embudo de decantación de 500 ml. Una vez reunidos los volúmenes de las tres extracciones se lava por cinco veces el éter con porciones de 40 ml de agua. Se da por lavado el extracto etéreo cuando añadiendo fenoltaleína no da coloración rosada, indicando que no hay presencia de jabones ni de potasa. El extracto etéreo lavado se pasa a un matraz de 250 ml a través de un embudo provisto con papel de filtro en el que se pone un poco de sulfato sódico para eliminar restos de humedad. Se lleva el matraz a un rotavapor y se destila todo el éter quedando la materia insaponificable. Por tanto, mediante la extracción hemos separado la materia jabonosa de la insaponificable.

Como ya dijimos anteriormente en el insaponificable, además de otros productos, se encuentran los esteroides junto al eritrodiol y el uvaol, los alcoholes alifáticos, los hidrocarburos esteroideos, etc. Para la separación de los distintos componentes que conforman el insaponificable se empleó la técnica de separación de fracciones por cromatografía líquida (HPLC) (Varona-Viera & León-Camacho, 1995). Para ello, el insaponificable que queda en el matraz después de haber destilado el éter, se redisuelve con 2 ml de disolvente mezcla hexano/éter dietílico al 50 %. Se introduce el insaponificable rediseuelto en un vial de aproximadamente 2 ml y se cierra con un tapón con septum. Se inyectan 200 μ l en el cromatógrafo líquido y, en un matraz de corazón de 50 ml, se colecta la fracción que interesa visualizándola en la pantalla del ordenador que controla el equipo. El primer grupo que aparece son los alcoholes grasos, después los esteroides junto al eritrodiol y el uvaol que vienen más tarde. Las

condiciones del cromatógrafo líquido (HPLC) para recolectar las fracciones de esteroides con el eritrodol y el uvaol y también la de los alcoholes alifáticos y triterpénicos, es decir, alcoholes grasos, son las siguientes:

El cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) empleado es de la marca Hewlett-Packard, serie 1050. Consta de cuatro módulos: un módulo con una bomba cuaternaria, un módulo en donde va la columna, con control termostático de la temperatura de la columna, otro módulo con un inyector automático con una bandeja con capacidad para 21 viales para muestras, y por último, un detector de índice de refracción HP 1047-A.

- Columna: Licrospher Si-60 de Merck con una longitud de 250 mm y 4.6 mm de diámetro interno, y 5 μ m de tamaño de partícula.

- Temperatura de la columna: 40° C.

- Fase móvil: Hexano/éter dietílico al 50 %.

- Gradiente: Isocrático.

- Flujo de la fase móvil: 1.5 ml/min.

- Duración del cromatograma: 18 minutos.

Aproximadamente a partir del minuto 7, se recoge la fracción que contiene a los esteroides junto al eritrodol más el uvaol disueltos en la mezcla de disolventes hexano/éter dietílico al 50 %. Se destila el matraz de corazón que los contiene en el rotavapor.

Para ver los esteroides por cromatografía gaseosa, previamente hay que transformarlos en trimetilsililéteres mediante el reactivo de silanización. Éste reactivo es una mezcla de piridina, hexametildisilazano, trimetilclorosilano en la proporción 9:3:1 (v/v/v). Con ésta operación de derivatización de esteroides, transformándolos en trimetilsililesteroides, se consigue que disminuya sus puntos de ebullición, y por tanto, se

acorta el tiempo de la cromatografía. Al matraz de corazón seco con los esteroides se le añade 0.15 ml de reactivo silanizante. Se tapa el matraz y se procura mojar todas las paredes del mismo con el silanizante. Se deja reposar durante veinte minutos antes de la inyección y se centrifuga el matraz durante unos minutos. Transcurrido el tiempo de silanización, se inyecta en el cromatógrafo de gases.

Condiciones del cromatógrafo de gases.

El cromatógrafo de gases que se empleó es de la marca Hewlett-Packard modelo 6890. Consta de dos canales con dos inyectores split-splitless y dos detectores de ionización de llama (FID).

- Columnas: Columnas capilares de la marca Zebron, modelo ZB-5 de 375° C de temperatura máxima con una película interna de Fenilpolisiloxano al 5 % con una longitud de 30 m por 250 µm de diámetro interno por 0.25 µm de espesor de película.

Las condiciones de temperatura para la determinación de los esteroides son las siguientes:

- Inyector: 300° C.

- Detector: 300° C.

- Horno: (T máxima 340° C).

(Nivel 1°) T inicial: 230° C. Se asciende 4° C/min. hasta 270° C permaneciendo constante durante 1 min.

(Nivel 2°) De 270° C se asciende 1° C/min. hasta 275° C permaneciendo constante durante 24 min.

- Duración del cromatograma: 40 min.

- Gas portador: Hidrógeno.

Resultados.

Para la determinación de los esteroides se parte de la igualdad:

$$\frac{\sum A_{esteroides}}{m} = \frac{A_{patrón}}{m_{patrón}} \quad (\text{II.11})$$

y por lo tanto, la totalidad de los esteroides en mg/Kg de aceite vendrá dada por la fórmula.

$$\text{Esteroides totales} = \frac{\sum A_{esteroides} \cdot m_{patrón}}{A_{patrón} \cdot m} \quad (\text{II.12})$$

siendo:

$\Sigma A_{esteroides}$: sumatorio de todas las áreas de los picos de los esteroides.

$A_{patrón}$: área del patrón..

$m_{patrón}$: peso del patrón en miligramos.

m : peso de la muestra tomado para la determinación en gramos.

El porcentaje de cada uno de los esteroides simples es la razón entre el área del pico correspondiente y la suma de las áreas de los picos de los esteroides.

$$\% \text{ del esteroil } x = \frac{A_x}{\sum A} \cdot 100 \quad (\text{II.13})$$

siendo:

A_x : área del pico de x

ΣA : suma de las áreas de todos los picos.

Perfil del cromatograma de los esteroides.

El cromatograma de los esteroides junto con el eritrodioil mas el uvaol es el siguiente:

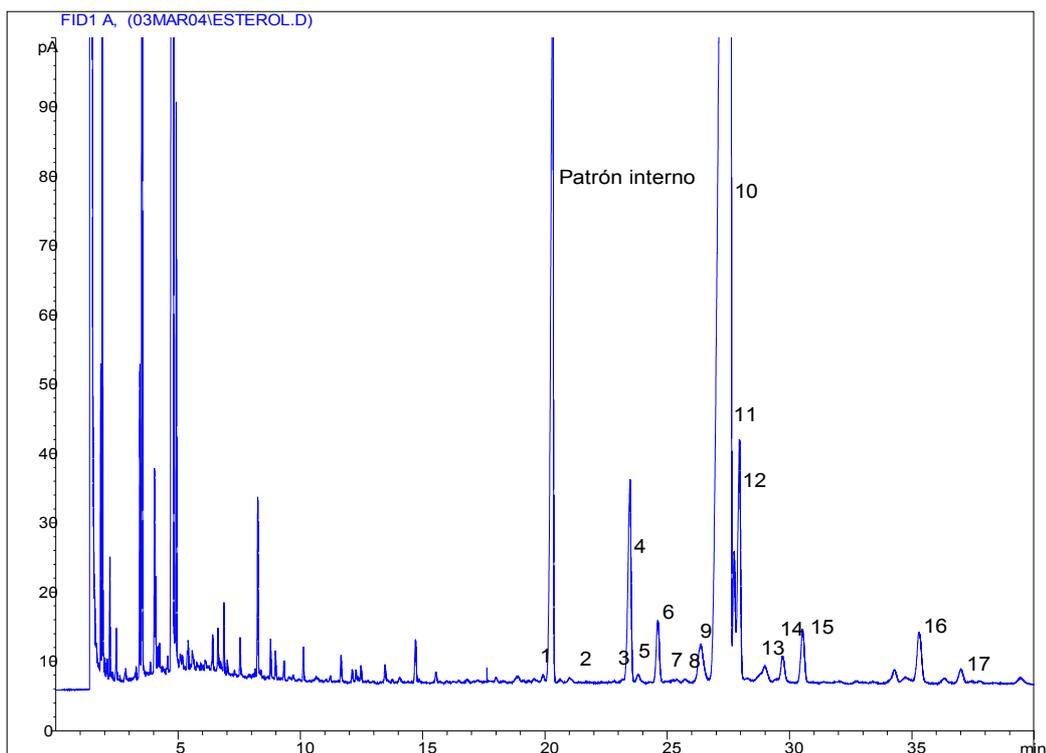


Figura II.6.- Cromatograma de esteroides más eritrodol y uvaol. 1, colesterol; patrón interno; 2, brasicasterol; 3, 24-metilen-colesterol; 4, campesterol; 5, campestanol; 6, estigmasterol; 7, δ -7-campesterol; 8, δ -5-23-estigmasterol; 9, clerosterol; 10, β -sitosterol; 11, sitostanol; 12, δ -5-avenasterol; 13, δ -5-24-estigmastadienol; 14, δ -7-estigmasterol; 15, δ -7-avenasterol; 16, eritrodol; 17, uvaol.

El orden de aparición de los distintos esteroides de los aceites de acebuchina y de oliva en el cromatograma, incluyendo el patrón interno, es el siguiente:

Colesterol.

α -colestanol (patrón interno).

Brasicasterol.

24-metilen-colesterol.

Campesterol.

Campestanol.

Estigmasterol.

Δ -7-campesterol.

Δ -5-23-estigmasterol.

Clerosterol.

β -sitosterol.
 Sitostanol.
 Δ -5-avenasterol.
 Δ -5-24-estigmastadienol.
 Δ -7-estigmastenol.
 Δ -7-avenasterol.

II.4.2.i. ERITRODIOL MÁS UVAOL.

La determinación de eritrodiol y uvaol se realizó siguiendo el Anexo VI del Reglamento 2568/91 de la CEE (1991), mediante cromatografía gaseosa capilar, en el que se expresa en porcentaje de eritrodiol más uvaol respecto del conjunto de eritrodiol más esteroides. Es decir, la cuantificación del eritrodiol se realiza como si fuera un esteroide más, lo mismo que el uvaol.

Procedimiento.

El procedimiento seguido es el mismo que el empleado en la determinación de esteroides. Se recoge la fracción que contiene a los esteroides junto al eritrodiol más el uvaol, como se ha indicado anteriormente.

Resultados.

El contenido de eritrodiol según el Reglamento de la CEE 2568/91 se expresa como suma del eritrodiol más el uvaol mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de eritrodiol} = \frac{A_1 + A_2}{A_1 + A_2 + \sum A_{\text{esteroides}}} \cdot 100 \quad (\text{II.14})$$

siendo:

A_1 : área del pico del eritrodiol.

A_2 : área del pico del uvaol.

$\sum A_{\text{esteroides}}$: suma de las áreas de los esteroides presentes.

Se cuantifica el eritrodiol más el uvaol como tanto por ciento sobre la totalidad de los esteroides. Los resultados se expresan con una cifra decimal.

Perfil del cromatograma de los esteroides mas el eritrodiol y el uvaol.

El orden de aparición en el cromatograma (ver figura II.6) de los distintos esteroides junto con el eritrodiol más el uvaol de los aceites de acebuchina y de oliva es el siguiente:

Colesterol.
Brasicasterol.
24-metilen-colesterol.
Campesterol.
Campestanol.
Estigmasterol.
 Δ -7-campesterol.
 Δ -5-23-estigmasterol.
Clerosterol.
 β -sitosterol.
Sitostanol.
 Δ -5-avenasterol.
 Δ -5-24-estigmastadienol.
 Δ -7-estigmastenol.
 Δ -7-avenasterol.
Eritrodiol.
Uvaol.

El eritrodiol mas el uvaol, aunque son dialcoholes triterpénicos, se cuantifican como si fueran esteroides según la norma del Reglamento 2568/91 de la CEE y posteriores modificaciones.

II.4.2.j. ALCOHOLES ALIFÁTICOS.

El uso de columnas capilares ha facilitado enormemente este análisis, dado el poder de resolución de estas columnas. Para el análisis de los alcoholes alifáticos se aplicó el método recogido en el Anexo XIX del Reglamento 2568/91 de la CEE. También aquí se han separado los alcoholes alifáticos del insaponificable por recolección de la fracción correspondiente por HPLC (Varona-Viera & León-Camacho, 1995). En este método se determina el contenido de alcoholes alifáticos mediante cromatografía de gases con columna capilar.

Procedimiento.

En un matraz erlenmeyer de 250 ml se pesan 5 g de aceite. Se le añade 0.5 ml de patrón interno 1-eicosanol al 0.2 % en alcohol para la cuantificación de los alcoholes alifáticos. Se le añade 50 ml de solución etanólica 2 N de hidróxido potásico KOH. Se coloca el matraz provisto de una varilla de reflujo en una placa calefactora. Se hierve durante 20 minutos para saponificar el aceite. A partir de aquí el procedimiento es el mismo al seguido en la determinación de los esteroides y del eritrodiol más el uvaol. La única diferencia es que en el caso de los alcoholes alifáticos, el tiempo, en el que se recoge por HPLC la fracción del insaponificable que los contiene, es aproximadamente en el minuto 3.5.

Una vez separada la fracción que contiene a los alcoholes alifáticos disueltos en la mezcla de disolventes hexano/éter dietílico al 50 %, se destila el matraz de corazón que los contiene en el rotavapor.

Para ver los alcoholes alifáticos por cromatografía gaseosa, previamente hay que transformarlos en trimetilsililéteres mediante el reactivo de silanización. Éste reactivo es una mezcla de piridina, hexametildisilazano, trimetilclorosilano en la proporción 9:3:1 (v/v/v). Al matraz de corazón seco con los alcoholes se le añade 0.15 ml de reactivo silanizante. Se tapa el matraz y se procura mojar todas las paredes del mismo con el silanizante. Se deja reposar durante veinte minutos antes de la inyección y se centrifuga el matraz durante unos minutos. Transcurrido el tiempo de silanización, se inyectan 3 μ l en el cromatógrafo de gases.

Condiciones del cromatógrafo de gases.

El cromatógrafo de gases que se empleó es de la marca Hewlett-Packard modelo 6890. Consta de dos canales con dos inyectores split-splitless y dos detectores de ionización de llama (FID).

- Columnas: Columnas capilares de la marca Zebron, modelo ZB-5 de 375° C de temperatura máxima con una película interna de Fenilpolisiloxano al 5 % con una longitud de 30 m por 250 µm de diámetro interno por 0.25 µm de espesor de película.

Las condiciones de temperatura para la determinación de los alcoholes alifáticos son las siguientes:

- Inyector: 300° C.

- Detector: 300° C.

- Horno: (T máxima 340° C)

(Nivel 1°) T inicial: 230° C. Se asciende 4° C/min. hasta 290° C permaneciendo constante durante 6 min.

(Nivel 2°) De 290° C se asciende 10° C/min. hasta 320° C permaneciendo constante durante 3 min.

- Duración del cromatograma: 30 min.

- Gas portador: Hidrógeno.

Resultados.

Para calcular el porcentaje de cada uno de los alcoholes alifáticos se utiliza la fórmula siguiente:

$$\% \text{ del alcohol } x = \frac{A_x}{\sum A} \cdot 100 \quad (\text{II.15})$$

siendo:

A_x : área del alcohol x.

ΣA : suma de las áreas de los picos de los alcoholes alifáticos.

Para cuantificar la totalidad de los alcoholes alifáticos que contiene un aceite en mg/Kg se emplea la fórmula:

$$\text{Alcoholes alifáticos totales} = \frac{\sum A_{\text{alcoholes}} \cdot m_{\text{patrón}}}{A_{\text{patrón}} \cdot m} \quad (\text{II.16})$$

siendo:

$\Sigma A_{\text{alcoholes}}$: sumatorio de todas las áreas de los picos de los alcoholes alifáticos.

$A_{\text{patrón}}$: área del patrón.

$m_{\text{patrón}}$: peso del patrón en miligramos.

m : peso de la muestra en gramos.

Según el Reglamento de la CEE 2568/91 los alcoholes que se integran en el cromatograma, son sólo los de cadena par, es decir, el docosanol (C-22), el teracosanol (C-24), el hexacosanol (C-26) y el octacosanol (C-28). A partir de estos alcoholes se cuantifica la totalidad de ellos presentes en los aceite de oliva. Sin embargo, en el presente trabajo también se han tomado en consideración los alcoholes alifáticos de cadena impar para tener más información en el estudio de los aceites de acebuchina. Es decir, aparte de los alcoholes de cadena par, también se han integrado los de número de átomos de carbono impar como el monocosanol (C-21), el tricosenol (C-23), el pentacosanol (C-25) y el heptacosanol (C-27). Teniendo en cuenta los alcoholes de número de átomos de cadena par e impar, se ha cuantificado también la totalidad de los alcoholes alifáticos con los ocho picos.

Perfil del cromatograma de los alcoholes alifáticos.

El perfil del cromatograma de los alcoholes alifáticos de los aceites de acebuchina y de oliva es el siguiente:

Eicosanol (patrón interno)

Monocosanol (C-21)

Dicosanol (C-22)

Tricosanol (C-23)

Tetracosanol (C-24)

Pentacosanol (C-25)

Hexacosanol (C-26)

Heptacosanol (C-27)

Octacosanol (C-28)

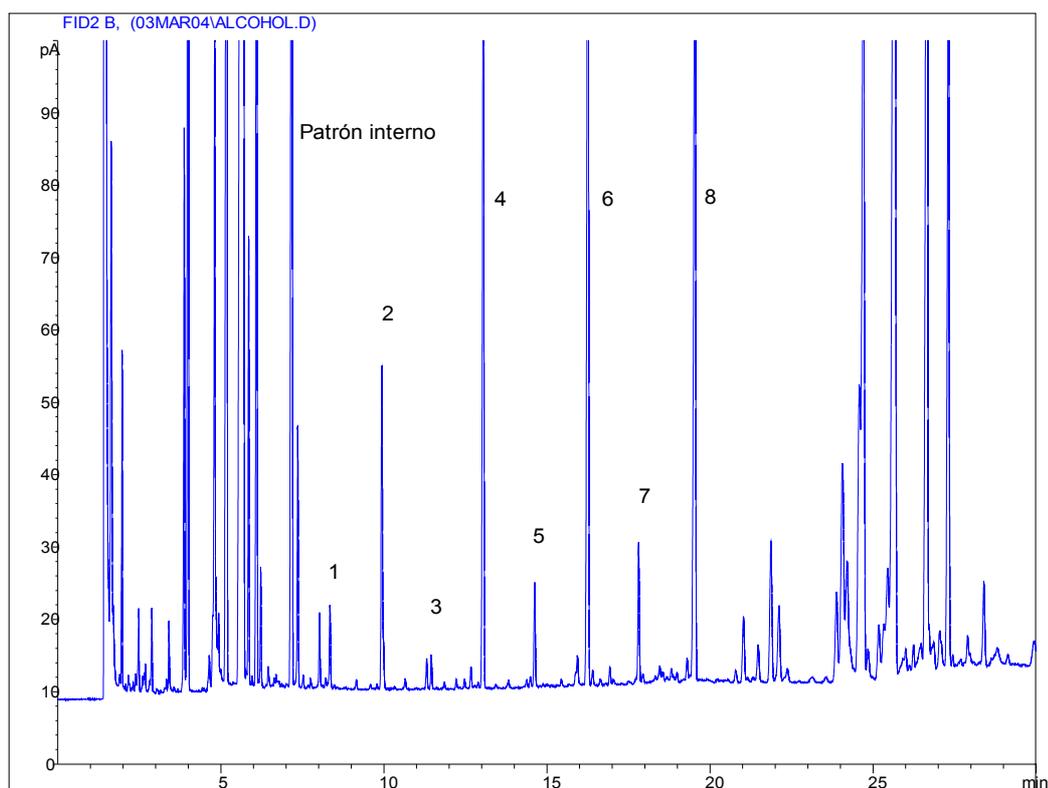


Figura II.7.- Cromatograma de alcoholes alifáticos. Patrón interno; 1, monocosanol; 2, dicosanol; 3, tricosanol; 4, tetracosanol; 5, pentacosanol; 6, hexacosanol; 7, heptacosanol; 8, octacosanol.

II.4.2.k. CERAS.

Las ceras son ésteres de alcoholes grasos con ácidos grasos libres.

El procedimiento seguido para la determinación de ceras es el indicado en el Anexo IV del Reglamento 2568/91 de la CEE mediante cromatografía de gases con columna capilar.

Procedimiento.

Se pesan 0.5 g de aceite en un vaso de 100 ml. Se le añaden 1 ml de patrón interno de laurilaraquidato al 0.01% en hexano y dos gotas de disolución de colorante de Sudán I al 1 %.

Por otro lado, se prepara una columna de cromatografía en la que se le añaden 15 g de gel de sílice que se compactan. Se moja la sílicagel con disolvente de hexano-éter dietílico (fase móvil: 1000 ml de hexano más 20 ml de éter dietílico). Una vez acondicionada la columna cromatográfica, se transfiere a ésta la muestra preparada con ayuda de dos porciones de 2 ml de hexano, recogién dose por la parte inferior de la columna en un matraz de 250 ml.

Se deja fluir el disolvente hasta que se sitúe a 1 mm por encima del nivel superior del absorbente. A continuación, se inicia la elución cromatográfica añadiendo aproximadamente 140 ml de fase móvil (hexano-éter dietílico en la proporción 1000 ml más 20 ml) de manera que la velocidad de goteo sea aproximadamente de una gota por segundo, es decir, un flujo de 2 ml/min. Se termina completamente la elución de las ceras en la columna de gel de sílice, cuando el colorante Sudán I llega al altura del plato poroso (parte inferior de la columna). Según León-Camacho y Cert (1994), el factor de respuesta (r_f) de este colorante está comprendido entre el de las ceras y el de los triglicéridos, lo que permite visualizar la completa elución de las ceras.

Se seca la fracción resultante en un rotavapor hasta que se haya eliminado todo el disolvente. Se añaden a continuación 2 ml de n-heptano redisolviendo las ceras que

están pegadas a las paredes del matraz. La muestra queda lista para la inyección por cromatografía de gases. Se inyectan en el cromatógrafo de gases 2.5 µl.

Condiciones del cromatógrafo de gases.

El cromatógrafo de gases que se empleó es de la marca Hewlett-Packard modelo 6890. Consta de dos canales con dos inyectores “on column” y dos detectores de ionización de llama (FID).

- Columnas: Columnas capilares de la marca Zebron, modelo ZB-5 de 375° C de temperatura máxima con una película interna de Fenilpolisiloxano al 5 % con una longitud de 15 m por 320 µm de diámetro interno por 0.25 µm de espesor de película.

Las condiciones de temperatura para la determinación de las ceras son las siguientes:

- Inyector: (en rampa). (Nivel 1°) T inicial: 75° C. Se asciende 25° C/min. hasta 300° C permaneciendo constante durante 48.50 min.

- Detector: 340° C.

- Horno: (T máxima 375° C).

(Nivel 1°) T inicial: 80° C. Se asciende 30° C/min. hasta 150° C.

(Nivel 2°) De 150° C se asciende 6° C/min. hasta 325° C permaneciendo constante durante 5 min.

(Nivel 3°) De 325 ° C se asciende 10°/min. hasta 340° C permaneciendo constante durante 2 min.

(Nivel 4°) De 340° C se asciende 20°/min. hasta 350° C permaneciendo constante durante 17.5 min.

- Duración del cromatograma: 58 min.

- Gas portador: Hidrógeno.

Resultados.

Para calcular el porcentaje de cada uno de las ceras se utiliza la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de ceras } x = \frac{A_x}{\sum A} \cdot 100 \quad (\text{II.17})$$

siendo:

A_x : área de las ceras x.

ΣA : suma de las áreas de los picos de las ceras.

Para cuantificar la totalidad de las ceras que contiene un aceite en mg/Kg se emplea la fórmula:

$$\text{Ceras totales} = \frac{\sum A_{\text{ceras}} \cdot m_{\text{patrón}}}{A_{\text{patrón}} \cdot m} \quad (\text{II.18})$$

siendo:

ΣA_{ceras} : sumatorio de todas las áreas de los picos de las ceras.

$A_{\text{patrón}}$: área del patrón.

$m_{\text{patrón}}$: peso del patrón en miligramos.

m : peso de la muestra en gramos.

Según el Reglamento 2568/91 de la CEE se cuantifica el contenido de ceras totales al integrar solamente las ceras C40, C42, C44 y C46 con respecto al patrón interno de laurilaraquidato. Nosotros, además de las ceras anteriores, también hemos tenido en cuenta la C34, C36 y C38, calculando así el contenido de ceras totales. También hemos visto el tanto por ciento de cada cera sobre la totalidad de las mismas. Todo esto se ha hecho para sacar más información sobre el estudio de los aceites de acebuchina.

Perfil del cromatograma de las ceras.

El perfil que presenta el cromatograma (figura II.8) de las ceras de los aceites de acebuchina y de oliva es el siguiente:

Laurilaraquidato (patrón interno)

C34

C36

C38

C40

C42

C44

C46

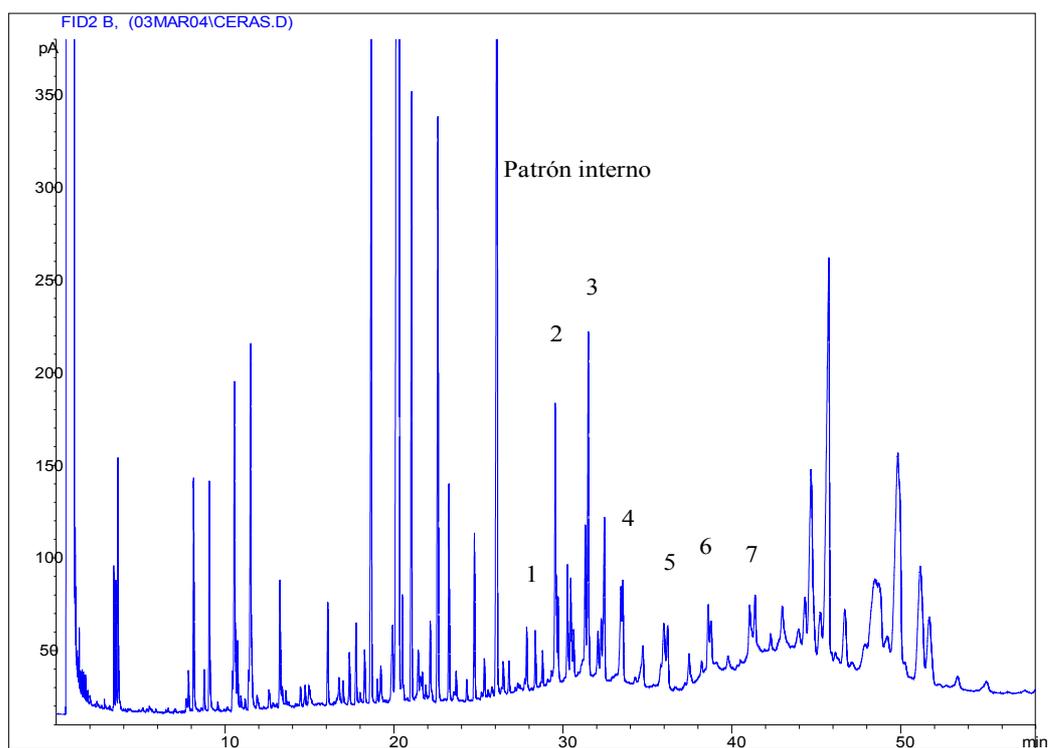


Figura II.8.- Cromatograma de ceras. Patrón interno; 1, C34; 2, C36; 3; C38, 4, C40; 5, C42; 6, C44; 7, C46.

Hemos de decir que solamente hemos tenido en cuenta las ceras de número par de átomos de carbono ya que son las mayoritarias.

II.4.2.1. TOCOFEROLES.

Para la determinación de tocoferoles se siguió el procedimiento contemplado en el método 2432 de la IUPAC (IUPAC, 1987d) por cromatografía líquida de alta resolución con detector de fluorescencia.

Procedimiento.

Se pesan 150 mg de aceite, previamente filtrado, en un matraz aforado de 10 ml. Se enrasa con disolvente n-hexano. Se tapa y se agita disolviendo el aceite en el hexano. Se rellena un vial de unos 2 ml de capacidad provisto con tapón con septum. Se mide directamente en el HPLC con detector de fluorescencia, inyectándose 20 μ l de muestra.

Previamente se calibra el equipo con soluciones estándar de todos los tocoferoles. Para ello, fabricamos patrones de concentraciones de 40, 100, 150 y 200 mg/Kg de los cuatro tocoferoles (α , β , γ y δ) y se construyen las gráficas de calibrado con esos cuatro puntos.

Condiciones del cromatógrafo líquido (HPLC).

El cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) empleado es de la marca Merck-Hitachi "Lachrom". Consta de cuatro módulos: una bomba Lachrom L-7100, un módulo, en donde va la columna, con control termostático de la temperatura de la columna, un inyector automático Lachrom L-7200 con una bandeja con capacidad para 100 viales para muestras, y por último, un detector de fluorescencia Lachrom L-7485.

- Columna: Licrospher Si-60 de Merck con una longitud de 250 mm y 4.6 mm de diámetro interno, con un tamaño de partículas de 5 μ m.

- Temperatura de la columna: 40° C.

- Fase móvil: 99.3 % de n-hexano y 0.7 % de 1-propanol.

- Gradiente: Isocrático.

- Flujo de la fase móvil: 1.0 ml/min.
- Longitudes de onda del detector de fluorescencia:

$$\lambda_{\text{ext}} = 290 \text{ nm y } \lambda_{\text{em}} = 330 \text{ nm.}$$

- Duración del cromatograma: 25 minutos.

Resultados.

Para cuantificar cada uno de los tocoferoles, al estar el cromatógrafo calibrado con cada uno de los patrones de éstos, basta con aplicar la siguiente fórmula que los da en mg/Kg.

$$\text{mg/Kg de tocoferol} = \frac{\text{Valor}_{\text{gráfica}} \cdot V_{\text{Dilución}} \cdot \text{Pureza del patrón}}{V_{\text{Inyección}} \cdot P} \cdot 100 \quad (\text{II.19})$$

siendo:

$\text{Valor}_{\text{gráfica}}$: es el valor dado por el programa del cromatógrafo cuando se refiere a las gráficas de calibrado.

$V_{\text{Dilución}}$: es el volumen de dilución del problema.

$V_{\text{Inyección}}$: es el volumen de muestra que se inyecta en el cromatógrafo.

P : es el peso de la muestra en miligramos.

En nuestro caso, como el volumen de dilución es 10 ml, el volumen de inyección de la muestra es 20 μl . y la pureza de los patrones es del 95 %, la fórmula anterior quedaría resumida de la siguiente forma:

$$\text{mg/Kg de tocoferol} = \frac{\text{Valor}_{\text{gráfica}} \cdot 500}{P} \cdot 0.95 \quad (\text{II.20})$$

de donde el número 500 resulta ser el factor de dilución, es decir, que corresponde a una inyección de la muestra 500 veces más pequeña de la que se partió.

En cuanto al número 0.95 proviene de la riqueza del patrón que en éste caso corresponde al 95 % de cada uno de los tocoferoles.

Perfil del cromatograma de tocoferoles.

El orden de aparición en el cromatograma de los tocoferoles en los aceites de acebuchina y de oliva es el siguiente:

α -Tocoferol

β -Tocoferol

γ -Tocoferol

δ -Tocoferol

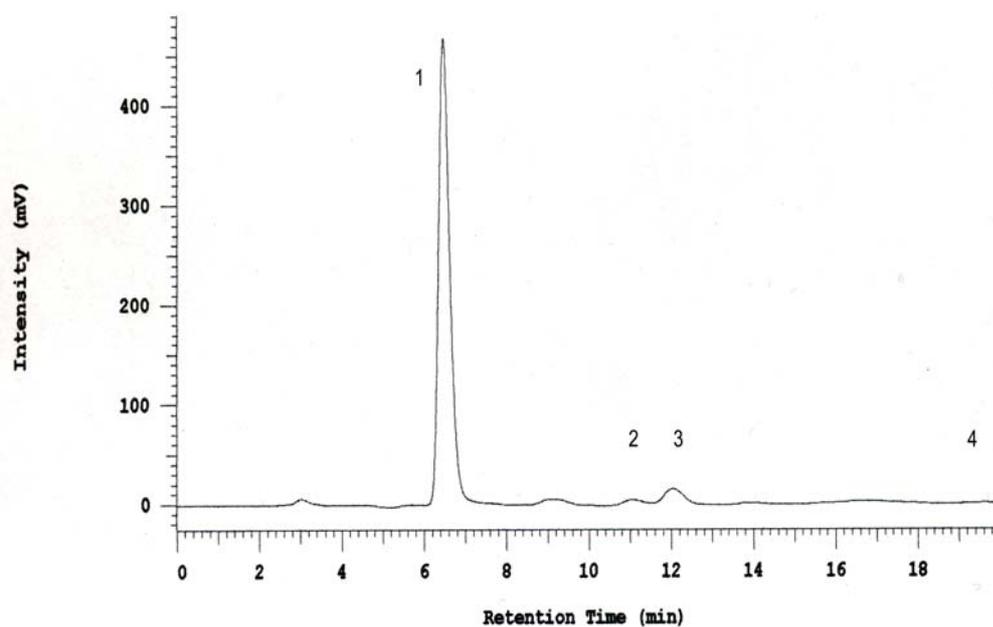


Figura II.9. Cromatograma de tocoferoles. 1, α -tocoferol; 2, β -tocoferol; 3, γ -tocoferol; 4, δ -tocoferol.



Fotografías II.5 a II.8: Cromatógrafos de gases empleados para las determinaciones de ácidos grasos, esteroides, eritrodol más uvaol, alcoholes alifáticos y ceras; cromatógrafos líquido-líquido (HPLC) utilizados para la determinaciones de triglicéridos y tocoferoles; espectrofotómetro molecular UV-VIS.

CAPÍTULO III.-

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS:

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA Y DISCUSIÓN.

III.1. ESTADÍSTICA BÁSICA UTILIZADA.

La mayor parte de los ensayos de significación suponen que los datos que se están examinando siguen la distribución normal. Esto es admisible en ciertas ocasiones teniendo en cuenta el teorema del límite central, que indica cómo una variable aleatoria que es composición de otras muchas, presenta un comportamiento normal. Esta aproximación es tanto más cierta cuanto mayor es el tamaño de la muestra. En el caso de conjuntos pequeños de datos, es dudoso admitir la normalidad y debe probarse. Pero no todos los conjuntos de observaciones han de seguir la distribución normal, pueden ser log-normales, triangulares, uniformes, Beta, Weibull, etc. Por lo tanto, dado que disponemos de tantas variables y que los tamaños de muestra no son muy grandes, en lugar de hacer suposiciones sobre la función de distribución de los datos, emplearemos métodos que prescindan de ella: los métodos NO PARAMÉTRICOS. En estadística no paramétrica, la medida de la tendencia central de un conjunto de datos es la *mediana*. Para calcular la mediana de n observaciones, primero se ordenan (da igual que sea en sentido creciente o decreciente). Entonces, la mediana es:

- El término central, $(n+1)/2$, cuando n es impar.
- La media de los dos términos centrales, $n/2$ y $n/2 + 1$, cuando n es par.

Para hacernos una idea de la dispersión del conjunto de datos, nos basaremos en los *cuantiles*. Se llaman cuantiles los valores de las observaciones que dividen al conjunto en k partes iguales. Hay siempre $k-1$ cuantiles, desde $r = 1$ a $r = k-1$. El percentil se representa por $\tilde{x}_{r/k}$. Si $k = 100$ tenemos los percentiles y si $k = 4$, los cuantiles. Hay tres cuantiles, $\tilde{x}_{1/4}$, $\tilde{x}_{2/4}$ y $\tilde{x}_{3/4}$. Obsérvese que siempre que r/k sea el mismo número racional, los cuantiles también lo serán, es decir: el primer cuartil es igual al vigesimoquinto percentil, $\tilde{x}_{1/4} = \tilde{x}_{25/100} = \tilde{x}_{0.25}$. En este sentido, la mediana $\tilde{x}_{0.50}$ es el segundo cuartil, el quinto decil y el quincuagésimo centil. En estadística no paramétrica, la medida usual de la dispersión el *recorrido intercuartil* $\Delta x = \tilde{x}_{3/4} - \tilde{x}_{1/4}$. La mediana, el primer y tercer cuartil y los valores extremos de la serie de datos es lo que en análisis exploratorio de datos recibe el nombre de "resumen en cinco números" y su representación típica es el *whisker box plot* (representación de caja y bigotes). En su forma normal, este diagrama consiste en un rectángulo (la caja) con dos líneas (los bigotes) que se extienden desde los lados opuestos. Los extremos de los bigotes corresponden al valor mínimo y máximo de los datos. Los lados de la caja desde donde salen los bigotes corresponden al primer y tercer cuartil y la línea ó el cuadrado central que cruza la caja representa la mediana (figura III.1).

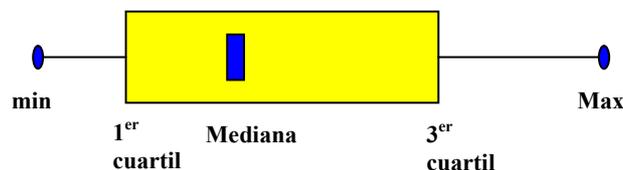


Figura III.1. Representación gráfica "box and whisker" o de caja y bigotes.

Esta representación es muy ilustrativa, pues nos muestra el valor más probable del conjunto de datos junto con la dispersión correspondiente al 50% de los datos más próximos a la mediana. Además muestra la simetría del conjunto de datos, sugiriendo la forma de la función de distribución.

III.2. FRUTOS (ACEBUCHINAS).

III.2.1. CALIBRE DE LOS FRUTOS.

En las tablas III.1 y III.2 se contempla el estudio de los frutos de las acebuchinas. En la tabla III.1 se expone el color de los frutos, el peso de 100 unidades y el peso medio unitario así como el tamaño de los frutos a lo largo y a lo ancho. Como se observa existe una variabilidad de los frutos. Las muestras de acebuchinas 2A, 15, 15A y 15B, debido a la escasez de muestra de que se disponía y además del grado de deterioro que sufrían los frutos, no se les vió ni el calibre ni el peso de los mismos. Lógicamente a la muestra 16 tampoco se le hizo esta práctica debido a que se trata de una muestra envasada de aceite, presuntamente, de acebuchina.

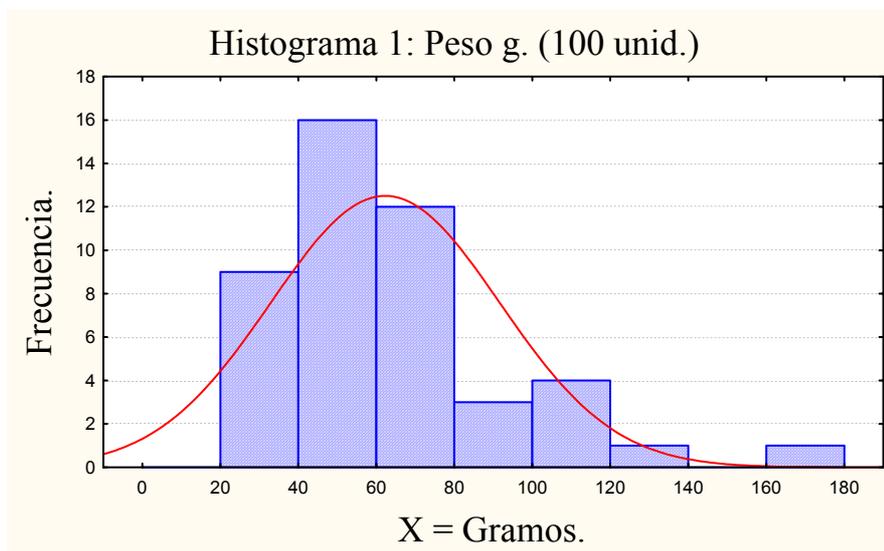
Tabla III.1. ESTUDIO DE LOS FRUTOS DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Color	PESO (100 unidades(g))	PESO (Unitario(g))	TAMAÑO (Largo(cm.))	TAMAÑO (Ancho(cm.))
ACEBU 1	Negra	58.1	0.58	1.33	0.90
ACEBU 2	Negra	23.8	0.24	1.13	0.71
ACEBU 2A	Negra				
ACEBU 3	Negra	102.8	1.03	1.82	1.27
ACEBU 4	Negra	50.15	0.50	1.09	1.09
ACEBU 5	Negra	58.15	0.58	1.31	0.9
ACEBU 6	Negra	96.45	0.96	1.56	1.07
ACEBU 6A	Negra	60.25	0.60	1.30	0.87
ACEBU 7	Blanca	62.95	0.63	1.32	1.00
ACEBU 8	Negra	103.35	1.03	1.61	1.12
ACEBU 9	Negra	31.45	0.31	1.13	0.83
ACEBU 10	Negra	38.25	0.38	1.15	0.85
ACEBU10A	Negra	70.45	0.70	1.66	0.94
ACEBU 11	Negra	58.45	0.58	1.22	0.90
ACEBU 12	Negra	48.2	0.48	1.03	0.76
ACEBU 13	Negra	47.0	0.47	1.11	0.78
ACEBU 14	Negra	49.8	0.50	1.49	0.98
ACEBU 15	Negra				
ACEBU15A	Negra				
ACEBU15B	Negra				
ACEBU 16					
ACEBU 17	Negra	67.7	0.68	1.32	0.91
ACEBU 18	Negra	62.35	0.62	1.27	0.91
ACEBU 19	Negra	64.5	0.65	1.25	0.85
ACEBU 20	Negra	42.3	0.42	1.26	0.72
ACEBU20A	Negra	80.1	0.80	1.44	0.96
ACEBU 21	Negra	43.6	0.44	1.15	0.78
ACEBU 22	Negra	54.05	0.54	1.18	0.86
ACEBU 23	Negra	108.4	1.08	1.37	1.10
ACEBU 24	Negra	53.85	0.54	1.13	0.87
ACEBU 25	Negra	70.0	0.70	1.24	0.87
ACEBU 26	Negra	104.2	1.04	1.40	1.06
ACEBU 27	Negra	98.2	0.98	1.43	0.95
ACEBU 28	Negra	70.25	0.70	1.36	0.88
ACEBU28A	Negra	23.35	0.23	0.90	0.63
ACEBU28B	Negra	174.9	1.75	1.78	1.23
ACEBU 29	Negra	70.35	0.70	1.23	0.95
ACEBU 30	Negra	41.45	0.41	1.19	0.68
ACEBU 31	Negra	34.9	0.35	0.97	0.66
ACEBU 32	Negra	32.4	0.32	0.99	0.69
ACEBU 33	Negra	47.55	0.48	1.10	0.78

Tabla III.1. ESTUDIO DE LOS FRUTOS DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Color	PESO (100 unidades(g))	PESO (Unitario(g))	TAMAÑO (Largo(cm.))	TAMAÑO (Ancho(cm.))
ACEBU 34	Negra	36.65	0.37	0.93	0.70
ACEBU 35	Negra	45.15	0.45	1.04	0.82
ACEBU 36	Negra	66.35	0.66	1.13	0.89
ACEBU 37	Negra	28.15	0.28	0.84	0.63
ACEBU 38	Negra	50.95	0.51	1.27	0.76
ACEBU 39	Negra	22.6	0.23	0.84	0.64
ACEBU 40	Negra	63.8	0.64	1.48	0.77
ACEBU 41	Negra	120.65	1.21	1.32	1.08
ACEBU 42	Negra	58.00	0.58	1.13	0.75
ACEBU 43	Blanca	68.65	0.69	1.17	0.89

A continuación, se reflejan los distintos histogramas de cada determinación o variable en los que se reflejan las “N” muestras con sus valores máximo, medio y mínimo así como su desviación estándar.



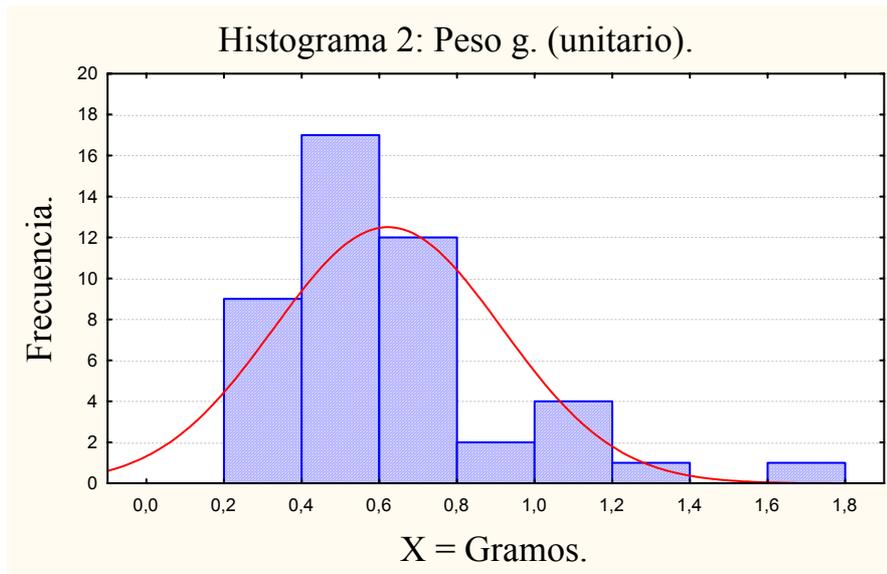
N = 46

Valor mínimo = 22.60 g.

Valor máximo = 174.90 g.

Media = 58.13 g

Desviación estándar = 29.35



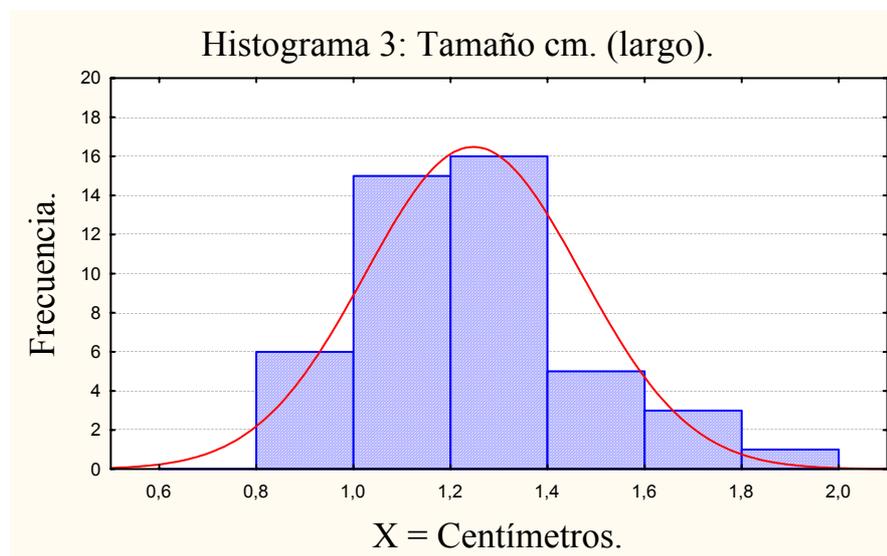
N = 46

Valor mínimo = 0.23 g.

Valor máximo = 1.75 g.

Media = 0.58 g

Desviación estándar = 0.29



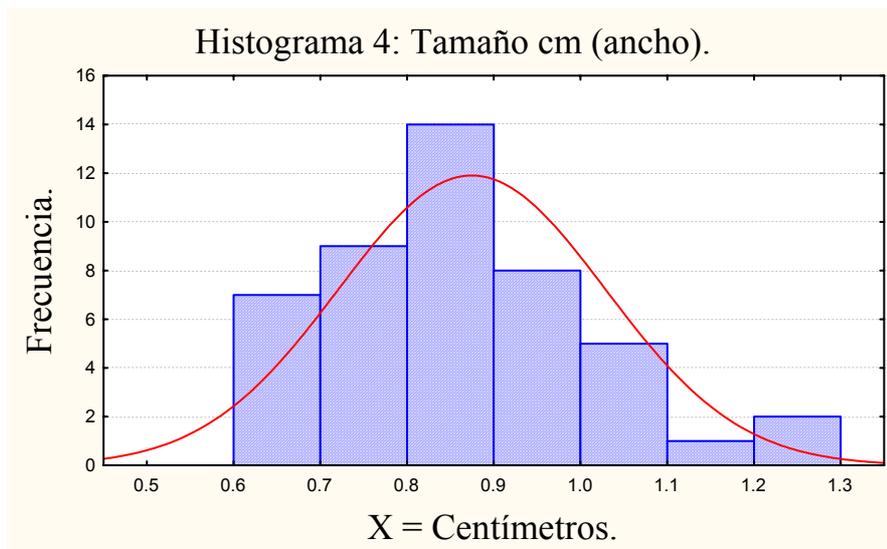
N = 46

Valor mínimo = 0.84 cm.

Valor máximo = 1.82 cm.

Media = 1.24 cm.

Desviación estándar = 0.22



N = 46

Valor mínimo = 0.63 cm.

Valor máximo = 1.27 cm.

Media = 0.87 cm.

Desviación estándar = 0.15

III.2.2. RENDIMIENTO GRASO DE LOS FRUTOS.

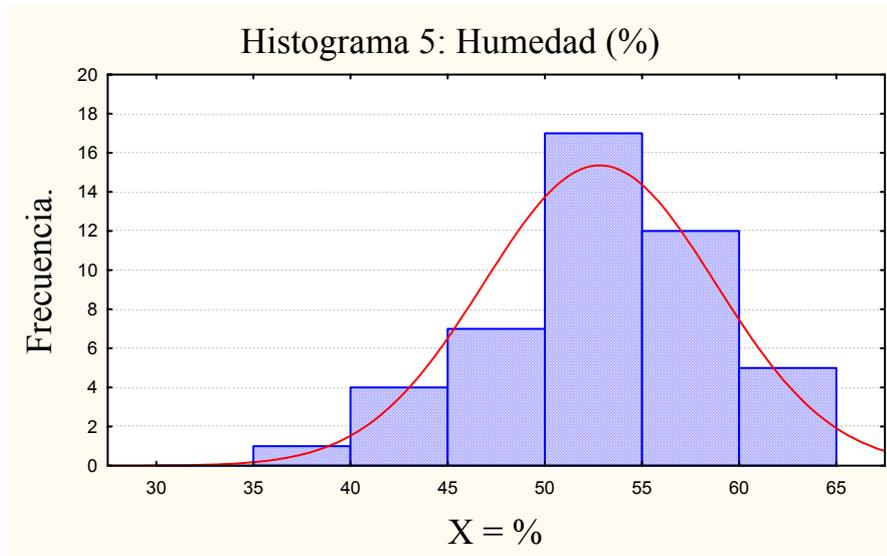
En la tabla III.2, se expone el rendimiento de los distintos frutos en el que se contempla además de la humedad y de la grasa total, el aceite de presión y el aceite de orujo que se obtendría industrialmente. Con esto nos hacemos una idea de la diversidad de los distintos frutos. En cuanto a la acidez nos indica el estado de madurez o de conservación de los frutos. Así, las muestras 2A, 30, 31, 32, 38 y 39, el grado de madurez de éstas estaba bastante avanzado por lo que se refleja en la acidez de sus aceites obtenidos. Por las mismas razones que en la tabla III.1, también se desestiman las muestras 2A, 15, 15A, 15B y 16.

Tabla III.2. ESTUDIO DE LOS FRUTOS DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	HUMEDAD (%)	GRASA TOTAL(%)	ACIDEZ (%)	ORUJO (%)	IRRECUP. (%)	A.PRESIÓN (%)	A.ORUJO (%)
ACEBU 1	54.38	10.82	1.87	40.72	0.3	7.06	3.46
ACEBU 2	51.29	11.93	1.02	43.03	0.3	7.97	3.66
ACEBU 2A	48.55	11.43	27.15	46.82	0.3	7.15	3.98
ACEBU 3	37.21	20.62	0.53	49.34	0.3	16.13	4.19
ACEBU 4	43.82	8.36	1.26	55.95	0.3	3.30	4.76
ACEBU 5	44.95	11.74	0.62	43.31	0.3	7.76	3.68
ACEBU 6	54.50	15.16	0.64	35.50	0.3	11.84	3.02
ACEBU 6A	48.14	12.84	0.45	45.65	0.3	8.66	3.88
ACEBU 7	62.10	7.33	1.53	35.77	0.3	3.99	3.04
ACEBU 8	51.02	8.88	0.92	46.92	0.3	4.59	3.99
ACEBU 9	50.45	8.27	0.99	48.30	0.3	3.86	4.11
ACEBU 10	56.67	9.87	1.08	39.15	0.3	6.24	3.33
ACEBU10A	56.91	10.43	1.12	38.21	0.3	6.88	3.25
ACEBU 11	50.79	10.68	1.37	45.08	0.30	6.55	3.83
ACEBU 12	41.00	13.60	1.47	53.12	0.30	8.78	4.52
ACEBU 13	43.06	11.67	0.90	52.97	0.30	6.87	4.50
ACEBU 14	48.24	15.98	1.96	41.86	0.30	12.12	3.56
ACEBU 15							
ACEBU15A							
ACEBU15B							
ACEBU 16							
ACEBU 17	56.85	7.97	1.01	41.16	0.3	4.17	3.50
ACEBU 18	51.20	6.53	1.08	49.46	0.3	2.03	4.20
ACEBU 19	55.01	7.77	0.76	43.55	0.3	3.77	3.70
ACEBU 20	52.94	10.22	1.91	43.10	0.3	6.26	3.66
ACEBU20A	58.39	10.59	0.80	36.29	0.3	7.21	3.08
ACEBU 21	52.03	5.70	0.82	49.46	0.3	1.20	4.20
ACEBU 22	55.24	8,36	0.66	42.59	0.3	4.44	3.62
ACEBU 23	59.34	7.28	0.89	39.05	0.3	3.66	3.32
ACEBU 24	58.86	10.82	0.71	35.47	0.3	7.50	3.02
ACEBU 25	63.22	6.13	0.88	35.86	0.3	2.78	3.05
ACEBU 26	61.39	6.70	0.78	37.33	0.3	3.23	3.17
ACEBU 27	57.49	7.72	0.81	40.70	0.3	3.96	3.46
ACEBU 28	50.19	8.04	2.66	48.87	0.3	3.59	4.15
ACEBU28A	54.15	7.86	1.26	44.45	0.3	3.78	3.78
ACEBU28B	63.72	11.31	1.74	29.21	0.3	8.53	2.48
ACEBU 29	58.07	7.48	0.95	40.31	0.3	3.75	3.43
ACEBU 30	59.45	7.95	5.03	38.14	0.3	4.41	3.24
ACEBU 31	54.53	10.94	2.27	40.40	0.3	7.21	3.43
ACEBU 32	61.87	8.17	9.15	35.05	0.3	4.89	2.98
ACEBU 33	47.16	12.16	0.78	47.60	0.3	7.81	4.05

Tabla III.2. ESTUDIO DE LOS FRUTOS DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	HUMEDAD (%)	GRASA TOTAL (%)	ACIDEZ (%)	ORUJO (%)	IRRECUP. (%)	A.PRESIÓN (%)	A.ORUJO (%)
ACEBU 34	51.14	8.14	0.60	47.64	0.3	3.79	4.05
ACEBU 35	45.47	19.90	0.61	40.52	0.3	16.16	3.44
ACEBU 36	52.75	11.01	0.80	42.40	0.3	7.11	3.60
ACEBU 37	48.02	8.73	1.43	50.60	0.3	4.13	4.30
ACEBU 38	51.98	9.8	3.65	44.72	0.3	5.70	3.80
ACEBU 39	46.35	10.89	2.21	50.03	0.3	6.34	4.25
ACEBU 40	55.34	11.40	0.64	38.91	0.3	7.79	3.31
ACEBU 41	51.46	15.67	0.61	38.46	0.3	12.10	3.27
ACEBU 42	49.20	8.25	0.76	49.78	0.3	3.72	4.23
ACEBU 43	52.48	7.61	0.95	46.69	0.3	3.34	3.97



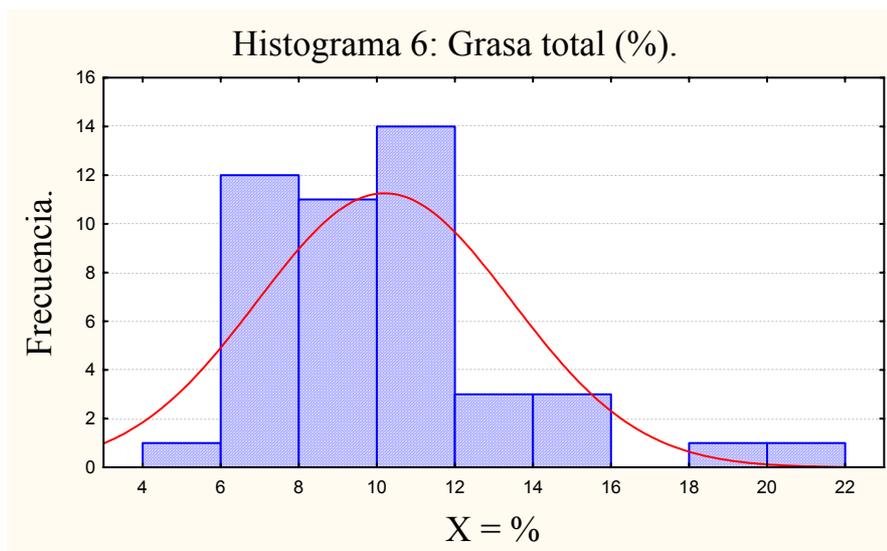
N = 46

Valor mínimo = 37.21 %.

Valor máximo = 63.72 %.

Media = 52.62 %.

Desviación estándar = 5.97



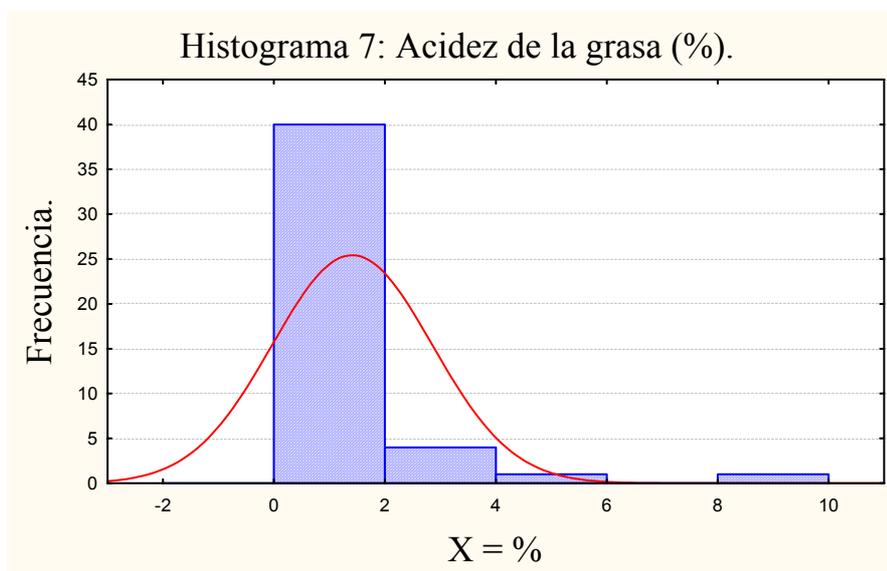
N = 46

Valor mínimo = 5.70 %.

Valor máximo = 20.62 %.

Media = 9.84 %.

Desviación estándar = 3.26



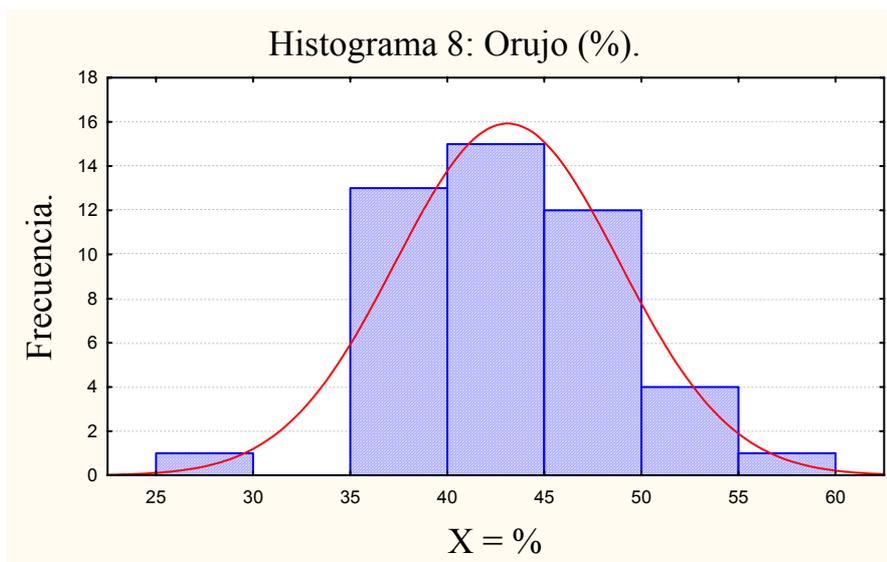
N = 46

Valor mínimo = 0.45 %.

Valor máximo = 9.15 %.

Media = 0.95 %.

Desviación estándar = 1.44



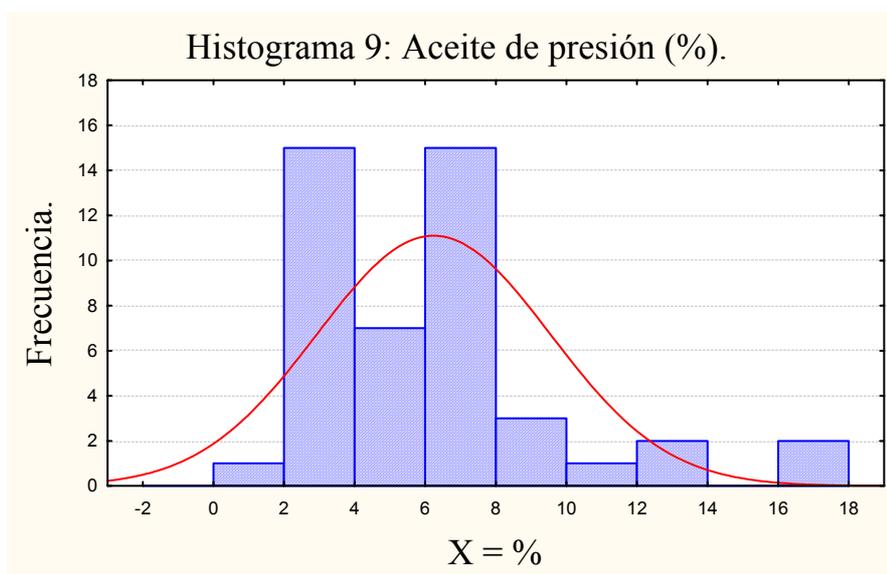
N = 46

Valor mínimo = 29.21 %.

Valor máximo = 55.95 %.

Media = 42.81 %.

Desviación estándar = 5.76



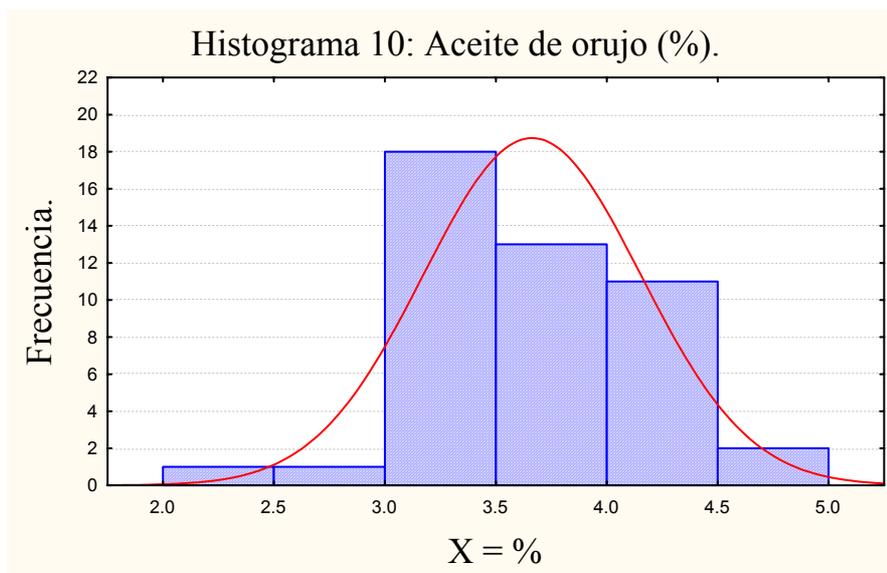
N = 46

Valor mínimo = 1.20 %.

Valor máximo = 16.16 %.

Media = 5.97 %.

Desviación estándar = 3.31



N = 46

Valor mínimo = 2.48 %.

Valor máximo = 4.76 %.

Media = 3.64 %.

Desviación estándar = 0.49

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS TABLAS III.1 Y III.2 (FRUTOS).

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
Peso 100unidades	46	62.28152	58.12500	22.60000	174.9000	43.60000	70.25000	26.65000	29.34721
Peso unitario	46	0.62217	0.58000	0.23000	1.7500	0.44000	0.70000	0.26000	0.29343
LARGO	46	1.24717	1.23500	0.84000	1.8200	1.13000	1.36000	0.23000	0.22266
ANCHO	46	0.87478	0.87000	0.63000	1.2700	0.76000	0.95000	0.19000	0.15418
HUMEDAD	46	52.82217	52.61500	37.21000	63.7200	49.20000	56.91000	7.71000	5.97410
GRASA TOTAL	46	10.20174	9.83500	5.70000	20.6200	7.95000	11.40000	3.45000	3.26095
ACIDEZ	46	1.41174	0.95000	0.45000	9.1500	0.76000	1.47000	0.71000	1.44345
ORUJO	46	43.10174	42.81000	29.21000	55.9500	38.91000	47.64000	8.73000	5.76157
IRRECUPER.	46	0.30000	0.30000	0.30000	0.3000	0.30000	0.30000	0.00000	0.00000
A. PRESIÓN	46	6.23826	5.97000	1.20000	16.1600	3.78000	7.76000	3.98000	3.30558
A. ORUJO	46	3.66348	3.64000	2.48000	4.7600	3.31000	4.05000	0.74000	0.48972

III.3. ACEITES VÍRGENES (DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA).

III.3.1. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

Las tablas III.3 y III.4 reflejan respectivamente los parámetros de calidad de las muestras de los aceites de acebuchina y de oliva. Los parámetros de calidad de los aceites van a reflejar desde el grado de conservación de los aceites, así como el estado de maduración y enfermedades de los frutos, y también el procesamiento que han sufrido los frutos para la obtención del aceite.

A la muestra ACEBU 4 no se le pudo analizar los parámetros de calidad debido a que se obtuvo poco aceite por la escasez de frutos. A las muestras de aceite de acebuchina 2A, 10A, 15, 15A, 15B y 28B no se les practicó los análisis de calidad debido a la escasez de muestra, y a que son muestras que se obtuvieron por extracción con disolvente y no por presión. También la muestra 43 queda excluida, aún habiendo suficiente cantidad, por haberse obtenido por extracción con hexano. En cuanto a la muestra 16, aunque es un aceite obtenido por presión, se ha excluido del tratamiento estadístico por ser una muestra envasada en la que no se sabe si es un aceite en su totalidad de acebuchina o bien es una mezcla con oliva virgen, por lo que se descarta en dicho estudio; valorándose más tarde a que clase o grupo se aproxima (acebuchina u oliva).

A las muestras de aceite de acebuchina y de oliva se les aplicó un tratamiento estadístico consistiendo en primer lugar en una estadística descriptiva en la que se contempla el número de muestras, los valores máximo, mínimo y medio, la mediana, los cuartiles inferior (25 %) y superior (75 %) y la desviación estándar. En segundo lugar se les aplicó los gráficos de “box and whisker” (gráficos de “caja y bigote”), en los que se refleja en los extremos de un segmento (whisker) los valores máximo y mínimo, y en un cuadrado o rectángulo (box) los cuartiles inferior y superior, y dentro el valor de la mediana. Hemos llamado clase 1 a las muestras de acebuchina, y clase 2 a las muestras de oliva. Con los gráficos de “box and whisker” se tiene una percepción visual de la variación o concordancia que existen entre las clases 1 (acebuchina) y 2 (oliva).

Tabla III.3. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	ACIDEZ (%)	ÍNDICE DE PERÓXIDOS (meq. de O₂/Kg)	Rancimat(100°C) (horas)	AOM(97.8°C) (horas)
ACEBU 1	0.42	9.0	58.24	67.83
ACEBU 2	1.49	16.9	23.38	27.23
ACEBU 2A				
ACEBU 3	0.40	6.2	21.38	24.90
ACEBU 4				
ACEBU 5	0.40	10.3	35.45	41.29
ACEBU 6	0.35	7.5	76.00	88.52
ACEBU 6A	0.34	10.8	43.04	50.13
ACEBU 7	0.77	10.8	37.89	44.13
ACEBU 8	0.22	8.4	42.52	49.53
ACEBU 9	0.50	16.2	52.69	61.37
ACEBU 10	0.68	19.5		
ACEBU10A				
ACEBU 11	0.68	13.1	31.41	36.58
ACEBU 12	0.87	14.0	28.52	33.21
ACEBU 13	0.86	12.3	34.26	39.91
ACEBU 14	2.79	11.9	43.47	50.63
ACEBU 15				
ACEBU15A				
ACEBU15B				
ACEBU 16	2.17	8.1	42.76	49.81
ACEBU 17	0.87	21.2	35.78	41.67
ACEBU 18	1.22	38.3		
ACEBU 19	1.15	23.5		
ACEBU 20	2.95	14.5	29.22	34.04
ACEBU 20A	0.73	14.3	88.02	102.52
ACEBU 21	1.26	40.6		
ACEBU 22	0.52	22.4	98.09	114.25
ACEBU 23	0.27	18.6	94.07	109.56
ACEBU 24	0.84	21.5	39.68	46.22
ACEBU 25	0.69	12.7	40.66	47.35
ACEBU 26	1.06	21.5	25.27	29.43
ACEBU 27	0.94	19.9	41.38	48.20
ACEBU 28	1.98	24.6	34.82	40.56
ACEBU 28A	1.23	26.6	34.43	40.10
ACEBU 28B				
ACEBU 29	1.83	16.4	65.24	75.98
ACEBU 30	6.07	11.2	58.98	68.70
ACEBU 31	2.92	11.4	47.57	55.40
ACEBU 32	11.29	9.6	186.82	217.60
ACEBU 33	1.26	11.5	36.25	42.22

Tabla III.3. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	ACIDEZ (%)	ÍNDICE DE PERÓXIDOS (meq.deO ₂ /Kg)	Rancimat(100°C) (horas)	AOM(97.8°C) (horas)
ACEBU 34	2.09	19.6	50.29	58.57
ACEBU 35	0.20	9.7	67.32	78.41
ACEBU 36	0.38	11.2	43.11	50.22
ACEBU 37	1.50	44.0		
ACEBU 38	6.28	23.6	25.53	29.73
ACEBU 39	8.59	20.4	24.88	28.97
ACEBU 40	0.53	6.7	43.20	50.32
ACEBU 41	0.34	5.7	54.08	62.99
ACEBU 42	1.83	3.9		
ACEBU 43	0.97	6.2	125.76	146.47

En la siguiente tabla se refleja el tratamiento estadístico descriptivo de los aceites de acebuchina para la acidez, índice de peróxido y estabilidad (Rancimat y AOM).

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.3 (ACEBUCHINA).

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^e cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
ACIDEZ	42	1.70452	0.87000	0.20000	11.2900	0.50000	1.83000	1.33000	2.30020
I. PERÓXIDO	42	16.47619	14.15000	3.90000	44.0000	10.80000	21.20000	10.40000	8.97285
Rancimat(100° C)	36	49.80389	41.95000	21.38000	186.8200	34.34500	56.16000	21.81500	30.42190
AOM(97.8° C)	36	58.00750	48.86500	24.90000	217.6000	40.00500	65.41000	25.40500	35.43417

Tabla III.3. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	K232	K266	K270	K274	ΔK
ACEBU 1	1.79	0.12	0.11	0.10	0.005
ACEBU 2	2.71	0.15	0.13	0.12	0.001
ACEBU 2A					
ACEBU 3	1.78	0.06	0.05	0.04	-0.003
ACEBU 4					
ACEBU 5	2.24	0.11	0.11	0.11	0.103
ACEBU 6	1.80	0.08	0.08	0.08	-0.001
ACEBU 6A	2.06	0.06	0.06	0.06	-0.003
ACEBU 7	1.89	0.14	0.12	0.10	-0.005
ACEBU 8	1.56	0.06	0.06	0.06	0
ACEBU 9	2.31	0.17	0.16	0.16	-0.003
ACEBU 10	3.00	0.15	0.14	0.13	-0.003
ACEBU10A					
ACEBU 11	2.29	0.15	0.15	0.14	-0.001
ACEBU 12	2.06	0.14	0.13	0.13	-0.001
ACEBU 13	2.64	0.14	0.12	0.12	-0.009
ACEBU 14	1.91	0.20	0.20	0.19	0.004
ACEBU 15					
ACEBU15A					
ACEBU15B					
ACEBU 16	1.80	0.20	0.20	0.19	0.007
ACEBU 17	2.63	0.14	0.13	0.13	0
ACEBU 18	2.73	0.23	0.20	0.18	-0.005
ACEBU 19	1.97	0.16	0.15	0.14	-0.001
ACEBU 20	2.26	0.21	0.19	0.18	-0.003
ACEBU20A	1.71	0.14	0.13	0.12	-0.004
ACEBU 21	2.52	0.18	0.16	0.15	-0.004
ACEBU 22	3.08	0.34	0.33	0.34	-0.005
ACEBU 23	2.38	0.21	0.19	0.19	-0.005
ACEBU 24	2.90	0.24	0.22	0.22	-0.005
ACEBU 25	2.35	0.13	0.13	0.13	-0.002
ACEBU 26	2.98	0.19	0.17	0.17	-0.005
ACEBU 27	2.53	0.21	0.18	0.16	-0.007
ACEBU 28	2.63	0.30	0.25	0.22	-0.007
ACEBU28A	2.48	0.29	0.25	0.23	-0.006
ACEBU28B					
ACEBU 29	1.83	0.21	0.18	0.16	-0.007
ACEBU 30	2.26	0.47	0.49	0.48	0.019
ACEBU 31	1.87	0.32	0.31	0.29	0.010
ACEBU 32	2.76	0.72	0.74	0.71	0.024
ACEBU 33	1.84	0.22	0.20	0.19	-0.003

Tabla III.3. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	K232	K266	K270	K274	ΔK
ACEBU 34	1.77	0.20	0.18	0.16	-0.003
ACEBU 35	1.93	0.12	0.12	0.12	-0.002
ACEBU 36	1.82	0.11	0.10	0.10	-0.004
ACEBU 37	2.79	0.32	0.28	0.25	-0.004
ACEBU 38	2.34	0.43	0.41	0.37	0.006
ACEBU 39	2.56	0.31	0.28	0.26	0.002
ACEBU 40	1.65	0.09	0.08	0.07	-0.003
ACEBU 41	1.76	0.09	0.08	0.07	-0.003
ACEBU 42	1.43	0.14	0.11	0.10	-0.006
ACEBU 43	3.26	0.82	0.80	0.80	-0.009

El tratamiento estadístico descriptivo para el ensayo espectrofotométrico en el ultravioleta para los aceites de acebuchina vírgenes viene reflejado en la tabla siguiente:

**ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.3 (continuación)
(ACEBUCHINA).**

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1^{er} cuartil	3^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
K232	42	2.23333	2.26000	1.43000	3.0800	1.83000	2.63000	0.80000	0.44305
K266	42	0.20119	0.16500	0.06000	0.7200	0.13000	0.23000	0.10000	0.12508
K270	42	0.18714	0.15500	0.05000	0.7400	0.12000	0.20000	0.08000	0.12659
K274	42	0.17690	0.14500	0.04000	0.7100	0.11000	0.19000	0.08000	0.12146
DELTA K	42	0.00121	-0.00300	-0.00900	0.1030	-0.00500	0.00000	0.00500	0.01730

III.3.2. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ACEITES DE OLIVA.

Para las muestras de aceite de oliva, los parámetros de calidad vienen reflejados en la tabla III.4. A la muestra OLIVA 20 no se le pudo ver la estabilidad (Rancimat y AOM), debido a la escasez de muestra de que se disponía.

Tabla III.4. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	ACIDEZ (%)	ÍNDICE DE PERÓXIDOS (meq.deO ₂ /Kg.)	Rancimat(100°C) (horas)	AOM(97.8°C) (horas)
OLIVA 1	3.16	17.1	13.38 h	15.59 h
OLIVA 2	7.31	34.4	12.21	14.22
OLIVA 3	0.80	10.4	87.16	101.52
OLIVA 4	0.79	11.2	48.46	56.44
OLIVA 5	0.53	5.8	63.02	73.41
OLIVA 6	0.72	13.3	49.86	58.07
OLIVA 7	0.64	12.2	62.41	72.70
OLIVA 8	0.49	16.5	61.21	71.29
OLIVA 9	0.76	16.0	47.57	55.41
OLIVA 10	0.55	10.0	73.45	85.55
OLIVA 11	0.44	6.4	80.10	93.29
OLIVA 12	0.44	8.3	76.76	89.41
OLIVA 13	0.25	11.5	58.30	67.90
OLIVA 14	0.64	10.5	57.62	67.11
OLIVA 15	0.45	9.0	71.98	83.83
OLIVA 16	0.22	14.9	41.26	48.05
OLIVA 17	0.17	10.9	43.39	50.54
OLIVA 18	0.29	10.3	58.77	68.45
OLIVA 19	0.31	6.4	93.89	109.35
OLIVA 20	0.48	15.1		
OLIVA 21	0.19	7.8	64.01	74.56
OLIVA 22	0.45	9.2	42.15	49.10
OLIVA 23	0.18	10.3	18.51	21.55
OLIVA 24	0.28	11.5	57.10	66.51
OLIVA 25	0.59	8.0	51.71	60.23
OLIVA 26	0.18	8.4	44.35	51.66
OLIVA 27	1.62	10.9	48.89	56.94
OLIVA 28	0.65	9.6	45.49	52.98
OLIVA 29	2.33	14.0	58.04	67.60
OLIVA 30	1.15	5.5	62.90	73.26
OLIVA 31	0.46	10.3	88.69	103.30
OLIVA 32	4.80	14.2	46.33	53.96
OLIVA 33	0.23	12.9	44.54	51.88
OLIVA 34	0.23	13.3	31.56	36.76
OLIVA 35	0.32	13.5	71.27	83.01
OLIVA 36	0.31	15.3	73.15	85.19
OLIVA 37	0.40	22.0	52.80	61.50
OLIVA 38	0.34	12.8	134.97	157.20
OLIVA 39	0.23	10.8	100.19	116.69
OLIVA 40	0.17	6.4	76.23	88.78
OLIVA 41	2.33	15.8	46.31	53.94
OLIVA 42	0.53	32.0	47.13	54.89

Tabla III.4. PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	K232	K266	K270	K274	ΔK
OLIVA 1	1.87	0.22	0.22	0.21	0.001
OLIVA 2	3.92	0.55	0.55	0.52	0.017
OLIVA 3	1.95	0.18	0.18	0.18	0.001
OLIVA 4	2.13	0.19	0.20	0.19	0.009
OLIVA 5	1.76	0.13	0.13	0.12	0
OLIVA 6	1.28	0.08	0.07	0.07	0
OLIVA 7	1.57	0.11	0.10	0.10	0
OLIVA 8	1.87	0.12	0.12	0.11	0.001
OLIVA 9	1.67	0.12	0.12	0.11	0.001
OLIVA 10	1.65	0.12	0.10	0.10	-0.006
OLIVA 11	1.71	0.19	0.17	0.16	-0.004
OLIVA 12	1.72	0.15	0.13	0.12	-0.002
OLIVA 13	1.63	0.16	0.13	0.12	-0.007
OLIVA 14	1.85	0.20	0.17	0.17	-0.007
OLIVA 15	1.80	0.15	0.13	0.13	-0.003
OLIVA 16	1.89	0.13	0.12	0.11	-0.003
OLIVA 17	1.65	0.12	0.09	0.08	-0.007
OLIVA 18	1.78	0.11	0.10	0.09	-0.005
OLIVA 19	1.64	0.15	0.14	0.13	-0.002
OLIVA 20	1.95	0.17	0.16	0.16	-0.003
OLIVA 21	1.86	0.17	0.15	0.14	-0.005
OLIVA 22	1.95	0.12	0.11	0.10	0.001
OLIVA 23	1.92	0.08	0.07	0.07	-0.001
OLIVA 24	2.11	0.16	0.16	0.15	-0.004
OLIVA 25	1.75	0.16	0.14	0.13	-0.005
OLIVA 26	1.80	0.12	0.11	0.11	-0.003
OLIVA 27	1.71	0.19	0.19	0.18	0.004
OLIVA 28	1.92	0.17	0.15	0.14	-0.004
OLIVA 29	1.85	0.21	0.20	0.19	-0.002
OLIVA 30	1.59	0.11	0.09	0.07	-0.005
OLIVA 31	1.77	0.14	0.13	0.12	-0.003
OLIVA 32	2.85	0.33	0.31	0.29	0.002
OLIVA 33	2.02	0.16	0.14	0.12	-0.005
OLIVA 34	2.31	0.18	0.16	0.15	-0.004
OLIVA 35	1.94	0.17	0.15	0.14	-0.005
OLIVA 36	2.10	0.16	0.15	0.15	0
OLIVA 37	2.56	0.16	0.16	0.15	0.002
OLIVA 38	2.00	0.14	0.12	0.11	-0.002
OLIVA 39	1.87	0.14	0.12	0.11	-0.003
OLIVA 40	1.71	0.14	0.13	0.11	-0.002
OLIVA 41	1.66	0.15	0.14	0.13	-0.001
OLIVA 42	2.23	0.19	0.19	0.18	0.001

El tratamiento estadístico descriptivo para los aceites de oliva se refleja en la tabla siguiente.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.4 (OLIVA).

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
ACIDEZ	42	0.89071	0.45500	0.17000	7.3100	0.28000	0.72000	0.44000	1.35605
I. PEROXIDO	42	12.49286	11.05000	5.50000	34.4000	9.20000	14.20000	5.00000	5.82942
Rancimat(100° C)	41	58.71024	57.62000	12.21000	134.9700	46.31000	71.98000	25.67000	23.08402
AOM(97.8° C)	41	68.38098	67.11000	14.22000	157.2000	53.94000	83.83000	29.89000	26.88581
K232	42	1.92310	1.85500	1.28000	3.9200	1.71000	1.95000	0.24000	0.41477
K266	42	0.16429	0.15500	0.08000	0.5500	0.12000	0.18000	0.06000	0.07431
K270	42	0.15238	0.14000	0.07000	0.5500	0.12000	0.16000	0.04000	0.07628
K274	42	0.14333	0.13000	0.07000	0.5200	0.11000	0.16000	0.05000	0.07284
DELTA K	42	-0.00150	-0.00200	-0.00700	0.0170	-0.00400	0.00100	0.00500	0.00436

GRÁFICOS “BOX AND WHISKER” PARA LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA.

A continuación se exponen las distintas gráficos “box and whisker”, de las clases 1 y 2 (acebuchina y oliva) para cada una de las variables (determinaciones) de las tablas III.3 y III.4. Con estas representaciones gráficas se tiene una percepción visual más clara de las diferencias que pudieran existir entre los aceites de acebuchina y de oliva.

Para apreciar con mayor claridad las variables cuyos valores se mueven en un rango menor, vamos a eliminar en la representación las variables que oscilan en un rango mayor, es decir, las estabilidades Rancimat y AOM, resultando el gráfico de “caja y bigote” que aparece en segundo lugar (gráfico III.2), a continuación.

GRÁFICO III.1

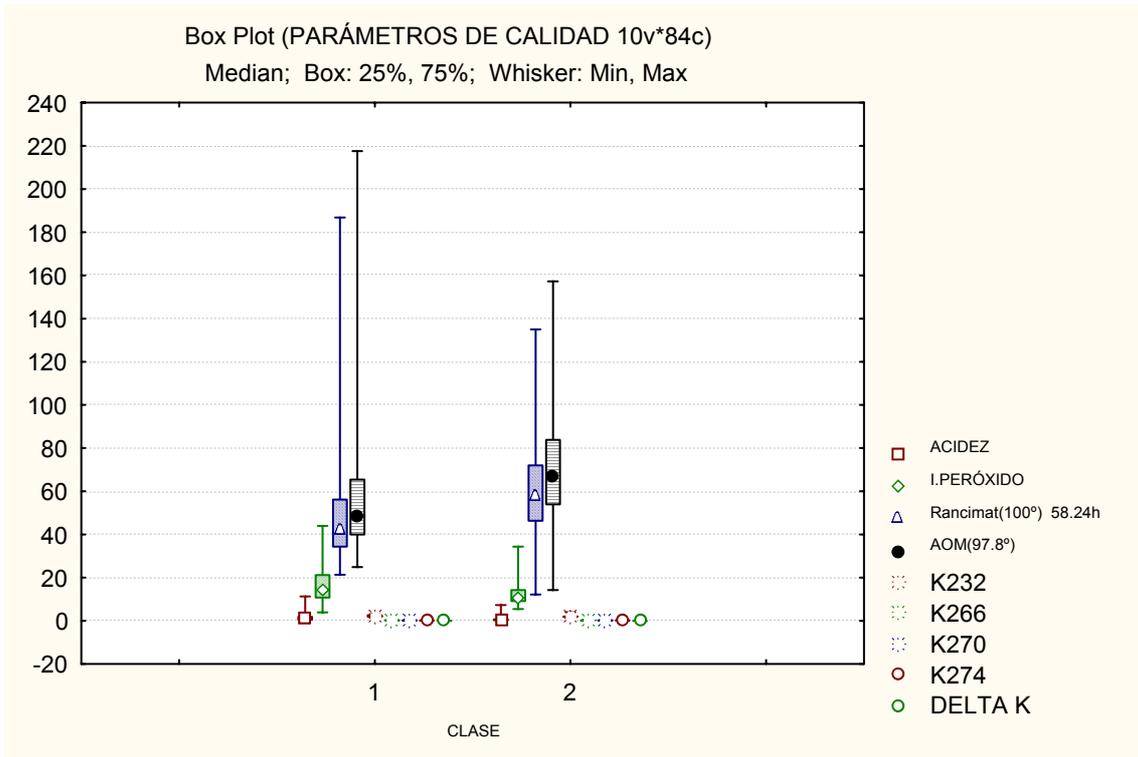
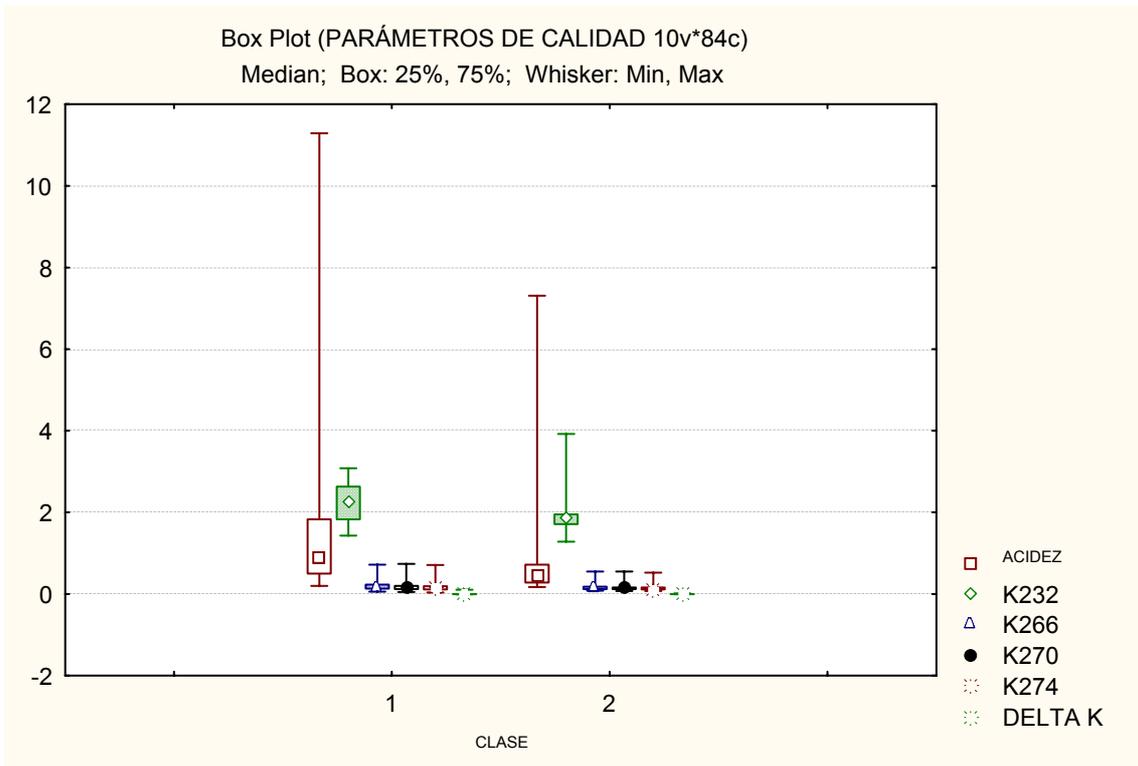


GRÁFICO III.2.



III.3.3. COLOR DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

Tabla III.5. COLOR DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	UNIDADES		
	AMARILLAS	ROJAS	AZULES
ACEBU 1	30	2.6	
ACEBU 2	46	5	2
ACEBU 2A			
ACEBU 3	20	2	
ACEBU 4			
ACEBU 5	30	4.4	
ACEBU 6	63	3	
ACEBU 6A	50	3	
ACEBU 7	50	4	
ACEBU 8	30	2	
ACEBU 9	30	7	2
ACEBU 10	30	3	
ACEBU10A			
ACEBU 11	20	3	
ACEBU 12	30	4	
ACEBU 13	30	5	1
ACEBU 14	30	5	
ACEBU 15			
ACEBU15A			
ACEBU15B			
ACEBU 16	55	7	4.6
ACEBU 17	43.5	3.3	0.2
ACEBU 18	50.0	2.0	
ACEBU 19	50.4	2.0	
ACEBU 20	44.3	5.1	1.8
ACEBU20A	57.5	12.0	10.3
ACEBU 21	30.0	1.0	
ACEBU 22	66.0	6.0	5.0
ACEBU 23	30.0	5.0	2.4
ACEBU 24	70.3	5.0	2.0
ACEBU 25	33.0	2.2	
ACEBU 26	40.0	4.7	1.0
ACEBU 27	52.0	7.0	4.0
ACEBU 28	70.0	8.0	5.2
ACEBU28A	70.0	9.0	8.1
ACEBU28B			
ACEBU 29	64.2	4.0	2.0
ACEBU 30	36.1	3.5	
ACEBU 31	70.0	4.4	0.1
ACEBU 32	40.0	2.5	0.4
ACEBU 33	40.0	7.0	

Tabla III.5. COLOR DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

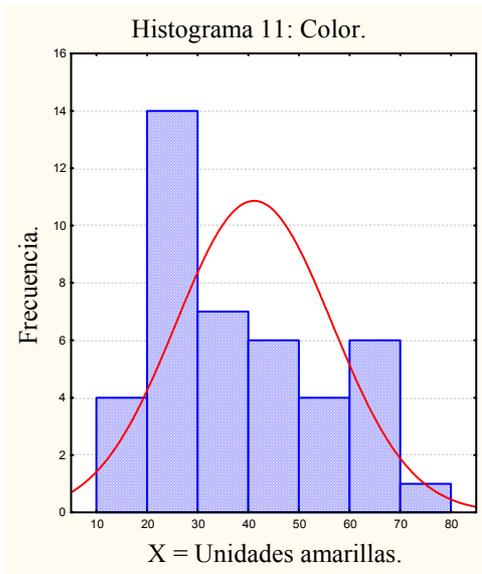
MUESTRA	UNIDADES UNIDADES UNIDADES		
	AMARILLAS	ROJAS	AZULES
ACEBU 34	40.0	7.0	
ACEBU 35	20.0	3.0	
ACEBU 36	20.0	3.0	
ACEBU 37	40.0	2.0	0.1
ACEBU 38	30.0	12.1	
ACEBU 39	51.0	5.0	2.0
ACEBU 40	30.0	4.0	0.1
ACEBU 41	30.0	4.1	
ACEBU 42	20.3	1.7	
ACEBU 43	16.0	6.0	3.0

A las muestras de acebuchina 2A, 4, 10A, 15, 15A, 15B, 28B, no se les ha visto el color, debido a la escasez de muestra, a parte de ser muestras extraídas con hexano y no obtenidas por presión, excepto la 4 que sí es por presión. La muestra 43, aunque fue obtenida por extracción con disolvente, se le vió el color como curiosidad, pero en el tratamiento estadístico fue omitida por no tratarse de un aceite virgen. También se eliminó del tratamiento estadístico la muestra 16, que es envasada, por no haber total seguridad de que se trate totalmente de acebuchina o contenga mezcla con oliva.

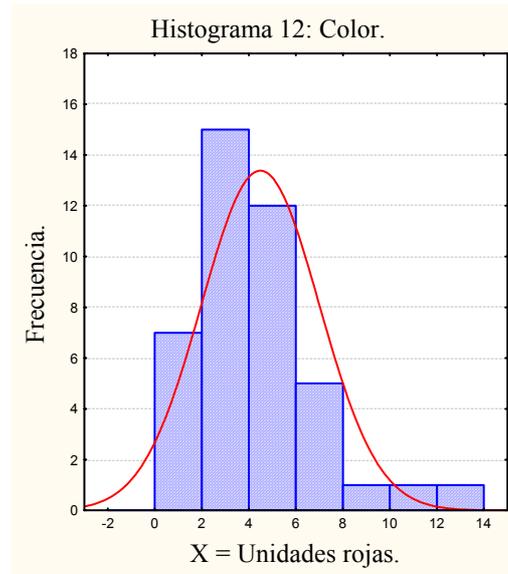
A continuación se refleja una tabla con el tratamiento estadístico y con los diferentes histogramas de las unidades de color de la tabla III.5. También se han repasado el color de los aceites de acebuchina en los histogramas 11, 12 y 13.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.5.

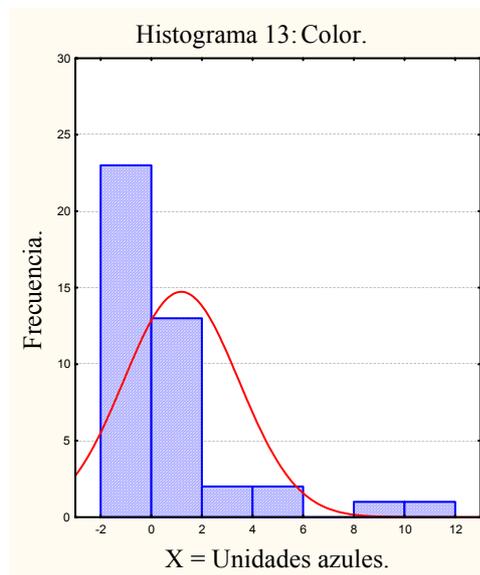
	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1^{er} cuartil	3^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
U. AMARI.	42	41.13333	40.00000	20.00000	70.30000	30.00000	50.40000	20.40000	15.42348
U. ROJAS	42	4.49048	4.00000	1.00000	12.10000	3.00000	5.00000	2.00000	2.50373
U. AZULES	42	1.18333	0.00000	0.00000	10.30000	0.00000	2.00000	2.00000	2.27477



N = 42
 Valor mínimo = 20 unidades amarillas.
 Valor máximo = 70.3 unidades amarillas.
 Media = 40 unidades amarillas.
 Desviación estándar = 15.42



N = 42
 Valor mínimo = 1 unidad roja.
 Valor máximo = 12.1 unidades rojas.
 Media = 4 unidades rojas.
 Desviación estándar = 2.50



N = 42
 Valor mínimo = 0 unidad azules.
 Valor máximo = 10.3 unidades azules.
 Media = 0 unidades azules.
 Desviación estándar = 2.27

III.3.4. COLOR DE LOS ACEITES DE OLIVA.

Tabla III.6. COLOR DE LOS ACEITES DE OLIVA.

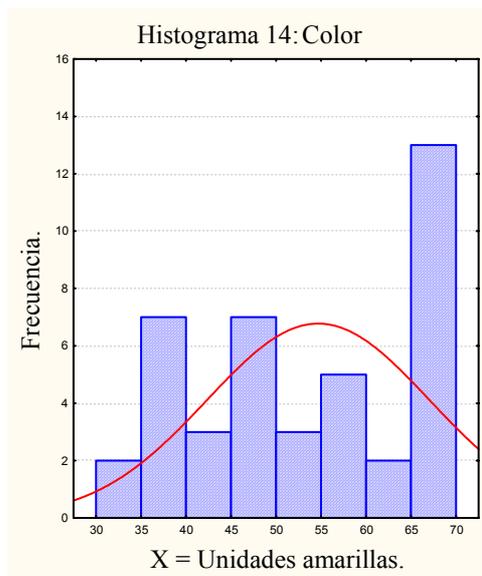
MUESTRA	UNIDADES		
	AMARILLAS	ROJAS	AZULES
OLIVA 1	70.0	6.7	4.0
OLIVA 2	50.0	5.0	2.5
OLIVA 3	40	11.2	10
OLIVA 4	50.0	6.1	4.0
OLIVA 5	50.6	4.0	2.1
OLIVA 6	52.0	4.0	1.0
OLIVA 7	40.3	5.0	3.0
OLIVA 8	70.0	6.0	4.3
OLIVA 9	66.0	4.7	2.2
OLIVA 10	70.0	5.0	3.0
OLIVA 11	40.0	2.1	1.0
OLIVA 12	40.0	2.0	0.5
OLIVA 13	40.0	3.1	0.2
OLIVA 14	70.0	6.0	4.0
OLIVA 15	70.0	4.0	2.0
OLIVA 16	70.0	5.0	4.2
OLIVA 17	50.0	6.1	3.8
OLIVA 18	60.0	6.2	4.0
OLIVA 19	60.0	5.2	3.2
OLIVA 20	60.0	5.0	3.1
OLIVA 21	70.0	3.4	2.0
OLIVA 22	60.5	6.0	4.4
OLIVA 23	34.0	3.0	
OLIVA 24	36.0	4.0	1.3
OLIVA 25	35.0	4.0	2.3
OLIVA 26	43.0	4.0	1.5
OLIVA 27	54.4	7.4	4.3
OLIVA 28	40.0	4.2	2.1
OLIVA 29	44.4	8.3	5.5
OLIVA 30	45.4	9.3	6.3
OLIVA 31	60.1	2.0	1.0
OLIVA 32	55.2	4.2	1.0
OLIVA 33	50.0	3.0	
OLIVA 34	70.0	5.0	2.8
OLIVA 35	70.0	7.0	5.4
OLIVA 36	70.0	7.0	5.1
OLIVA 37	40.0	4.0	1.0
OLIVA 38	60.0	7.1	5.6
OLIVA 39	70.0	5.0	3.0
OLIVA 40	70.0	2.3	0.7
OLIVA 41	50.0	11.0	8.0
OLIVA 42	50.0	10.1	8.1

En la tabla siguiente se resume la estadística descriptiva correspondiente a la tabla III.6 del color de los aceites de oliva.

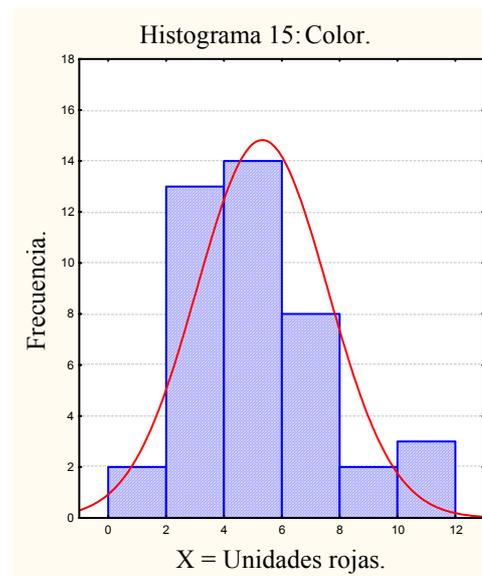
ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.6.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
U. AMARI.	42	54.68810	53.20000	34.00000	70.00000	43.00000	70.00000	27.00000	12.36492
U. ROJAS	42	5.32619	5.00000	2.00000	11.20000	4.00000	6.20000	2.20000	2.26081
U. AZULES	42	3.17857	3.00000	0.00000	10.00000	1.30000	4.30000	3.00000	2.27269

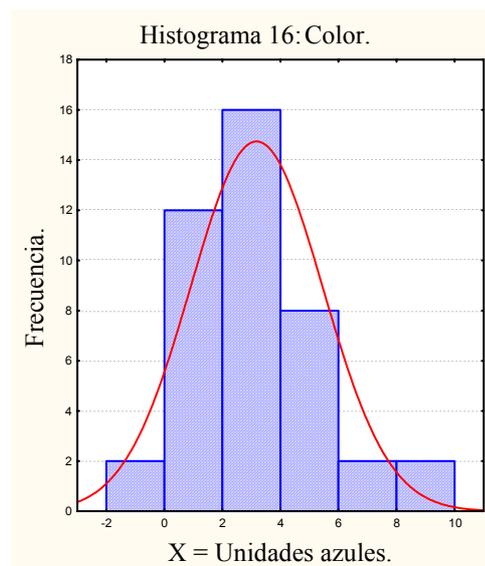
El color de los aceites de oliva se ha representado en los histogramas 14, 15 y 16.



N = 42
 Valor mínimo = 34.0 unidades amarillas.
 Valor máximo = 70.0 unidades amarillas.
 Media = 53.20 unidades amarillas.
 Desviación estándar = 12.36



N = 42
 Valor mínimo = 2.0 unidades rojas.
 Valor máximo = 11.20 unidades rojas.
 Media = 5 unidades rojas.
 Desviación estándar = 2.26



N = 42

Valor mínimo = 0 unidad azules.

Valor máximo = 10.0 unidades azules.

Media = 3.0 unidades azules.

Desviación estándar = 2.27.

Comparando a grandes rasgos los colores de los distintos aceites de acebuchina y de oliva, observamos que los aceites de acebuchina tienen más unidades amarillas y menos unidades azules que los aceites de oliva. Esto hace que las tonalidades que presentan los aceites de acebuchina sean de color amarillo dorado. Solamente una de las muestras presentaba una tonalidad verdosa, concretamente la muestra ACEBU 20-A. En el caso de los aceites de oliva, las tonalidades que presentan suelen ser la mayoría verdosas, aunque también, en menor cuantía, las hay de color amarillo dorado.

III.3.5. ÁCIDOS GRASOS DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

Las composiciones de los ácidos grasos de las distintas muestras de los aceites de acebuchina vienen reflejadas en la tabla III.7 en la que se contemplan tanto las muestras de aceites de acebuchina virgen como las extraídas con hexano. Las muestras extraídas con hexano se han eliminado en el tratamiento estadístico y son: ACEBU 2A, 10A, 15, 15A, 15B, 28B y 43. También se ha eliminado la muestra envasada supuestamente con aceite de acebuchina ACEBU 16.

El tratamiento estadístico de los ácidos grasos de las muestras de aceite de acebuchina (43 muestras) viene reflejado en la siguiente tabla:

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.7.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
Mirístico	43	0.01279	0.01000	0.01000	0.02000	0.01000	0.02000	0.010000	0.004539
Palmitico	43	16.50000	16.10000	8.60000	25.30000	13.50000	19.50000	6.000000	4.033904
Palmitoleico.	43	2.76279	2.20000	0.80000	7.20000	1.80000	3.40000	1.600000	1.443709
Margárico	43	0.07674	0.10000	0.00000	0.30000	0.00000	0.10000	0.100000	0.075078
Margaroleico	43	0.13488	0.10000	0.10000	0.50000	0.10000	0.10000	0.000000	0.094827
Esteárico	43	2.15581	2.00000	1.40000	3.10000	1.80000	2.50000	0.700000	0.480725
Oleico	43	67.60930	67.80000	51.80000	81.70000	63.20000	73.10000	9.900000	7.220599
Linoleico	43	9.00698	8.50000	4.50000	18.20000	6.20000	11.40000	5.200000	3.170053
Linolénico	43	0.93488	0.90000	0.60000	1.40000	0.80000	1.10000	0.300000	0.198667
Aráquico	43	0.39535	0.40000	0.30000	0.50000	0.40000	0.40000	0.000000	0.061542
Gadoleico	43	0.23721	0.20000	0.10000	0.40000	0.20000	0.30000	0.100000	0.057831
Behénico	43	0.12558	0.10000	0.10000	0.20000	0.10000	0.20000	0.100000	0.044148
Lignocérico	43	0.06977	0.10000	0.00000	0.10000	0.00000	0.10000	0.100000	0.046470
Trans O	43	0.02233	0.02000	0.01000	0.05000	0.01000	0.03000	0.020000	0.011513
Trans L y Ln	43	0.02535	0.02000	0.01000	0.05000	0.02000	0.03000	0.010000	0.009347

Tabla III .7. ÁCIDOS GRASOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Mirístico	Palmítico	Palmitoleico.	Margárico	Margaroleico	Esteárico
ACEBU 1	0.02	23.9	3.8	0.1	0.1	3.1
ACEBU 2	0.01	13.4	1.3	0.1	0.1	2.9
ACEBU 2A	0.02	15.0	1.4	0.1	0.1	2.7
ACEBU 3	0.02	12.6	1.1	0.3	0.5	2.9
ACEBU 4	0.02	24.5	5.0	0.1	0.1	2.6
ACEBU 5	0.01	19.5	2.8	0.1	0.2	2.5
ACEBU 6	0.01	16.5	2.8	T	0.1	1.8
ACEBU 6A	0.01	13.5	2.0	T	0.1	1.7
ACEBU 7	0.02	17.2	2.4	T	0.1	2.0
ACEBU 8	0.01	13.2	1.2	0.2	0.3	3.1
ACEBU 9	0.01	14.8	1.9	0.1	0.1	2.1
ACEBU 10	0.01	16.8	2.9	0.1	0.1	2.2
ACEBU 10A	0.01	13.4	2.3	0.1	0.1	2.1
ACEBU 11	0.02	19.0	3.3	0.1	0.1	2.2
ACEBU 12	0.02	19.8	4.1	T	0.1	2.2
ACEBU 13	0.01	13.8	2.0	0.1	0.1	1.7
ACEBU 14	0.02	12.2	1.7	T	0.1	2.2
ACEBU 15	0.02	15.3	2.4	0.1	0.1	2.1
ACEBU 15A	0.02	13.9	1.5	0.1	0.1	2.0
ACEBU 15B	0.02	13.8	1.8	T	0.1	2.2
ACEBU 16	0.01	12.2	1.0	0.1	0.3	2.4
ACEBU 17	0.02	24.4	5.8	T	0.1	2.0
ACEBU 18	0.02	16.8	1.8	0.1	0.1	3.1
ACEBU 19	0.01	20.2	3.9	T	0.1	2.2
ACEBU 20	0.01	22.0	4.7	0.1	0.1	2.0
ACEBU 20A	0.01	14.3	2.2	T	0.1	2.0
ACEBU 21	0.02	21.0	3.2	0.1	0.1	2.7
ACEBU 22	0.01	19.1	2.1	T	0.1	2.5
ACEBU 23	0.02	19.6	3.3	0.1	0.3	2.0
ACEBU 24	0.01	21.0	5.2	0.1	0.1	1.6
ACEBU 25	0.01	25.3	7.2	T	0.1	1.9
ACEBU 26	0.01	19.5	4.7	T	0.1	1.5
ACEBU 27	0.02	15.2	2.1	0.3	0.4	2.4
ACEBU 28	0.01	14.4	2.4	0.2	0.4	1.8
ACEBU 28A	0.01	12.4	2.0	0.1	0.1	1.5
ACEBU 28B	0.02	17.5	4.1	0.1	0.2	1.9
ACEBU 29	0.01	13.5	1.9	0.1	0.1	1.9
ACEBU 30	0.01	18.5	5.1	0.1	0.1	1.9
ACEBU 31	0.01	12.6	1.7	0.1	0.1	2.0
ACEBU 32	0.01	16.1	3.3	T	0.1	1.9
ACEBU 33	0.01	14.6	1.8	0.1	0.1	2.4

Tabla III.7. ÁCIDOS GRASOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Mirístico	Palmítico	Palmitoleico	Margárico	Margaroleico	Esteárico
ACEBU 34	0.01	13.9	1.9	0.1	0.1	1.8
ACEBU 35	0.01	13.9	2.1	0.1	0.1	2.0
ACEBU 36	0.01	13.5	1.8	0.1	0.1	3.1
ACEBU 37	0.01	11.3	1.2	T	0.1	1.6
ACEBU 38	0.01	16.8	2.3	0.1	0.1	2.8
ACEBU 39	0.01	12.5	1.4	T	0.1	1.5
ACEBU 40	0.01	16.5	3.4	T	0.1	2.0
ACEBU 41	0.01	8.6	0.8	T	0.1	1.4
ACEBU 42	0.01	11.3	1.2	0.1	0.1	2.0
ACEBU 43	0.01	13.0	1.3	T	0.1	1.7

Tabla III.7. ÁCIDOS GRASOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Oleico	Linoleico	Linolénico	Aráquico	Gadoleico	Behénico
ACEBU 1	59.1	8.5	0.7	0.4	0.1	0.1
ACEBU 2	72.0	8.4	0.8	0.5	0.3	0.2
ACEBU 2A	71.5	7.5	0.4	0.5	0.4	0.3
ACEBU 3	64.4	16.5	0.8	0.4	0.3	0.1
ACEBU 4	54.4	11.6	1.0	0.4	0.2	0.1
ACEBU 5	59.0	14.1	0.9	0.4	0.2	0.1
ACEBU 6	72.3	5.1	0.7	0.3	0.2	0.1
ACEBU 6A	72.2	8.8	0.9	0.3	0.3	0.1
ACEBU 7	67.0	9.4	1.0	0.4	0.3	0.2
ACEBU 8	76.0	4.6	0.6	0.4	0.2	0.1
ACEBU 9	73.0	6.0	1.2	0.4	0.3	0.2
ACEBU 10	65.7	10.6	0.8	0.4	0.2	0.1
ACEBU 10A	69.4	10.4	1.1	0.4	0.3	0.2
ACEBU 11	63.2	10.5	0.9	0.3	0.2	0.1
ACEBU 12	61.9	10.3	0.9	0.3	0.2	0.1
ACEBU 13	74.3	6.2	1.0	0.4	0.3	0.2
ACEBU 14	76.1	6.2	0.8	0.4	0.2	0.1
ACEBU 15	69.3	9.0	0.9	0.4	0.2	0.2
ACEBU 15A	71.5	8.6	1.1	0.5	0.4	0.2
ACEBU 15B	73.1	7.3	0.7	0.4	0.2	0.2
ACEBU 16	72.8	9.6	0.7	0.4	0.3	0.1
ACEBU 17	54.3	11.6	1.0	0.4	0.2	0.2
ACEBU 18	67.8	8.3	1.2	0.5	0.2	0.1
ACEBU 19	65.9	5.9	0.9	0.4	0.2	0.1
ACEBU 20	57.5	12.2	0.8	0.4	0.2	0.1
ACEBU 20A	74.5	4.9	1.1	0.4	0.3	0.1
ACEBU 21	59.4	11.4	1.3	0.5	0.2	0.1
ACEBU 22	66.3	8.0	0.9	0.5	0.2	0.1
ACEBU 23	67.2	6.1	0.9	0.3	0.2	0.1
ACEBU 24	56.5	13.5	1.2	0.4	0.2	0.1
ACEBU 25	51.8	12.2	0.7	0.4	0.2	0.2
ACEBU 26	54.2	18.2	1.1	0.3	0.2	0.1
ACEBU 27	68.4	9.1	1.2	0.5	0.3	0.1
ACEBU 28	66.4	12.2	1.2	0.4	0.3	0.2
ACEBU 28A	71.9	9.6	1.4	0.4	0.4	0.2
ACEBU 28B	60.4	14.0	1.0	0.4	0.2	0.1
ACEBU 29	73.1	7.9	0.7	0.4	0.2	0.1
ACEBU 30	67.8	4.5	1.0	0.5	0.3	0.2
ACEBU 31	76.4	5.3	0.8	0.5	0.3	0.2
ACEBU 32	69.3	7.2	1.0	0.4	0.3	0.1
ACEBU 33	67.6	11.8	0.9	0.4	0.2	0.1

Tabla III.7. ÁCIDOS GRASOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Oleico	Linoleico	Linolénico	Aráquico	Gadoleico	Behénico
ACEBU 34	74.0	6.2	1.1	0.4	0.2	0.2
ACEBU 35	73.1	7.3	0.6	0.4	0.2	0.1
ACEBU 36	73.7	6.5	0.6	0.4	0.2	0.1
ACEBU 37	75.0	8.8	1.1	0.3	0.3	0.1
ACEBU 38	67.3	9.0	0.9	0.4	0.2	0.1
ACEBU 39	71.2	11.2	1.2	0.4	0.3	0.1
ACEBU 40	68.6	7.9	0.7	0.4	0.2	0.1
ACEBU 41	81.7	5.6	0.9	0.3	0.3	0.1
ACEBU 42	75.7	8.1	0.8	0.3	0.2	0.1
ACEBU 43	71.5	10.7	0.7	0.4	0.3	0.2

Tabla III.7. ÁCIDOS GRASOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Lignocérico	Trans Oleico	Trans Linoléico más Linolénico
ACEBU 1	0.1	0.02	0.03
ACEBU 2	0.1	0.04	0.02
ACEBU 2A	0.2	0.05	0.03
ACEBU 3	T	0.03	0.04
ACEBU 4	T	0.04	0.05
ACEBU 5	T	0.04	0.02
ACEBU 6	T	0.01	0.01
ACEBU 6A	0.1	0.03	0.03
ACEBU 7	0.1	0.05	0.04
ACEBU 8	T	0.04	0.02
ACEBU 9	0.1	0.04	0.03
ACEBU 10	0.1	0.04	0.03
ACEBU 10A	0.1	0.02	0.03
ACEBU 11	T	0.02	0.02
ACEBU 12	T	0.03	0.03
ACEBU 13	0.1	0.04	0.01
ACEBU 14	0.1	0.02	0.01
ACEBU 15	0.1	0.02	0.02
ACEBU 15A	0.2	0.03	0.05
ACEBU 15B	0.1	0.05	0.01
ACEBU 16	T	0.04	0.02
ACEBU 17	0.1	0.02	0.03
ACEBU 18	0.1	0.02	0.03
ACEBU 19	0.1	0.02	0.02
ACEBU 20	0.1	0.02	0.03
ACEBU 20A	0.1	0.01	0.01
ACEBU 21	0.1	0.02	0.04
ACEBU 22	0.1	0.02	0.02
ACEBU 23	T	0.01	0.02
ACEBU 24	0.1	0.03	0.03
ACEBU 25	0.1	0.02	0.03
ACEBU 26	T	0.03	0.04
ACEBU 27	0.1	0.03	0.04
ACEBU 28	0.1	0.02	0.03
ACEBU 28A	0.1	0.01	0.03
ACEBU 28B	0.1	0.04	0.03
ACEBU 29	0.1	0.02	0.02
ACEBU 30	0.1	0.03	0.02
ACEBU 31	0.1	0.01	0.02
ACEBU 32	0.1	0.01	0.02
ACEBU 33	0.1	0.01	0.02

Tabla III.7. ÁCIDOS GRASOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Lignocérico	Trans Oleico	Trans Linoleico más Linolénico
ACEBU 34	0.1	0.01	0.02
ACEBU 35	T	0.01	0.02
ACEBU 36	T	0.01	0.01
ACEBU 37	0.1	0.01	0.02
ACEBU 38	0.1	0.01	0.03
ACEBU 39	T	0.02	0.03
ACEBU 40	T	0.02	0.02
ACEBU 41	0.1	0.01	0.03
ACEBU 42	0.1	0.01	0.02
ACEBU 43	T	0.02	0.02

III.3.6. ÁCIDOS GRASOS DE LOS ACEITES DE OLIVA.

El perfil de los ácidos grasos de las 42 muestras de aceite de oliva virgen viene reflejado en la tabla III.8.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.8.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1^{er} cuartil	3^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
Mirístico	42	0.01548	0.02000	0.01000	0.03000	0.01000	0.02000	0.010000	0.005501
Palmítico	42	12.51905	12.70000	8.60000	17.00000	11.00000	13.80000	2.800000	1.961861
Palmitoleico.	42	1.16667	1.20000	0.60000	2.30000	0.90000	1.40000	0.500000	0.375900
Margárico	42	0.14048	0.10000	0.00000	0.20000	0.10000	0.20000	0.100000	0.058683
Margaroleico	42	0.21667	0.20000	0.10000	0.40000	0.10000	0.30000	0.200000	0.090841
Esteárico	42	2.86905	2.95000	1.80000	3.70000	2.50000	3.10000	0.600000	0.434201
Oleico	42	73.39762	74.00000	62.10000	79.60000	71.20000	75.70000	4.500000	3.694194
Linoleico	42	7.96667	7.75000	3.80000	14.90000	6.70000	9.00000	2.300000	2.321130
Linolénico	42	0.79048	0.80000	0.50000	1.00000	0.70000	0.80000	0.100000	0.112205
Aráquico	42	0.43333	0.40000	0.30000	0.50000	0.40000	0.50000	0.100000	0.052576
Gadoleico	42	0.31429	0.30000	0.20000	0.40000	0.30000	0.30000	0.000000	0.041739
Behénico	42	0.10238	0.10000	0.10000	0.20000	0.10000	0.10000	0.000000	0.015430
Lignocérico	42	0.08571	0.10000	0.00000	0.10000	0.10000	0.10000	0.000000	0.035417
Trans O	42	0.02167	0.02000	0.01000	0.04000	0.01000	0.03000	0.020000	0.009857
Trans L y Ln	42	0.02095	0.02000	0.01000	0.05000	0.02000	0.02000	0.000000	0.009055

Tabla III.8. ÁCIDOS GRASOS (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	Mirístico	Palmítico	Palmitoleico	Margárico	Margaroleico	Esteárico
OLIVA 1	0.01	11.3	0.8	0.2	0.3	2.5
OLIVA 2	0.02	8.9	0.7	T	0.1	2.6
OLIVA 3	0.01	12.5	1.0	0.2	0.3	2.2
OLIVA 4	0.01	11.9	1.0	0.1	0.2	2.8
OLIVA 5	0.01	10.7	0.8	0.1	0.2	3.0
OLIVA 6	0.02	10.4	0.7	0.2	0.2	3.1
OLIVA 7	0.01	10.4	0.8	0.1	0.1	3.4
OLIVA 8	0.01	11.0	0.9	0.1	0.1	3.4
OLIVA 9	0.01	10.2	0.7	0.1	0.2	2.9
OLIVA 10	0.02	15.4	1.7	0.2	0.3	3.1
OLIVA 11	0.02	14.1	1.4	0.2	0.3	3.3
OLIVA 12	0.02	14.9	1.6	0.2	0.3	3.2
OLIVA 13	0.01	11.4	0.9	0.1	0.2	3.1
OLIVA 14	0.02	15.9	1.8	0.2	0.3	2.9
OLIVA 15	0.02	15.1	1.6	0.2	0.3	3.0
OLIVA 16	0.02	13.8	1.2	0.2	0.4	2.0
OLIVA 17	0.02	13.0	1.2	0.1	0.2	2.7
OLIVA 18	0.02	13.3	1.4	0.1	0.1	2.8
OLIVA 19	0.01	13.0	1.3	0.2	0.3	3.7
OLIVA 20	0.02	14.3	1.5	0.2	0.3	3.5
OLIVA 21	0.02	13.0	1.2	0.2	0.4	2.2
OLIVA 22	0.02	13.7	1.6	0.1	0.2	2.5
OLIVA 23	0.02	17.0	2.3	0.1	0.2	1.8
OLIVA 24	0.02	13.2	1.2	0.1	0.2	3.2
OLIVA 25	0.02	13.2	1.2	0.2	0.3	2.5
OLIVA 26	0.02	13.3	1.2	0.2	0.4	2.1
OLIVA 27	0.01	13.6	1.4	0.1	0.1	2.5
OLIVA 28	0.02	13.9	1.3	0.1	0.2	3.1
OLIVA 29	0.02	12.0	0.9	0.2	0.3	2.7
OLIVA 30	0.01	12.7	1.2	0.1	0.2	2.4
OLIVA 31	0.01	11.8	1.0	0.1	0.2	2.8
OLIVA 32	0.03	9.4	0.7	T	0.1	3.0
OLIVA 33	0.01	8.6	0.6	0.2	0.2	3.5
OLIVA 34	0.02	15.6	1.9	0.1	0.2	2.5
OLIVA 35	0.01	14.1	1.4	0.2	0.3	3.0
OLIVA 36	0.01	11.5	1.0	0.1	0.1	3.2
OLIVA 37	0.01	9.5	0.8	0.1	0.1	3.5
OLIVA 38	0.01	11.7	1.1	0.1	0.1	2.9
OLIVA 39	0.01	12.2	1.2	0.1	0.1	3.0
OLIVA 40	0.01	12.7	1.2	0.1	0.1	3.0
OLIVA 41	0.02	11.0	0.9	0.2	0.2	3.0
OLIVA 42	0.01	10.6	0.7	0.2	0.2	2.9

Tabla III.8. ÁCIDOS GRASOS (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	Oleico	Linoleico	Linolénico	Aráquico	Gadoleico	Behénico
OLIVA 1	73.3	9.9	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 2	75.7	10.3	0.9	0.3	0.4	0.1
OLIVA 3	74.1	8.0	0.8	0.4	0.3	0.1
OLIVA 4	73.9	8.5	0.8	0.4	0.3	0.1
OLIVA 5	74.5	9.0	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 6	74.8	9.0	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 7	78.0	5.9	0.6	0.4	0.3	0.1
OLIVA 8	77.7	5.2	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 9	75.5	8.5	0.8	0.5	0.4	0.1
OLIVA 10	68.7	8.8	0.8	0.5	0.3	0.1
OLIVA 11	71.8	7.0	0.8	0.5	0.3	0.1
OLIVA 12	70.5	7.6	0.7	0.5	0.3	0.1
OLIVA 13	76.5	6.0	0.8	0.4	0.3	0.1
OLIVA 14	68.1	9.0	0.9	0.5	0.3	0.1
OLIVA 15	69.5	8.7	0.8	0.4	0.2	0.1
OLIVA 16	68.6	11.8	1.0	0.4	0.3	0.1
OLIVA 17	72.5	8.4	1.0	0.4	0.3	0.1
OLIVA 18	74.8	5.7	0.8	0.4	0.3	0.1
OLIVA 19	73.2	6.7	0.7	0.5	0.3	0.1
OLIVA 20	70.5	7.9	0.8	0.5	0.3	0.1
OLIVA 21	70.7	10.3	1.0	0.4	0.3	0.1
OLIVA 22	72.8	7.6	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 23	62.1	14.9	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 24	73.9	6.7	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 25	71.2	9.6	0.9	0.4	0.3	0.1
OLIVA 26	67.8	12.9	1.0	0.4	0.3	0.1
OLIVA 27	72.6	8.1	0.8	0.4	0.3	0.1
OLIVA 28	71.7	8.1	0.8	0.5	0.3	0.1
OLIVA 29	74.8	7.2	0.8	0.5	0.4	0.1
OLIVA 30	75.3	6.2	0.9	0.4	0.3	0.1
OLIVA 31	76.9	5.5	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 32	74.6	10.3	1.0	0.4	0.4	0.1
OLIVA 33	77.7	7.3	0.8	0.5	0.4	0.1
OLIVA 34	66.0	12.0	0.8	0.4	0.3	0.1
OLIVA 35	72.5	6.7	0.8	0.5	0.3	0.1
OLIVA 36	77.5	5.1	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 37	79.6	5.0	0.5	0.5	0.3	0.1
OLIVA 38	78.8	3.8	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 39	77.9	4.0	0.7	0.4	0.3	0.1
OLIVA 40	74.6	6.8	0.7	0.5	0.3	0.1
OLIVA 41	75.4	7.3	0.9	0.5	0.4	0.2
OLIVA 42	76.1	7.3	0.8	0.5	0.4	0.1

Tabla III.8. ÁCIDOS GRASOS (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA

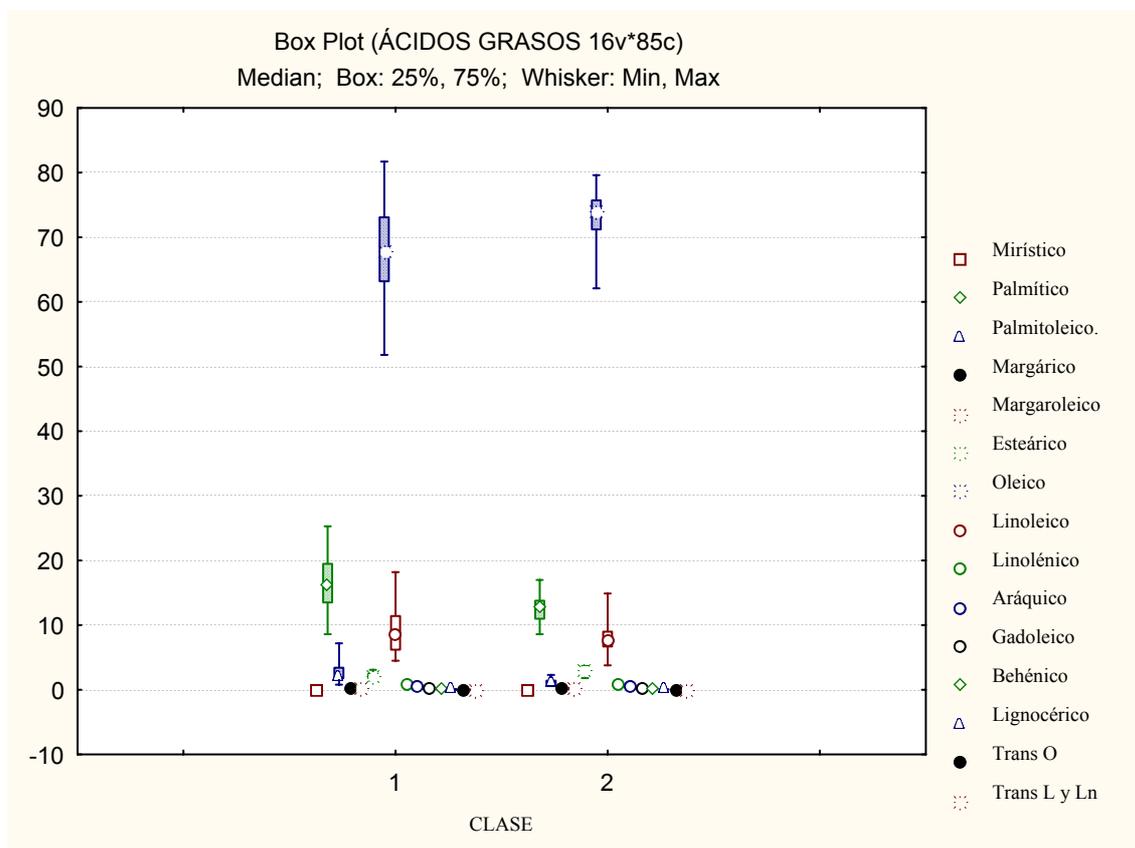
MUESTRA	Lignocérico	Trans Oleico	Trans Linoleico más Linolénico
OLIVA 1	0.1	0.02	0.04
OLIVA 2	T	0.03	0.02
OLIVA 3	0.1	0.03	0.02
OLIVA 4	0.1	0.02	0.02
OLIVA 5	T	0.03	0.02
OLIVA 6	0.1	0.02	0.02
OLIVA 7	T	0.03	0.01
OLIVA 8	0.1	0.01	0.01
OLIVA 9	0.1	0.03	0.01
OLIVA 10	0.1	0.04	0.05
OLIVA 11	0.1	0.04	0.02
OLIVA 12	0.1	0.04	0.02
OLIVA 13	0.1	0.01	0.02
OLIVA 14	0.1	0.02	0.02
OLIVA 15	T	0.03	0.03
OLIVA 16	0.1	0.04	0.03
OLIVA 17	0.1	0.02	0.03
OLIVA 18	0.1	0.04	0.01
OLIVA 19	0.1	0.01	0.01
OLIVA 20	0.1	0.03	0.02
OLIVA 21	0.1	0.02	0.03
OLIVA 22	0.1	0.03	0.02
OLIVA 23	0.1	0.03	0.04
OLIVA 24	0.1	0.02	0.01
OLIVA 25	0.1	0.02	0.02
OLIVA 26	0.1	0.02	0.02
OLIVA 27	0.1	0.01	0.01
OLIVA 28	0.1	0.01	0.02
OLIVA 29	0.1	0.02	0.02
OLIVA 30	0.1	0.01	0.02
OLIVA 31	0.1	0.02	0.02
OLIVA 32	T	0.02	0.02
OLIVA 33	0.1	0.01	0.02
OLIVA 34	0.1	0.02	0.04
OLIVA 35	0.1	0.02	0.02
OLIVA 36	0.1	0.01	0.02
OLIVA 37	T	0.01	0.02
OLIVA 38	0.1	0.01	0.01
OLIVA 39	0.1	0.01	0.01
OLIVA 40	0.1	0.01	0.02
OLIVA 41	0.1	0.02	0.02
OLIVA 42	0.1	0.02	0.02

GRÁFICOS “BOX AND WHISKER” PARA LOS ÁCIDOS GRASOS DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA.

Para realizar el estudio comparativo entre los ácidos grasos de los aceites de acebuchina vírgenes y de los aceites de oliva vírgenes, recurrimos a los gráficos de “box and whisker” (“caja y bigotes”).

En un primer lugar realizamos un gráfico con todas las variables (distintos ácidos grasos) para las dos clases (acebuchina y oliva), resultando el siguiente gráfico:

GRÁFICO III.3.



A continuación, aplicamos este tipo de gráficos solamente para un determinado ácido graso para ambas clases (acebuchina y oliva), de modo que se aprecie con mayor claridad las diferencias que hubiera. Hemos de decir que solamente los hemos aplicado a los ácidos grasos más significativos, como son los ácidos palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, linoleico, linolénico, aráquico y gadoleico. El resto de los ácidos grasos, por tener valores muy iguales, se

han desestimados para hacer este estudio. Los gráficos de “caja y bigote” resultantes son los siguientes:

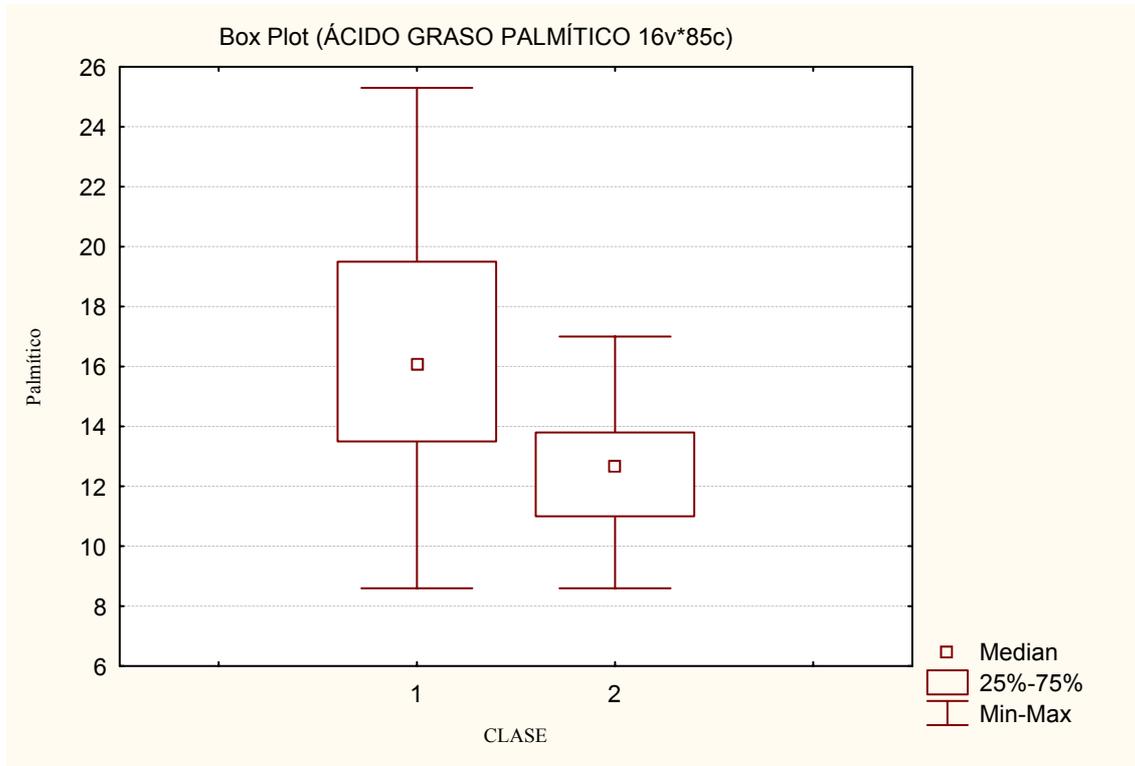
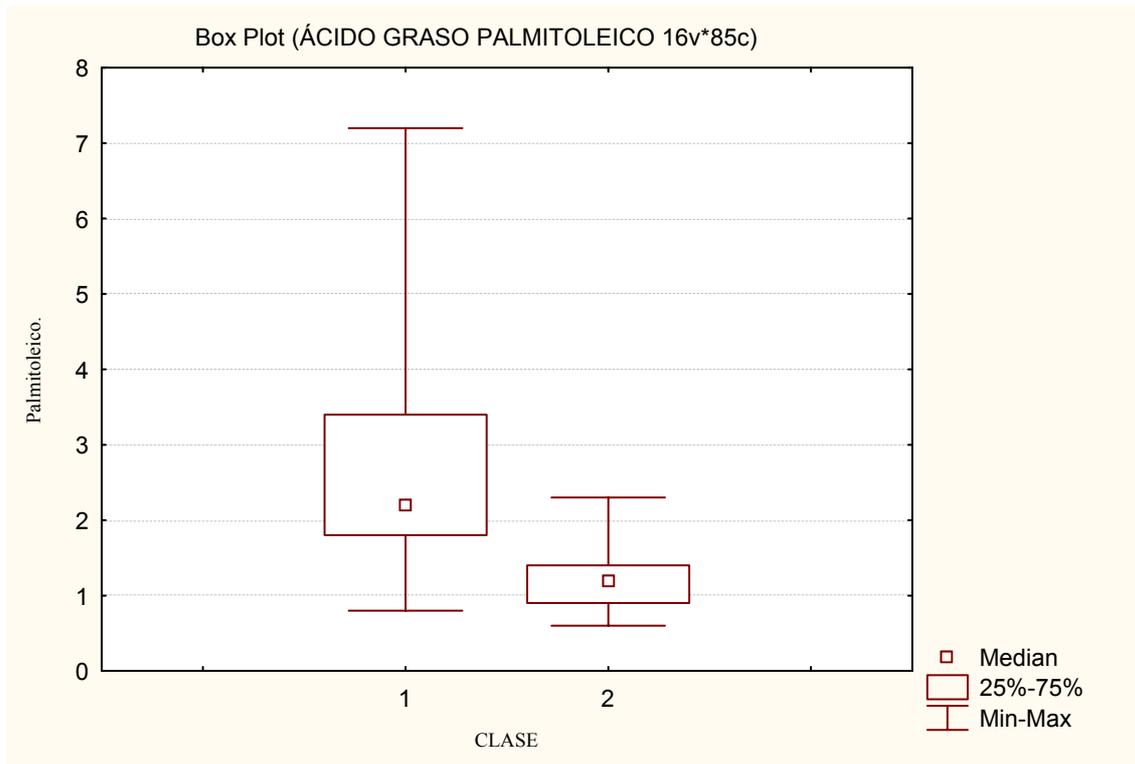
GRÁFICO III.4.**GRÁFICO III.5.**

GRÁFICO III.6.

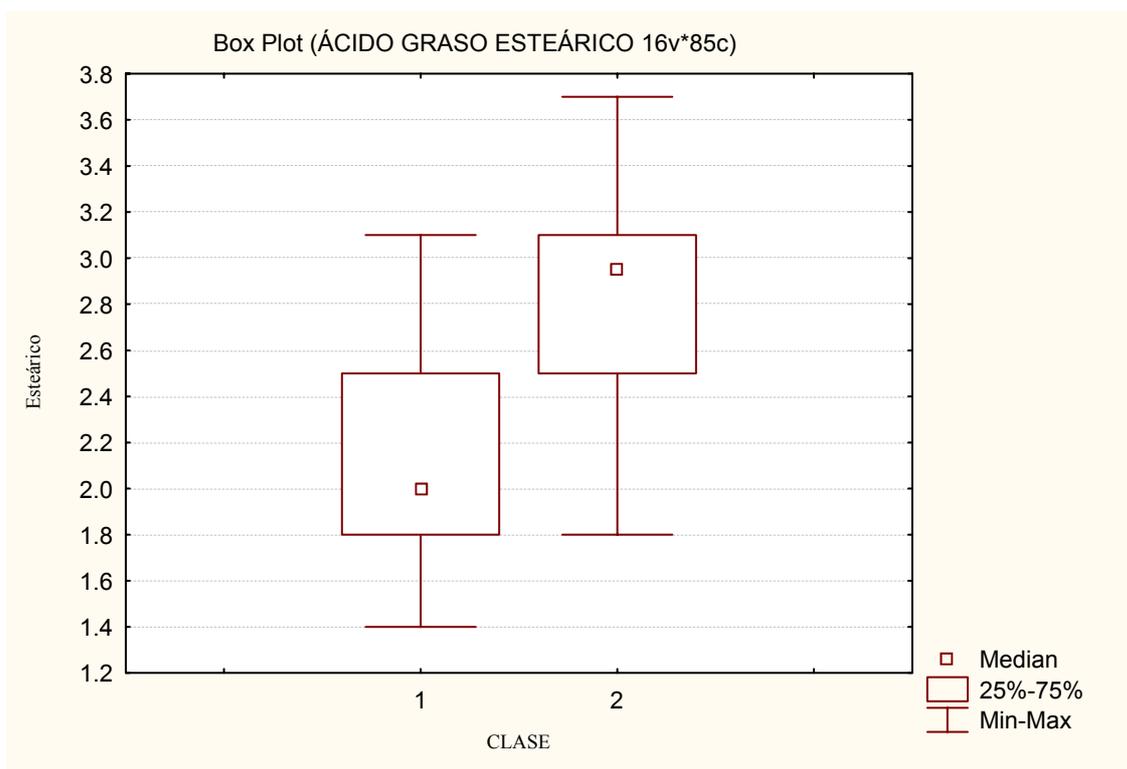


GRÁFICO III.7.

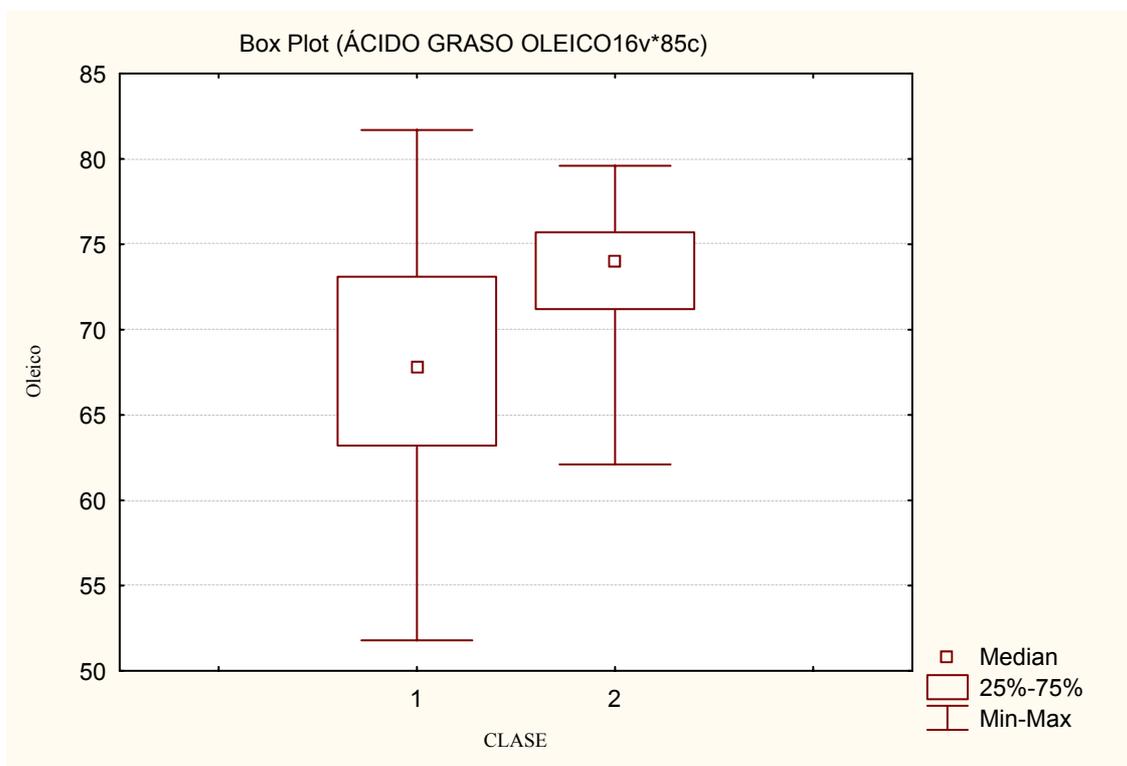


GRÁFICO III.8.

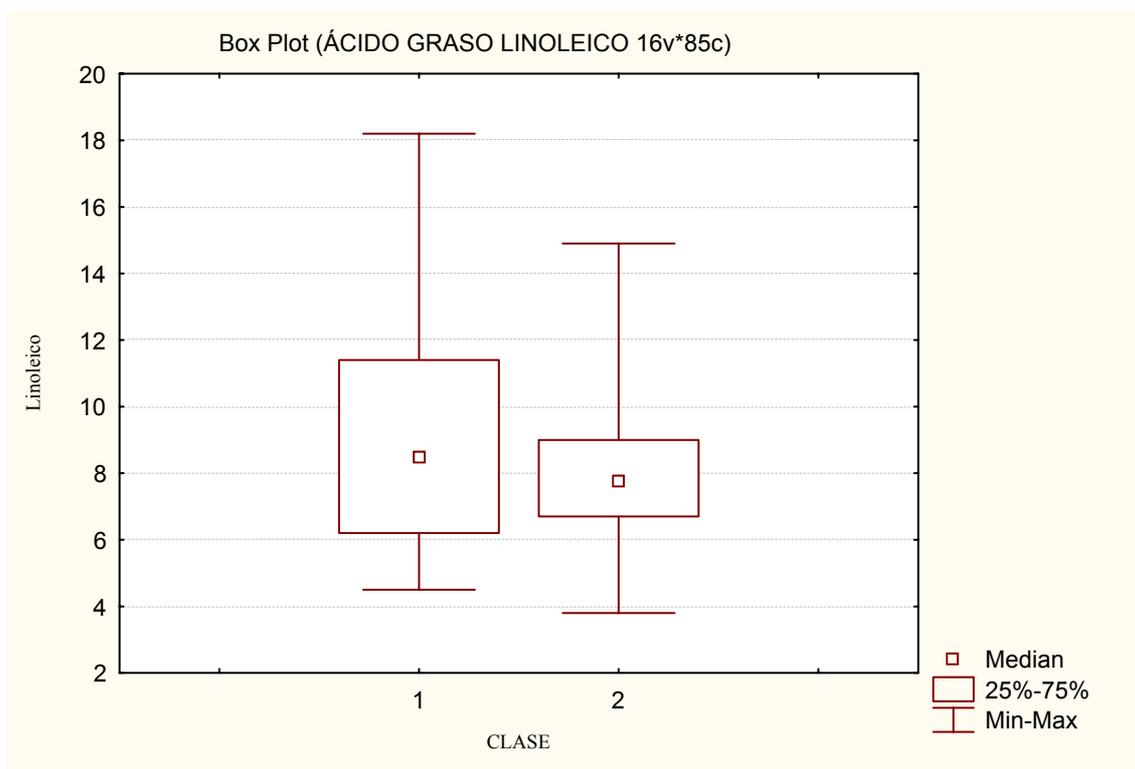


GRÁFICO III.9.

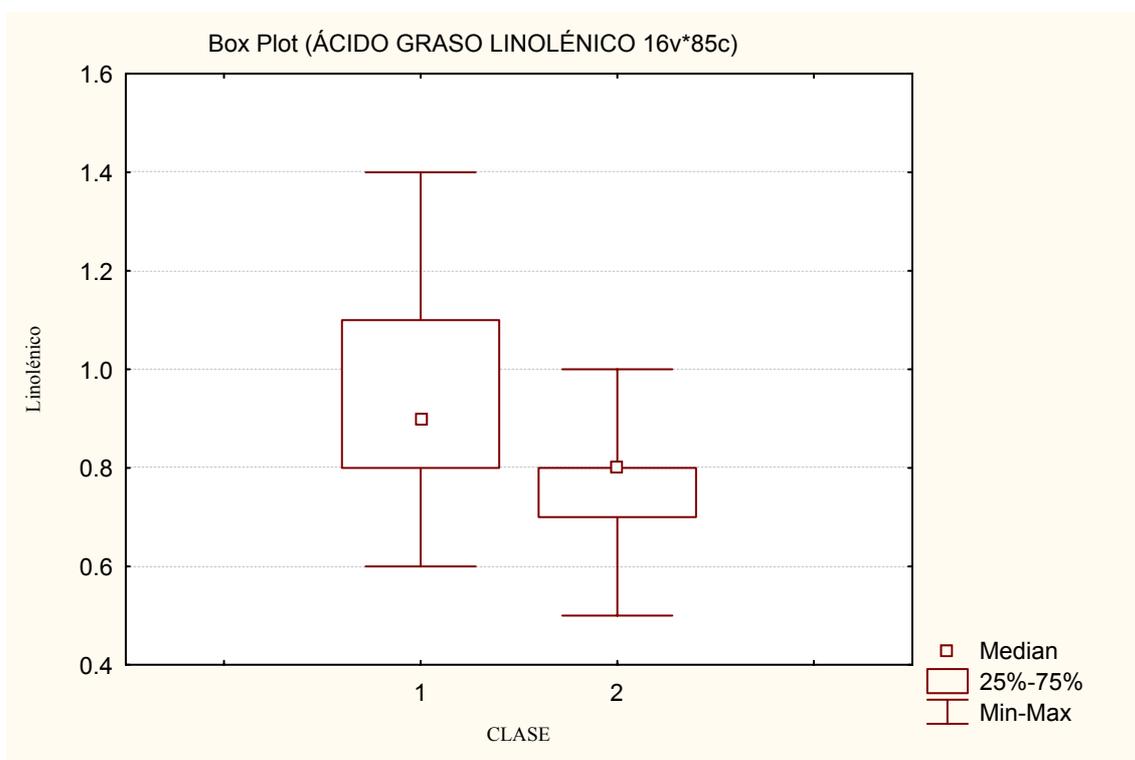


GRÁFICO III.10.

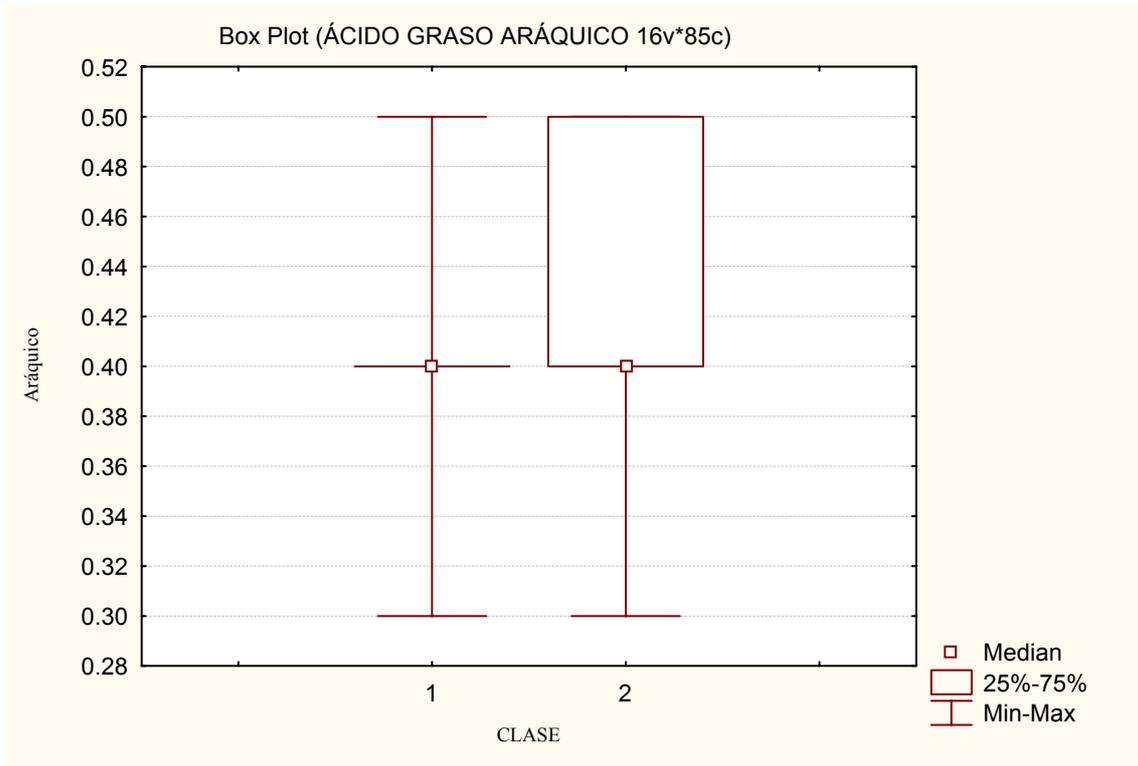
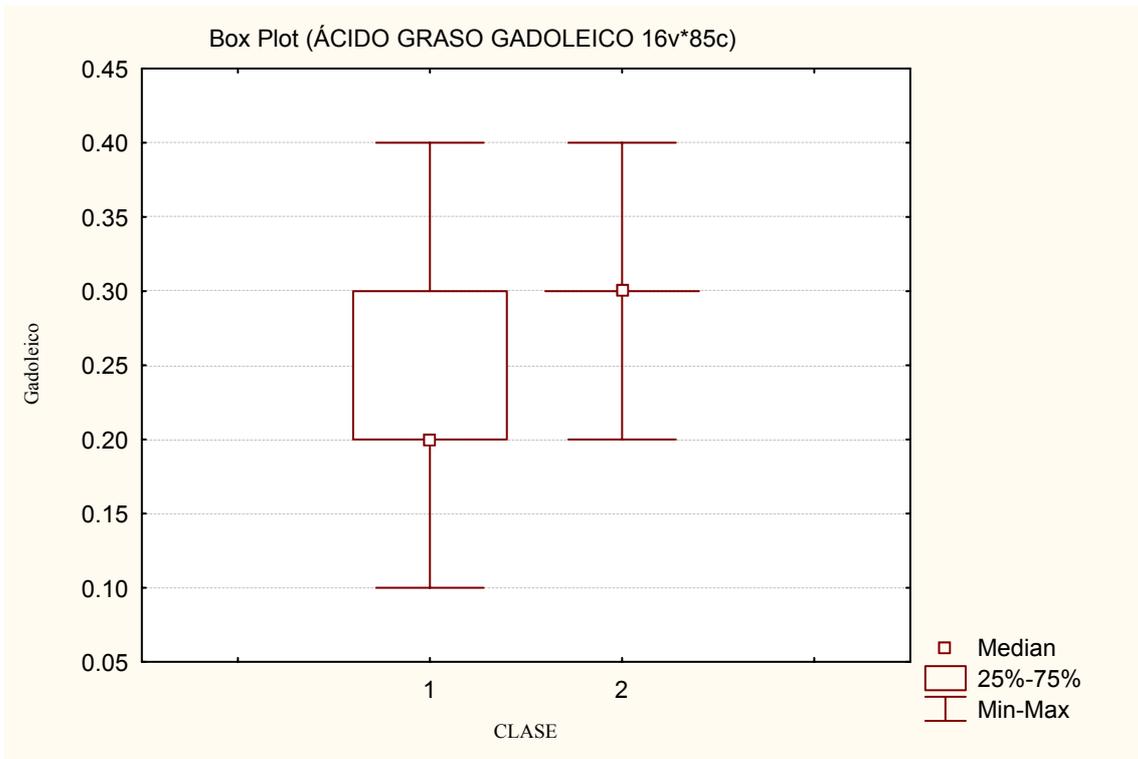


GRÁFICO III.11.



En los gráficos de “box and whisker” vienen representadas las variables, que en este caso son los ácidos grasos de las dos clases que hemos llamado 1 y 2 correspondientes a las muestras de aceite de acebuchina y de oliva respectivamente.

Cada gráfico está formado por un segmento cuyos extremos son los valores mínimo y máximo. Superponiéndose a este segmento se encuentra un cuadrado o rectángulo (caja), cuyos lados inferior y superior representan los percentiles 25 % y 75 % respectivamente. Dentro de la “caja” se encuentra el valor de la mediana.

Con estos gráficos de “caja y bigote” se puede ver con claridad las diferencias existentes entre los ácidos grasos de los aceites de acebuchina vírgenes y los de los aceites de oliva vírgenes. Sobre todo, donde existen mayores divergencias es en los ácidos grasos palmítico y palmitoleico (gráficos III.4 y III.5); también existen variaciones en los ácidos esteárico, oleico, linoleico y linolénico (gráficos III.6, III.7, III.8 y III.9).

III.3.7. TRIGLICÉRIDOS DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

En este análisis, como en todos, las muestras obtenidas por extracción no son tenidas en cuenta aunque en algún caso se haya determinado por simple curiosidad. Así las muestras excluidas son la 2A, 10A, 15, 15A, 15B, 28B y 43. También se ha excluido la muestra 16, que es envasada y que como ya hemos dicho con anterioridad no sabemos con exactitud si es genuinamente de acebuchina.

Los resultados analíticos obtenidos en la determinación de los triglicéridos vienen recogidos en la tabla III.9. Aunque cromatográficamente se pueden separar con su pico correspondiente los triglicéridos OLL, PoOL, PLL y LnOO, sin embargo, en el tratamiento estadístico hemos preferido darlos como suma (el primero con el segundo y el tercero con el cuarto) ya que cromatográficamente salen sumados como un solo pico las parejas de triglicéridos OLO - PoOO, PLO - SLL, POO - SOL y POP-PLS.

Hemos denominado como “1”, “2” y “3” a los tres picos que salen al final del cromatograma, ya que no hemos encontrado en la bibliografía como se llaman estos tres triglicéridos.

Tabla III.9. TRIGLICÉRIDOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	LLL	LLnO	PLnO	OLL+PoOL	PLL+LnOO	POLn
ACEBU 1	0.2	0.1	0.1	1.8+1.3	1.5+1.9	0.2
ACEBU 2	0.5	0.3	T	2.9+1.5	0.6+0.7	0.1
ACEBU 2A						
ACEBU 3	0.7	0.6	0.1	6.2+1.0	2.2+0.6	0.3
ACEBU 4	0.1	0.6	0.2	1.9+2.2	2.3+3.2	0.3
ACEBU 5	0.4	0.6	0.2	4.1+1.3	2.6+1.5	0.3
ACEBU 6	0.2	0.2	T	0.9+1.7	0.4+0.8	0.1
ACEBU 6A	0.3	0.4	0.1	2.2+1.9	0.7+0.9	0.1
ACEBU 7	0.2	0.3	0.1	2.3+1.9	0.9+1.2	0.1
ACEBU 8	T	0.1	T	0.8+1.4	0.5+0.1	0.1
ACEBU 9	0.2	0.4	0.5	1.2+2.1	0.5+1.8	0.7
ACEBU 10	0.2	0.4	0.1	2.9+1.6	1.1+1.0	0.1
ACEBU 10A						
ACEBU 11	0.2	0.5	0.1	2.7+1.4	1.3+1.3	0.2
ACEBU 12	0.2	0.5	0.2	2.6+1.9	1.5+1.7	0.2
ACEBU 13	T	0.1	0.1	1.4+1.8	0.3+1.0	0.2
ACEBU 14	0.1	0.3	0.1	1.3+1.7	0.3+0.7	0.1
ACEBU 15						
ACEBU 15A						
ACEBU 15B						
ACEBU 16	0.2	0.4	0.1	2.6+1.4	0.7+0.6	0.1
ACEBU 17	0.5	0.5	0.2	2.6+2.2	2.6+2.9	0.2
ACEBU 18	0.2	0.4	0.2	2.6+1.9	0.6+1.5	0.1
ACEBU 19	0.2	0.3	0.1	1.6+1.7	0.6+1.7	0.2
ACEBU 20	0.3	0.6	0.1	3.5+1.4	2.4+1.5	0.2
ACEBU 20A	0.1	0.3	T	0.9+2.0	0.4+1.0	0.1
ACEBU 21	0.6	0.5	0.2	3.9+1.8	2.3+1.5	0.2
ACEBU 22	0.3	0.2	0.1	2.4+1.4	0.7+1.2	0.2
ACEBU 23	T	0.3	0.1	1.1+1.8	0.6+1.3	0.2
ACEBU 24	0.6	0.7	0.3	4.4+2.1	2.8+2.4	0.2
ACEBU 25	0.6	0.7	0.2	2.6+2.3	3.2+3.6	0.2
ACEBU 26	0.7	1.4	0.3	6.4+2.4	4.0+2.0	0.1
ACEBU 27	0.2	0.5	0.1	2.5+1.9	0.8+1.1	0.2
ACEBU 28	0.4	0.6	0.2	4.4+1.8	1.4+1.0	0.2
ACEBU 28A	0.2	0.5	0.2	3.0+2.2	0.8+1.1	0.2
ACEBU 28B	0.4	0.6	0.2	4.6+2.0	2.2+1.4	0.2
ACEBU 29	0.1	0.2	0.1	2.1+1.4	0.6+0.7	0.1
ACEBU 30	0.1	0.4	0.1	0.6+2.1	0.6+1.8	0.2
ACEBU 31	0.1	0.1	0.1	1.2+1.4	0.4+0.8	0.1
ACEBU 32	0.1	0.4	0.1	1.4+2.4	0.7+1.7	0.1
ACEBU 33	0.3	0.4	0.1	4.5+1.5	1.2+0.7	0.1

Tabla III.9. TRIGLICÉRIDOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	LLL	LLnO	PLnO	OLL+PoOLPLL+LnOO	POLn	
ACEBU 34	0.1	0.4	0.1	1.2+2.1	0.5+1.0	0.1
ACEBU 35	0.1	0.2	0.1	1.7+1.5	0.9+1.6	0.1
ACEBU 36	0.1	0.2	0.1	1.4+1.0	0.7+0.7	0.1
ACEBU 37	0.1	0.5	0.1	3.3+2.2	0.5+0.8	0.1
ACEBU 38	0.1	0.4	0.1	2.6+1.7	0.8+1.0	0.1
ACEBU 39	0.3	0.5	0.1	4.0+2.0	0.8+0.8	0.2
ACEBU 40	0.1	0.2	0.2	1.4+1.4	0.6+1.0	0.1
ACEBU 41	T	0.3	T	1.0+2.0	0.3+0.5	0.1
ACEBU 42	0.1	0.3	T	2.2+1.4	0.4+0.5	0.1
ACEBU 43	0.1	0.4	0.1	3.4+1.2	0.8+0.6	0.1

Tabla III.9. TRIGLICÉRIDOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	OLO+PoOO	PLO+SLL	PPL	OOO	POO+SOL	POP+PLS
ACEBU 1	10.1	11.9	3.4	22.5	28.0	10.8
ACEBU 2	13.2	6.5	0.8	39.3	23.5	3.6
ACEBU 2A						
ACEBU 3	21.1	10.9	1.6	28.2	18.6	2.8
ACEBU 4	11.5	15.9	4.9	19.1	23.8	9.6
ACEBU 5	15.5	14.3	3.2	22.0	22.9	6.8
ACEBU 6	11.0	6.6	0.9	39.0	28.6	5.1
ACEBU 6A	15.8	7.8	0.9	37.5	23.4	3.8
ACEBU 7	14.6	10.0	1.7	31.9	25.2	5.2
ACEBU 8	8.6	3.9	0.8	46.6	25.6	4.1
ACEBU 9	10.2	5.5	0.7	40.9	26.5	4.3
ACEBU 10	16.1	10.9	1.6	29.7	24.6	5.3
ACEBU10A						
ACEBU 11	13.6	12.0	1.5	26.3	25.4	8.8
ACEBU 12	14.6	13.0	2.4	24.3	25.4	7.5
ACEBU 13	13.2	6.0	0.8	43.0	24.1	3.9
ACEBU 14	12.9	5.5	0.7	45.3	22.9	3.2
ACEBU 15						
ACEBU15A						
ACEBU15B						
ACEBU 16	16.1	7.4	1.1	39.7	21.4	3.0
ACEBU 17	11.6	16.9	4.1	17.4	24.6	10.1
ACEBU 18	14.1	9.6	1.2	33.5	22.7	4.6
ACEBU 19	10.8	9.3	1.4	29.7	29.4	8.2
ACEBU 20	14.0	15.7	3.1	20.1	24.9	8.7
ACEBU20A	11.7	5.5	0.6	41.0	27.5	4.3
ACEBU 21	11.5	12.8	2.8	23.5	24.8	8.6
ACEBU 22	11.1	9.5	1.4	29.8	28.7	7.6
ACEBU 23	12.4	9.0	1.3	31.0	29.6	7.3
ACEBU 24	14.8	16.3	3.3	20.9	21.7	6.6
ACEBU 25	11.3	18.8	4.8	15.4	23.3	10.0
ACEBU 26	16.8	17.6	3.5	17.5	18.9	6.1
ACEBU 27	14.6	8.8	1.1	35.8	23.7	3.9
ACEBU 28	17.4	10.7	1.5	32.6	20.5	3.9
ACEBU28A	16.3	8.0	0.8	40.6	20.5	2.7
ACEBU28B	17.5	14.5	2.2	24.3	20.8	5.6
ACEBU 29	14.7	7.5	0.8	40.3	23.9	3.6
ACEBU 30	11.8	9.6	1.2	31.9	28.6	6.8
ACEBU 31	11.0	5.3	0.6	46.3	24.5	3.3
ACEBU 32	12.8	9.1	1.4	36.2	24.4	5.0
ACEBU 33	16.4	10.0	1.1	32.9	22.1	4.2

Tabla III.9. TRIGLICÉRIDOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	OLO+PoOO	PLO+SLL	PPL	OOO	POO+SOL	POP+PLS
ACEBU 34	12.6	6.1	0.8	42.4	24.5	4.0
ACEBU 35	14.9	8.1	1.5	38.9	22.5	3.8
ACEBU 36	12.6	6.3	0.7	42.7	22.7	3.8
ACEBU 37	16.0	6.2	0.6	44.5	18.9	2.4
ACEBU 38	14.3	9.6	1.1	32.6	24.8	5.2
ACEBU 39	17.9	8.3	0.9	38.6	19.1	3.1
ACEBU 40	15.4	10.3	1.1	34.1	25.3	4.8
ACEBU 41	12.7	3.5	0.3	56.7	17.1	1.6
ACEBU 42	16.1	5.8	0.6	45.6	20.1	2.3
ACEBU 43	17.2	8.5	0.9	39.2	20.8	2.9

Tabla III.9. TRIGLICÉRIDOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	1)	2)	3)
ACEBU 1	T	3.8	2.1
ACEBU 2	0.4	4.8	1.2
ACEBU 2A			
ACEBU 3	0.3	3.7	1.1
ACEBU 4	0.1	2.8	1.5
ACEBU 5	0.1	2.9	1.3
ACEBU 6	0.2	3.1	1.1
ACEBU 6A	0.4	3.1	0.7
ACEBU 7	0.2	3.4	1.0
ACEBU 8	T	5.9	1.5
ACEBU 9	0.4	3.2	0.7
ACEBU 10	0.2	3.0	1.2
ACEBU10A			
ACEBU 11	0.1	3.1	1.5
ACEBU 12	0.1	2.6	1.3
ACEBU 13	0.3	2.8	0.8
ACEBU 14	0.3	3.8	0.9
ACEBU 15			
ACEBU15A			
ACEBU15B			
ACEBU 16	0.4	4.0	1.0
ACEBU 17	0.1	2.0	1.3
ACEBU 18	0.3	5.0	1.8
ACEBU 19	0.2	3.2	1.3
ACEBU 20	0.2	2.1	1.3
ACEBU20A	0.3	3.4	1.0
ACEBU 21	0.2	3.3	1.7
ACEBU 22	0.3	3.6	1.5
ACEBU 23	0.2	2.7	1.2
ACEBU 24	0.2	1.9	0.9
ACEBU 25	0.1	1.7	1.3
ACEBU 26	0.1	1.5	0.8
ACEBU 27	0.3	3.5	1.1
ACEBU 28	0.2	2.2	1.7
ACEBU28A	0.4	2.2	0.6
ACEBU28B	0.2	2.2	1.1
ACEBU 29	0.2	2.9	0.8
ACEBU 30	0.3	2.9	1.1
ACEBU 31	0.4	3.5	0.9
ACEBU 32	0.3	2.9	1.0
ACEBU 33	0.2	3.4	1.1

Tabla III.9. TRIGLICÉRIDOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	1)	2)	3)
ACEBU 34	0.3	2.8	1.0
ACEBU 35	0.3	3.1	0.8
ACEBU 36	0.3	5.2	1.3
ACEBU 37	0.6	2.6	0.7
ACEBU 38	0.3	3.8	1.4
ACEBU 39	0.3	2.4	0.7
ACEBU 40	0.2	2.8	1.1
ACEBU 41	0.5	2.9	0.4
ACEBU 42	0.4	3.3	0.8
ACEBU 43	0.3	2.8	0.7

Al igual que en las demás determinaciones, se ha hecho un tratamiento estadístico descriptivo de los triglicéridos de las 43 muestras de los aceites de acebuchina, que viene reflejado en la siguiente tabla:

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.9.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1^{er} cuartil	3^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
LLL	43	0.23488	0.20000	0.00000	0.70000	0.10000	0.30000	0.20000	0.191341
LLnO	43	0.40465	0.40000	0.10000	1.40000	0.30000	0.50000	0.20000	0.225677
PLnO	43	0.12791	0.10000	0.00000	0.50000	0.10000	0.20000	0.10000	0.093416
OLL+PoOL	43	4.21860	4.10000	2.20000	8.80000	3.10000	4.90000	1.80000	1.411392
PLL+LnOO	43	2.43488	1.90000	0.60000	6.80000	1.40000	2.80000	1.40000	1.485146
POLn	43	0.16744	0.10000	0.10000	0.70000	0.10000	0.20000	0.10000	0.104017
OLO+PoOO	43	13.71163	13.60000	8.60000	21.10000	11.60000	15.50000	3.90000	2.484639
PLO+SLL	43	9.64884	9.30000	3.50000	18.80000	6.30000	11.90000	5.60000	3.838363
PPL	43	1.61628	1.20000	0.30000	4.90000	0.80000	1.70000	0.90000	1.185213
OOO	43	33.67674	33.50000	15.40000	56.70000	26.30000	40.90000	14.60000	9.575510
POO+SOL	43	23.90233	24.10000	17.10000	29.60000	22.50000	25.40000	2.90000	3.019026
POP+PLS	43	5.37907	4.60000	1.60000	10.80000	3.80000	7.30000	3.50000	2.393797
1)	43	0.25116	0.30000	0.00000	0.60000	0.20000	0.30000	0.10000	0.126061
2)	43	3.13488	3.10000	1.50000	5.90000	2.70000	3.50000	0.80000	0.886105
3)	43	1.12791	1.10000	0.40000	2.10000	0.80000	1.30000	0.50000	0.352086

Como ya dijimos anteriormente, se ha considerado en el tratamiento estadístico como un solo valor la suma de los triglicéridos OLL y PoOL, y también PLL y LnOO.

III.3.8. TRIGLICÉRIDOS DE LOS ACEITES DE OLIVA.

En la tabla III.10 vienen recogidos los triglicéridos de los aceites de oliva.

Tabla III.10. TRIGLICÉRIDOS (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	LLL	LLnO	PLnO	OLL+PoOLPLL+LnOO	POLn	
OLIVA 1	0.2	0.3	0.1	2.8+1.6	0.4+0.6	0.2
OLIVA 2	0.5	0.4	0.1	2.8+1.6	0.5+0.5	0.1
OLIVA 3	0.1	0.3	0.1	1.8+1.6	0.4+0.7	0.2
OLIVA 4	0.2	0.3	0.1	2.3+1.5	0.5+0.6	0.1
OLIVA 5	0.2	0.3	0.1	2.4+1.2	0.5+0.4	0.1
OLIVA 6	0.1	0.2	0.1	2.5+1.2	0.5+0.5	0.1
OLIVA 7	0.1	0.1	T	1.2+1.2	0.2+0.5	0.1
OLIVA 8	T	0.1	0.1	1.1+1.4	0.3+0.6	0.1
OLIVA 9	0.1	0.3	0.1	2.1+1.4	0.5+0.6	0.2
OLIVA 10	0.1	0.4	0.1	2.3+1.6	0.7+0.8	0.2
OLIVA 11	0.1	0.4	0.1	1.3+1.5	0.3+0.8	0.1
OLIVA 12	0.1	0.4	0.1	1.6+1.5	0.5+0.8	0.1
OLIVA 13	T	0.3	T	1.0+1.1	0.3+0.5	0.1
OLIVA 14	0.3	0.7	0.3	2.3+1.8	1.0+0.9	0.2
OLIVA 15	0.1	0.5	0.1	2.1+1.6	0.7+0.8	0.2
OLIVA 16	0.2	0.7	0.1	3.7+1.6	1.1+0.8	0.2
OLIVA 17	0.1	0.6	0.1	1.9+1.8	0.5+0.9	0.2
OLIVA 18	0.1	0.4	0.1	1.1+1.6	0.4+0.8	0.1
OLIVA 19	T	0.2	T	1.4+1.4	0.4+0.7	0.1
OLIVA 20	0.1	0.5	0.1	1.8+1.3	0.6+0.8	0.2
OLIVA 21	0.2	0.7	0.1	3.0+1.8	0.8+0.8	0.2
OLIVA 22	0.1	0.5	0.1	1.9+1.4	0.7+0.7	0.1
OLIVA 23	0.3	0.7	0.1	4.4+1.3	2.4+0.9	0.2
OLIVA 24	0.1	0.3	T	1.4+1.3	0.4+0.6	0.1
OLIVA 25	0.1	0.2	T	2.4+1.3	0.5+0.6	0.1
OLIVA 26	0.3	0.6	0.1	4.4+1.6	0.6+0.4	0.2
OLIVA 27	0.1	0.3	0.1	2.2+1.3	0.8+0.7	0.1
OLIVA 28	0.1	0.2	0.1	2.1+1.3	0.5+0.7	0.1
OLIVA 29	T	0.2	0.1	1.4+1.4	0.4+0.6	0.1
OLIVA 30	0.1	0.3	0.1	1.5+1.6	0.5+0.8	0.1
OLIVA 31	T	0.2	0.1	1.0+1.3	0.4+0.6	0.1
OLIVA 32	0.2	0.4	0.1	3.2+1.6	0.6+0.6	0.1
OLIVA 33	T	0.2	0.1	1.7+1.2	0.2+0.5	0.2
OLIVA 34	0.4	0.4	0.1	3.7+0.9	2.2+0.7	0.2
OLIVA 35	0.1	0.3	0.1	1.5+1.4	0.5+0.9	0.2
OLIVA 36	0.1	0.3	0.1	1.2+1.3	0.3+0.7	0.1
OLIVA 37	T	0.1	T	1.2+1.0	0.3+0.3	T
OLIVA 38	T	0.2	0.1	0.5+1.5	0.2+0.8	0.1
OLIVA 39	0.1	0.2	0.1	0.6+1.4	0.3+0.6	T
OLIVA 40	T	0.2	T	1.4+1.3	0.4+0.6	0.1
OLIVA 41	T	0.2	0.2	1.7+1.5	0.3+0.6	0.1
OLIVA 42	0.2	T	T	1.6+1.3	0.3+0.6	0.1

Tabla III.10. TRIGLICÉRIDOS (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	OLO+PoOO	PLO+SLL	PPL	OOO	POO+SOL	POP+PLS
OLIVA 1	16.2	6.6	0.9	41.6	20.1	2.7
OLIVA 2	16.8	5.6	0.5	46.7	16.5	1.7
OLIVA 3	13.9	6.4	1.0	42.5	22.8	3.2
OLIVA 4	13.8	6.2	0.8	43.1	21.6	2.9
OLIVA 5	15.1	6.1	0.8	43.8	20.0	2.4
OLIVA 6	15.3	5.9	0.8	44.5	19.2	2.3
OLIVA 7	11.1	4.4	0.5	49.3	21.1	2.3
OLIVA 8	10.1	4.2	0.5	49.0	22.5	2.4
OLIVA 9	15.0	5.6	0.7	45.4	19.5	2.2
OLIVA 10	13.2	8.5	1.2	34.1	26.3	4.4
OLIVA 11	12.0	6.6	0.7	38.5	26.7	4.3
OLIVA 12	12.6	7.4	1.1	36.5	26.5	4.2
OLIVA 13	11.3	4.9	0.6	47.5	23.1	2.9
OLIVA 14	12.6	8.8	1.0	32.7	27.1	4.6
OLIVA 15	13.3	7.8	1.1	34.4	25.9	5.5
OLIVA 16	17.0	9.5	1.4	33.5	22.8	3.7
OLIVA 17	13.6	7.4	1.0	39.4	23.8	3.6
OLIVA 18	10.6	5.9	0.7	41.5	26.9	4.2
OLIVA 19	11.7	6.3	0.9	40.2	25.8	3.6
OLIVA 20	12.7	7.8	1.1	35.9	27.1	3.5
OLIVA 21	15.7	8.4	1.3	36.7	22.6	3.4
OLIVA 22	12.0	7.1	0.9	40.8	24.5	3.6
OLIVA 23	17.3	14.8	2.7	24.6	21.9	4.9
OLIVA 24	11.3	6.3	0.7	43.6	24.2	3.2
OLIVA 25	15.7	8.1	1.1	38.0	23.3	3.5
OLIVA 26	20.0	9.7	0.9	33.1	20.4	3.3
OLIVA 27	12.4	7.4	0.9	40.8	24.1	3.7
OLIVA 28	13.2	7.3	0.9	38.5	24.8	3.8
OLIVA 29	13.2	5.7	0.8	44.1	22.8	3.1
OLIVA 30	11.3	5.4	0.6	44.1	24.9	3.5
OLIVA 31	11.2	4.7	0.6	47.7	23.0	2.8
OLIVA 32	17.3	5.9	0.5	44.9	16.6	1.9
OLIVA 33	13.5	4.0	0.5	51.2	18.1	1.6
OLIVA 34	14.9	11.6	1.9	32.6	21.6	4.2
OLIVA 35	11.6	6.5	0.9	39.6	24.7	3.7
OLIVA 36	10.3	4.3	0.5	50.3	21.4	2.3
OLIVA 37	10.1	3.6	0.4	53.3	20.0	2.0
OLIVA 38	8.6	3.1	0.1	51.3	24.2	2.7
OLIVA 39	9.1	3.8	0.4	50.0	24.0	3.0
OLIVA 40	12.5	6.1	0.7	43.6	23.9	3.2
OLIVA 41	12.9	5.5	0.7	44.6	22.8	2.5
OLIVA 42	13.4	5.1	0.6	45.7	22.4	2.3

Tabla III.10. TRIGLICÉRIDOS (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	1)	2)	3)
OLIVA 1	0.4	4.1	1.2
OLIVA 2	0.4	4.4	1.0
OLIVA 3	0.4	4.0	0.9
OLIVA 4	0.5	4.6	1.0
OLIVA 5	0.4	5.2	1.0
OLIVA 6	0.5	5.2	1.0
OLIVA 7	0.4	6.3	1.2
OLIVA 8	0.3	6.2	1.1
OLIVA 9	0.5	5.0	0.9
OLIVA 10	0.2	4.6	1.4
OLIVA 11	0.2	5.2	1.3
OLIVA 12	0.2	5.0	1.4
OLIVA 13	0.3	5.5	0.5
OLIVA 14	0.1	4.7	0.9
OLIVA 15	0.2	4.6	1.1
OLIVA 16	0.1	2.9	0.7
OLIVA 17	0.2	4.1	0.9
OLIVA 18	0.2	4.4	1.0
OLIVA 19	0.1	5.8	1.3
OLIVA 20	0.1	5.2	1.3
OLIVA 21	0.2	3.3	0.8
OLIVA 22	0.6	3.7	1.1
OLIVA 23	0.2	2.0	1.3
OLIVA 24	0.2	5.2	1.0
OLIVA 25	0.3	3.7	1.2
OLIVA 26	0.4	3.1	0.9
OLIVA 27	0.3	3.8	0.9
OLIVA 28	0.3	4.7	1.2
OLIVA 29	0.5	4.8	0.9
OLIVA 30	0.4	4.0	0.8
OLIVA 31	0.4	5.1	1.1
OLIVA 32	0.4	4.9	0.9
OLIVA 33	0.4	6.2	0.7
OLIVA 34	0.2	3.5	0.9
OLIVA 35	0.3	7.3	0.5
OLIVA 36	0.8	5.0	1.1
OLIVA 37	0.2	6.4	1.2
OLIVA 38	0.3	5.2	1.0
OLIVA 39	0.3	5.2	1.1
OLIVA 40	0.3	4.9	0.6
OLIVA 41	0.3	5.2	0.9
OLIVA 42	0.3	5.1	0.8

Al igual que en los aceites de acebuchina, también en los aceites de oliva se ha hecho un tratamiento estadístico descriptivo, viéndose el valor medio, los valores mínimo y máximo, la mediana, los percentiles inferior (25 %) y superior (75 %), el

rango de los percentiles y la desviación estándar. Todo esto viene reflejado en la tabla siguiente:

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.10.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
LLL	42	0.12381	0.10000	0.00000	0.50000	0.10000	0.20000	0.100000	0.112205
LLnO	42	0.33571	0.30000	0.00000	0.70000	0.20000	0.40000	0.200000	0.176444
PLnO	42	0.08810	0.10000	0.00000	0.30000	0.10000	0.10000	0.000000	0.055005
OLL+PoOL	42	3.40476	3.25000	2.00000	6.00000	2.70000	3.80000	1.100000	0.973290
PLL+LnOO	42	1.23333	1.10000	0.60000	3.30000	1.00000	1.40000	0.400000	0.512605
POLn	42	0.13095	0.10000	0.00000	0.20000	0.10000	0.20000	0.100000	0.056258
OLO+PoOO	42	13.22381	13.05000	8.60000	20.00000	11.30000	15.00000	3.700000	2.447080
PLO+SLL	42	6.57857	6.25000	3.10000	14.80000	5.40000	7.40000	2.000000	2.197730
PPL	42	0.85476	0.80000	0.10000	2.70000	0.60000	1.00000	0.400000	0.430089
OOO	42	41.88571	42.80000	24.60000	53.30000	38.00000	45.70000	7.700000	6.223346
POO+SOL	42	22.89286	22.90000	16.50000	27.10000	21.40000	24.70000	3.300000	2.702157
POP+PLS	42	3.20952	3.20000	1.60000	5.50000	2.40000	3.70000	1.300000	0.890823
1)	42	0.31667	0.30000	0.10000	0.80000	0.20000	0.40000	0.200000	0.144689
2)	42	4.74524	4.90000	2.00000	7.30000	4.10000	5.20000	1.100000	1.016499
3)	42	1.00000	1.00000	0.50000	1.40000	0.90000	1.20000	0.300000	0.220863

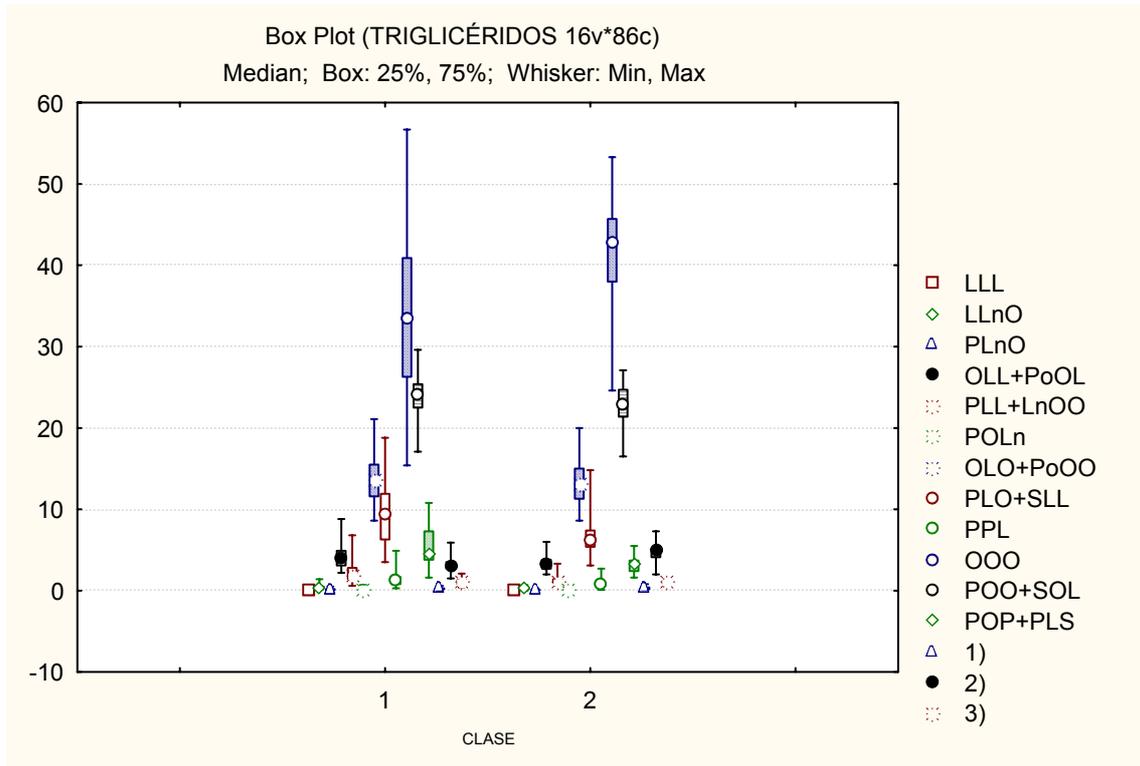
Igualmente que en los aceites de acebuchina, también en los de oliva se ha considerado en el tratamiento estadístico la suma de los triglicéridos OLL y PoOL y de PLL y LnOO. El tratamiento estadístico se ha realizado sobre 42 muestras de aceite de oliva.

GRÁFICOS “BOX AND WHISKER” PARA LOS TRIGLICÉRIDOS DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA.

Como ya hemos visto anteriormente, para ver con claridad las posibles diferencias de las dos clases 1 y 2, o lo que es lo mismo entre aceite de acebuchina y aceite de oliva, aplicamos los gráficos de “caja y bigote” para todos los triglicéridos.

En primer lugar, el gráfico III.12 representa a todos los triglicéridos de las dos clases (1 y 2).

GRÁFICO III.12.



A continuación, independientemente hemos representado cada uno de los triglicéridos de las dos clases obteniéndose los gráficos siguientes. De esta forma se obtiene una mejor visualización de las diferencias entre ambas clases.

GRÁFICO III.13.

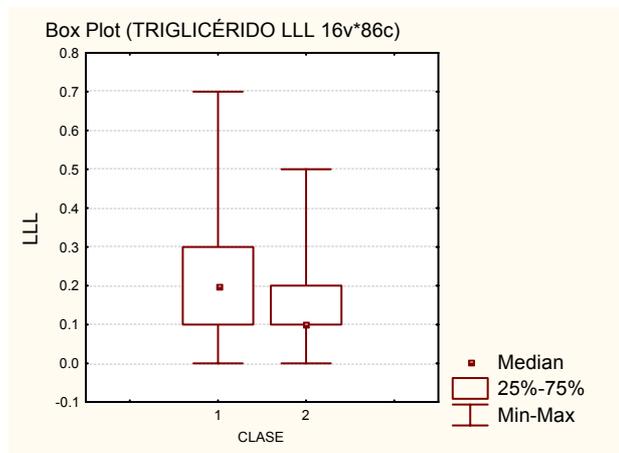


GRÁFICO III.14.

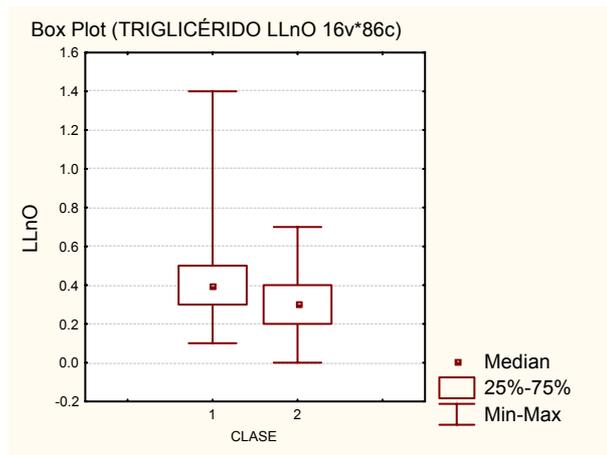


GRÁFICO III.15.

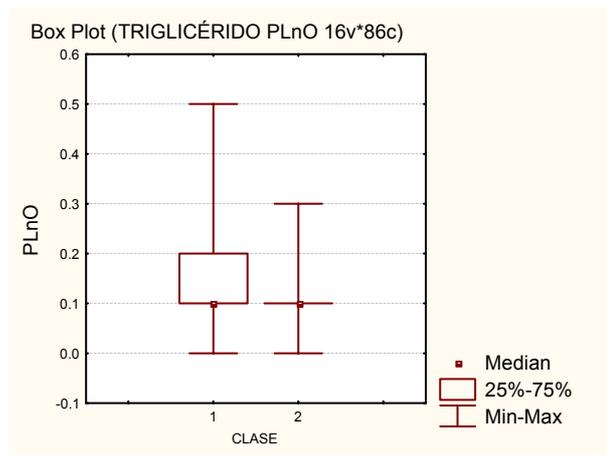


GRÁFICO III.16.

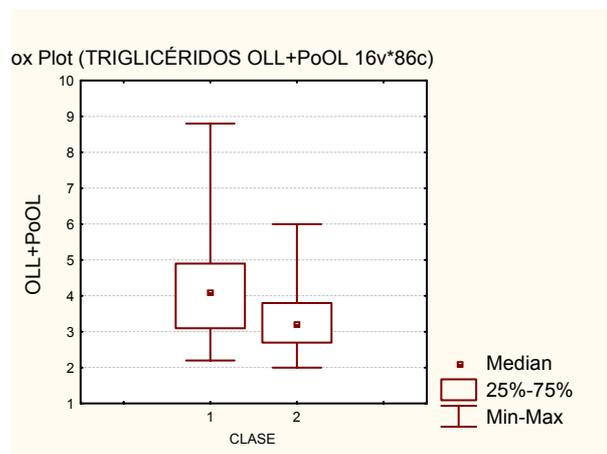


GRÁFICO III.17.

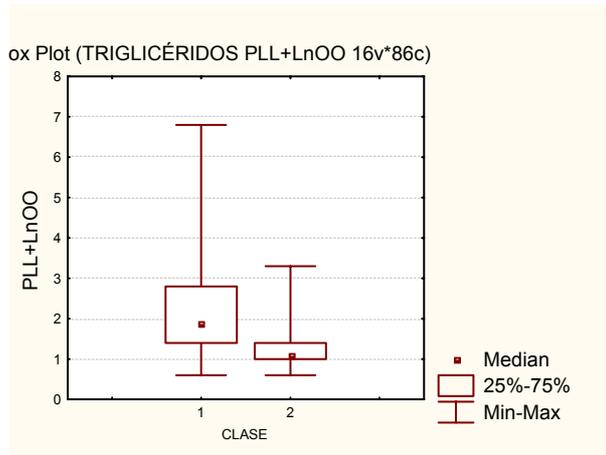


GRÁFICO III.18.

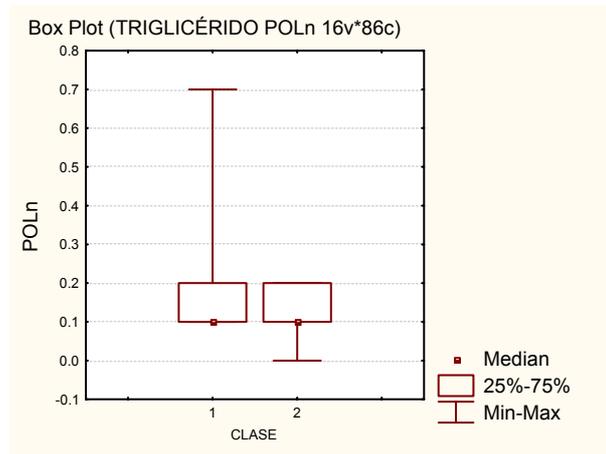


GRÁFICO III.19.

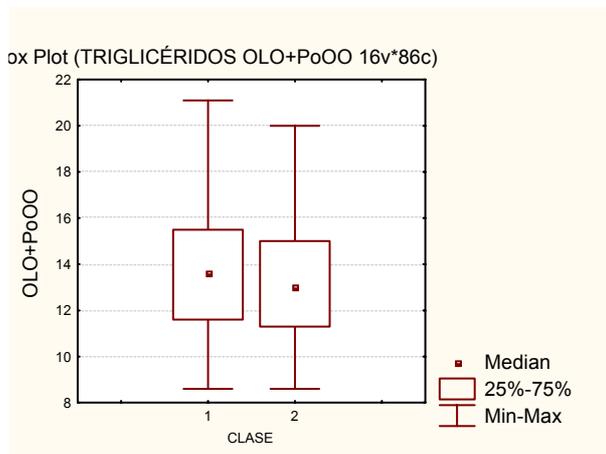


GRÁFICO III.20.

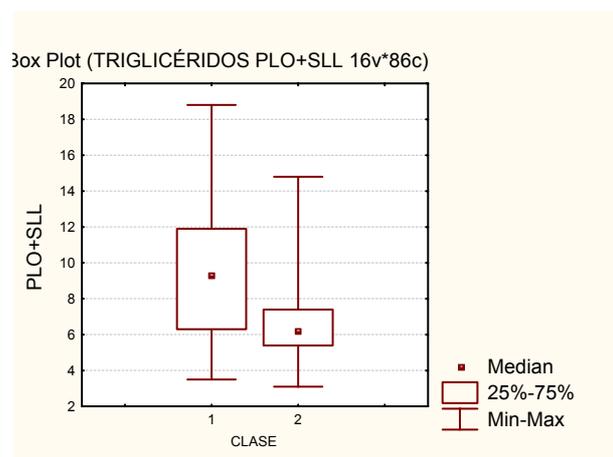


GRÁFICO III.21.

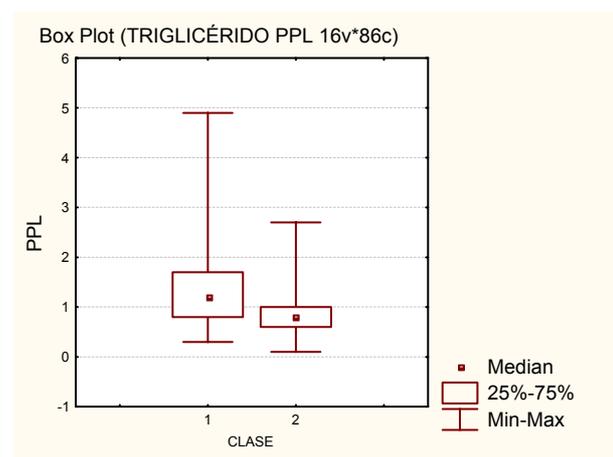


GRÁFICO III.22.

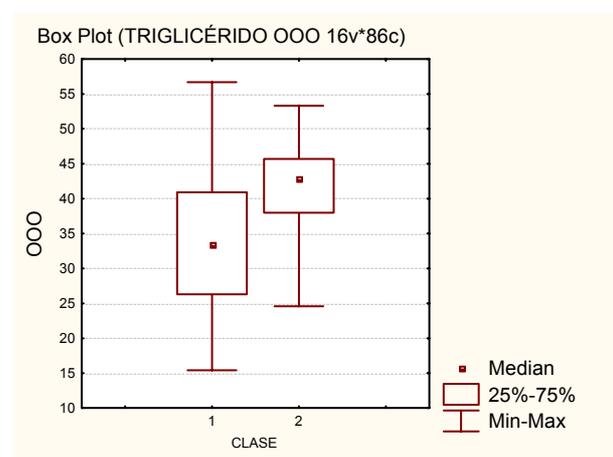


GRÁFICO III.23.

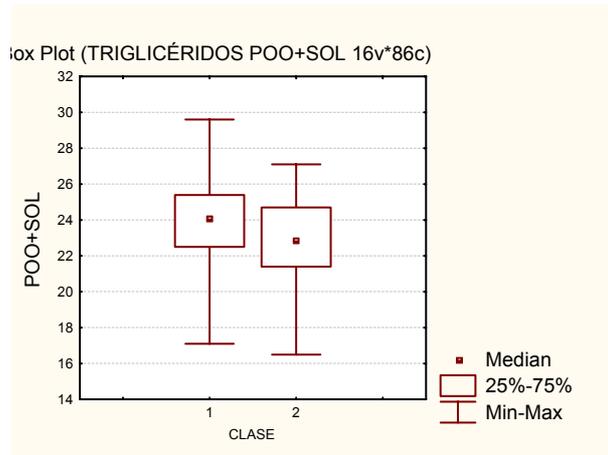


GRÁFICO III.24.

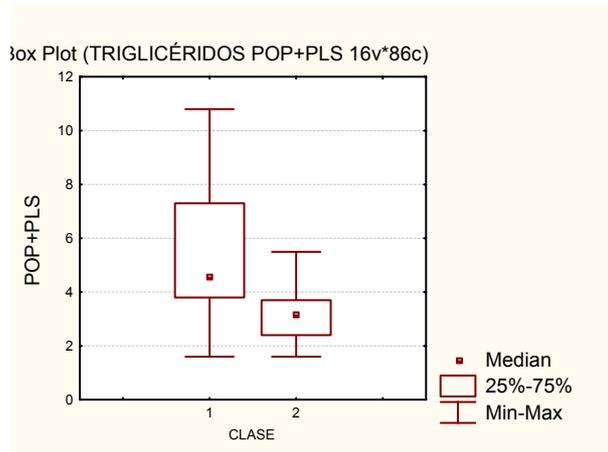


GRÁFICO III.25.

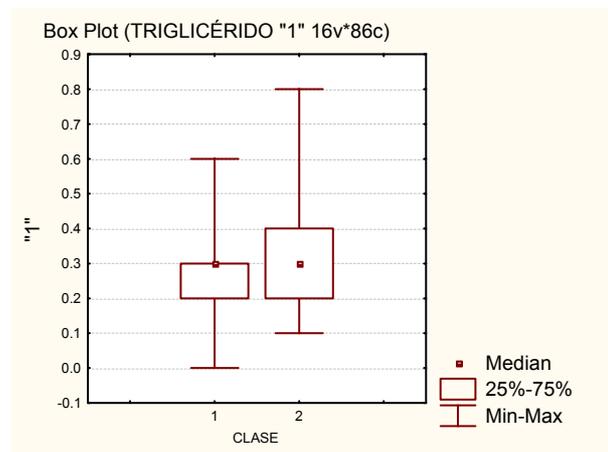


GRÁFICO III.26.

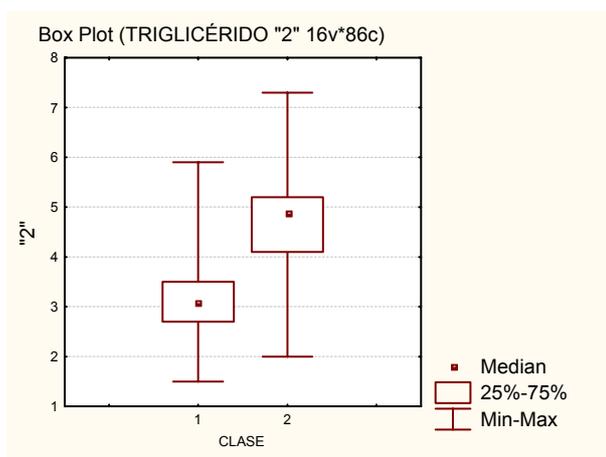
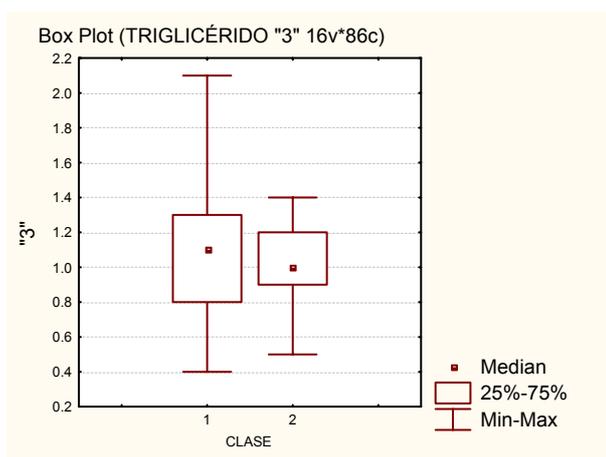


GRÁFICO III.27.



Con estos gráficos de “caja y bigote” se puede ver las variaciones de los triglicéridos para las clases 1 y 2. En ellos se puede ver los valores máximos y mínimos, los valores de las medianas y los percentiles 25 % y 75 %.

III.3.9. ESTEROLES DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

Los datos de los esteroides de los aceites de acebuchina vienen recogidos en la tabla III.11. Como ya vimos el análisis de esteroides se realiza por cromatografía de gases obteniéndose quince picos. El β -sitosterol aparente resulta de la suma de los esteroides Δ -7-campesterol, Δ -5-23-estigmasterol, clerosterol, β -sitosterol, sitostanol, Δ -5-avenasterol (reglamento CEE 2568/91).

Tabla III.11. ESTEROLES (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Colesterol	Brasicasterol	24-Metilencol.	Campesterol	Campestanol	Estigmasterol
ACEBU 1	0.1	T	0.1	3.9	0.1	1.6
ACEBU 2	0.1	T	0.1	3.9	0.2	2.5
ACEBU2A						
ACEBU 3	0.1	T	T	2.2	0.1	0.3
ACEBU 4	0.2	T	0.3	3.0	0.2	0.8
ACEBU 5	0.1	T	0.1	3.0	0.1	1.9
ACEBU 6	0.1	T	0.1	3.3	0.1	1.9
ACEBU6A	0.1	T	0.1	3.7	0.1	0.6
ACEBU 7	0.1	T	0.3	2.9	0.1	3.7
ACEBU 8	0.2	T	0.1	2.8	0.3	1.6
ACEBU 9	0.1	T	0.2	3.9	0.2	1.6
ACEBU 10	0.1	T	0.1	3.6	0.1	1.1
ACEB10A						
ACEBU 11	0.1	T	0.2	3.6	0.1	2.2
ACEBU 12	0.1	T	0.2	4.2	0.2	3.5
ACEBU 13	0.1	T	0.1	4.1	0.2	2.5
ACEBU 14	0.3	T	0.1	4.0	0.2	2.9
ACEBU 15						
ACEB 15A						
ACEB15B						
ACEBU 16	0.1	T	0.1	2.8	0.1	2.0
ACEBU 17	0.1	T	0.2	3.4	0.2	2.1
ACEBU 18	0.1	T	T	3.4	0.2	1.0
ACEBU 19	0.1	T	0.1	3.5	0.1	1.6
ACEBU 20	0.1	T	0.1	3.7	0.2	2.9
ACEB 20A	0.1		T	2.3	0.1	1.2
ACEBU 21	0.2		0.2	4.2	0.2	1.8
ACEBU 22	0.1	T	0.1	3.6	0.2	1.7
ACEBU 23	0.1		0.3	3.3	0.2	0.8
ACEBU 24	0.1		0.1	2.6	0.2	1.3
ACEBU 25	0.1		0.3	3.3	0.2	2.4
ACEBU 26	0.1		0.1	3.1	0.1	1.7
ACEBU 27	0.1		0.1	3.3	0.2	1.8
ACEBU 28	0.1	T	0.1	3.2	0.2	2.0
ACEB 28A	0.1		0.1	3.7	0.2	1.2
ACEB 28B						
ACEBU 29	0.1		0.1	3.2	0.1	1.3
ACEBU 30	0.1	0.1	0.1	4.5	0.2	7.3
ACEBU 31	0.1	T	T	3.5	0.2	3.8
ACEBU 32	0.2	0.1	0.1	4.2	0.3	8.5
ACEBU 33	0.1	T	T	3.7	0.2	2.6

Tabla III.11. ESTEROLES (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Colesterol	Brasicasterol	24-Metilencol.	Campesterol	Campestanol	Estigmasterol
ACEBU 34	0.1		T	3.6	0.2	1.6
ACEBU 35	0.1	T	0.1	3.7	0.2	1.6
ACEBU 36	0.2		0.1	4.0	0.2	2.5
ACEBU 37	0.2		0.1	3.4	0.4	2.9
ACEBU 38	0.1	0.1	0.2	4.0	0.2	3.5
ACEBU 39	0.2	0.1	0.1	3.6	0.4	3.7
ACEBU 40	0.1		T	3.9	0.2	1.0
ACEBU 41	0.1			3.0	0.2	0.9
ACEBU 42	0.3		0.1	4.4	0.5	1.9
ACEBU 43	0.3	0.1	0.3	2.6	0.1	3.4

Como ya hemos dicho en las anteriores determinaciones, no se consideran en el tratamiento estadístico las muestras 10A, 15, 15A, 15B, 28B y 43, por ser muestras obtenidas por extracción con hexano. También se excluye la muestra 16, que es la envasada.

Tabla III.11. ESTEROLES (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Δ -7campest.	Δ -5-23-estig.	Clerosterol	B-sitosterol	Sitostanol	Δ -5-avenast.
ACEBU 1	T		1.1	84.8	1.2	5.6
ACEBU 2	T		1.1	84.2	1.2	5.7
ACEBU2A						
ACEBU 3	T		1.1	84.8	0.8	7.9
ACEBU 4	T		1.1	73.1	1.0	18.0
ACEBU 5	0.2		1.1	83.0	1.2	7.5
ACEBU 6	T		1.0	84.7	0.9	6.5
ACEBU6A	T		1.0	88.3	0.5	4.3
ACEBU 7	T		1.1	77.2	0.5	12.8
ACEBU 8		0.1	1.0	77.0	3.2	10.3
ACEBU 9	T		1.0	81.6	1.8	8.6
ACEBU 10	T		1.1	86.3	1.0	4.7
ACEB10A						
ACEBU 11	T		1.1	80.3	1.3	9.2
ACEBU 12	0.1		0.9	80.5	1.6	7.1
ACEBU 13			1.0	83.9	1.4	5.8
ACEBU 14	0.1		1.0	83.9	1.7	4.6
ACEBU 15						
ACEB15A						
ACEB15B						
ACEBU 16	0.1		0.9	84.6	0.7	6.7
ACEBU 17	T		1.1	82.0	2.6	6.5
ACEBU 18	T		1.1	87.0	1.6	3.6
ACEBU 19	T		1.1	86.7	1.0	4.1
ACEBU 20	0.1		1.1	83.3	1.4	5.8
ACEB20A	T		1.1	91.0	0.5	2.2
ACEBU 21			1.1	83.2	1.2	7.0
ACEBU 22	T		1.2	84.0	1.7	6.1
ACEBU 23	T		1.1	80.0	1.3	11.0
ACEBU 24	T		1.1	82.7	2.9	7.0
ACEBU 25	T		1.1	79.2	2.3	9.6
ACEBU 26			1.1	87.9	0.7	3.7
ACEBU 27	0.2		1.2	86.2	1.8	3.8
ACEBU 28	T		1.1	85.3	3.3	3.4
ACEB 28A	T		1.3	84.0	2.3	6.0
ACEB 28B						
ACEBU 29	T		1.2	84.0	0.6	8.0
ACEBU 30	0.1		1.1	82.1	1.0	2.6
ACEBU 31	0.1		1.1	86.5	1.8	1.9
ACEBU 32	0.2		1.2	80.4	1.4	2.5
ACEBU 33	T		1.1	85.8	1.4	3.7

Tabla III.11. ESTEROLES (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA		Δ-7campest.	Δ-5-23-estig.	Clerosterol	B-sitosterol	Sitostanol	Δ-5-avenast.
ACEBU 34	T		1.1	87.5	2.0	2.8	
ACEBU 35			1.0	87.3	1.3	3.5	
ACEBU 36	T		1.1	86.0	0.8	3.8	
ACEBU 37	0.2		1.0	80.3	5.0	4.2	
ACEBU 38	0.1		1.0	81.9	1.2	6.3	
ACEBU 39	0.4		1.0	82.1	2.7	4.2	
ACEBU 40			0.9	89.9	0.6	1.9	
ACEBU 41	T		1.1	90.1	1.1	2.1	
ACEBU 42			1.2	86.0	2.8	1.8	
ACEBU 43	0.1	0.2	0.9	77.3	0.6	12.7	

Tabla III.11. ESTEROLES (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Δ -5-24-estig.	Δ -7-estigmasten.	Δ -7-avenast.	B-sitosterol aparente.	ESTEROLES TOTALES(mg/Kg)
ACEBU 1	0.8	0.2	0.4	93.5	1493
ACEBU 2	0.4	0.1	0.5	92.6	2161
ACEBU2A					
ACEBU 3	0.7	0.5	1.4	95.3	2005
ACEBU 4	0.7	0.2	1.3	93.9	1583
ACEBU 5	0.6	0.3	0.8	93.5	1586
ACEBU 6	0.5	0.3	0.6	93.5	1185
ACEBU6A	0.7	0.2	0.5	94.7	1912
ACEBU 7	0.5	0.2	0.7	92.1	2161
ACEBU 8	0.8	0.9	1.7	92.4	761
ACEBU 9	0.4	0.1	0.6	93.4	1886
ACEBU 10	0.6	0.5	0.8	93.7	1797
ACEB10A					
ACEBU 11	0.7	0.3	0.9	92.6	1701
ACEBU 12	0.7	0.2	0.8	90.8	1422
ACEBU 13	0.5	0.1	0.4	92.6	1515
ACEBU 14	0.5	0.2	0.5	91.7	1456
ACEBU 15					
ACEB 15A					
ACEB 15B					
ACEBU 16	0.5	0.4	0.9	93.4	1591
ACEBU 17	0.7	0.3	0.8	92.9	2381
ACEBU 18	0.4	0.5	1.0	93.7	2982
ACEBU 19	0.5	0.4	0.8	93.4	2224
ACEBU 20	0.6	0.2	0.5	92.2	2147
ACEB 20A	0.3	0.4	0.7	95.1	2313
ACEBU 21	0.4	0.1	0.4	92.9	2956
ACEBU 22	0.6	0.3	0.4	93.6	2055
ACEBU 23	0.7	0.3	1.1	94.1	2411
ACEBU 24	0.6	0.4	0.9	94.3	2849
ACEBU 25	0.7	0.2	0.7	92.9	1892
ACEBU 26	0.5	0.2	0.8	93.9	2442
ACEBU 27	0.5	0.3	0.7	93.5	2341
ACEBU 28	0.4	0.3	0.6	93.5	2674
ACEB28A	0.4	0.2	0.5	94.0	2832
ACEB 28B					
ACEBU 29	0.5	0.2	0.6	94.3	1763
ACEBU 30	0.5	0.1	0.3	87.3	1652
ACEBU 31	0.4	0.1	0.5	91.7	2117
ACEBU 32	0.4	0.2	0.4	85.9	1980
ACEBU 33	0.4	0.3	0.6	92.4	2361

Tabla III.11. ESTEROLES (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA					ESTEROLES	
	Δ -5-24-estig.	Δ -7-estigmasten.	Δ -7-avenast.	B-sitosterol aparente.	TOTALES (mg/Kg)	
ACEBU 34	0.4	0.2	0.5	93.8	3470	
ACEBU 35	0.4	0.3	0.5	93.5	1279	
ACEBU 36	0.5	0.3	0.6	92.2	1296	
ACEBU 37	0.3	0.6	1.2	90.8	3364	
ACEBU 38	0.5	0.4	0.5	90.9	1998	
ACEBU 39	0.3	0.4	0.8	90.3	2811	
ACEBU 40	0.3	0.5	0.7	93.6	1926	
ACEBU 41	0.3	0.4	0.6	94.7	1194	
ACEBU 42	0.2	0.2	0.6	92.0	1845	
ACEBU 43	0.4	0.1	0.6	92.1	2559	

En la siguiente tabla se expone el tratamiento estadístico de los esteroides. Para no distorsionar el estudio estadístico, se han eliminado el brasicasterol y el Δ -5-23-estigmasterol por ser la mayoría de los valores del orden de trazas (< 0.05 %) o no apreciarse.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.11.

	Muest.N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Dist,Cuart.	Std.Dev.
Colesterol	43	0.126	0.100	0.1000	0.300	0.100	0.100	0.0000	0.0539
24Metilencol.	43	0.114	0.100	0.0000	0.300	0.100	0.100	0.0000	0.0833
Campesterol	43	3.521	3.600	2.2000	4.500	3.200	3.900	0.7000	0.5194
Campestanol	43	0.193	0.200	0.1000	0.500	0.100	0.200	0.1000	0.0856
Estigmasterol	43	2.216	1.800	0.3000	8.500	1.300	2.600	1.3000	1.5496
Δ -7-camp.	43	0.042	0.000	0.0000	0.400	0.000	0.100	0.1000	0.0852
Clerosterol	43	1.084	1.100	0.9000	1.300	1.000	1.100	0.1000	0.0785
β -sitosterol	43	83.860	84.000	73.1000	91.000	81.900	86.300	4.4000	3.6363
Sitostanol	43	1.572	1.300	0.5000	5.000	1.000	1.800	0.8000	0.9093
Δ -5-avenas.	43	5.760	5.600	1.8000	18.000	3.600	7.100	3.5000	3.2581
Δ -5,24-estig.	43	0.507	0.500	0.2000	0.800	0.400	0.600	0.2000	0.1502
Δ -7-estig.	43	0.293	0.300	0.1000	0.900	0.200	0.400	0.2000	0.1580
Δ -7-avenas.	43	0.702	0.600	0.3000	1.700	0.500	0.800	0.3000	0.2907
B-sitos. aparente	43	92.784	93.400	85.9000	95.300	92.200	93.800	1.6000	1.8049
EST. TOTALES	43	2050.674	1998.000	761.0000	3470.000	1586.000	2381.000	795.0000	597.8304

III.3.10. ESTEROLES DE LOS ACEITES DE OLIVA.

Los esteroleos de los aceites de oliva vienen recogidos en la tabla III 12.

Tabla III.12. ESTEROLES (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	Colesterol	Brasicasterol	24-Metilencol.	Campesterol	Campestanol	Estigmasterol
OLIVA 1	0.1	0.1	0.1	2.5	0.1	2.0
OLIVA 2	0.1	0.1	0.5	3.3	0.1	2.2
OLIVA 3	0.1	T	0.1	2.9	0.1	0.9
OLIVA 4	0.1	T	0.1	2.7	0.1	0.9
OLIVA 5	0.1	T	0.1	2.4	0.1	0.8
OLIVA 6	0.1	T	0.1	2.5	0.1	0.9
OLIVA 7	0.1	T	0.2	3.1	0.1	1.0
OLIVA 8	0.1	T	0.2	3.3	0.1	0.9
OLIVA 9	0.1	T	0.2	3.0	0.1	0.8
OLIVA 10	0.2	T	0.1	2.6	0.1	1.6
OLIVA 11	0.1	T	0.1	2.7	0.1	1.3
OLIVA 12	0.1	T	0.1	2.6	0.1	1.4
OLIVA 13	0.1	T	0.2	2.9	0.1	0.7
OLIVA 14	0.3	T	0.1	2.8	0.1	1.6
OLIVA 15	0.1	T	0.1	2.5	0.1	1.2
OLIVA 16	0.1		0.1	2.6	0.1	0.5
OLIVA 17	0.1		0.2	2.8	0.1	0.8
OLIVA 18	0.1		0.2	3.1	0.1	1.0
OLIVA 19	0.1		0.1	2.5	0.1	1.0
OLIVA 20	0.1		0.1	2.6	0.1	1.4
OLIVA 21	0.1		0.1	2.8	0.1	0.6
OLIVA 22	0.1		0.2	3.2	0.1	1.0
OLIVA 23	0.1		0.4	4.1	0.1	1.0
OLIVA 24	0.1		0.2	3.3	0.1	0.8
OLIVA 25	0.1	T	0.1	2.7	0.1	0.9
OLIVA 26	0.1		T	2.6	0.1	0.4
OLIVA 27	0.1	T	0.1	2.7	0.2	1.7
OLIVA 28	0.1	T	0.1	2.7	0.1	1.3
OLIVA 29	0.2	0.1	0.1	3.1	0.2	0.9
OLIVA 30	0.1	T	0.1	3.0	0.1	0.8
OLIVA 31	0.1		0.2	3.1	0.1	0.9
OLIVA 32	0.1	T	0.2	2.9	0.1	1.9
OLIVA 33	0.1	T	0.2	2.9	0.1	0.6
OLIVA 34	0.1		0.3	3.9	0.2	1.0
OLIVA 35	0.1	T	0.1	2.8	0.2	1.1
OLIVA 36	0.1		0.2	3.1	0.1	0.7
OLIVA 37	0.1		0.3	3.8	0.1	0.7
OLIVA 38	0.1		0.1	3.1	0.1	0.8
OLIVA 39	0.1		0.2	3.1	0.1	0.9
OLIVA 40	0.1	T	0.1	2.5	0.1	0.7
OLIVA 41	0.1	T	0.1	3.1	0.2	1.0
OLIVA 42	0.1		0.1	3.2	0.2	0.8

Tabla III.12. ESTEROLES (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	Δ -7-campes.	Δ -5-23-estig.	Clerosterol	B-sitosterol	Sitostanol	Δ -5-avenast.
OLIVA 1	0.1		0.9	84.8	0.6	7.2
OLIVA 2	0.1		1.0	84.4	0.2	7.0
OLIVA 3	T		1.0	88.4	0.8	4.7
OLIVA 4	T		1.0	86.1	0.5	7.1
OLIVA 5	T		0.9	84.0	0.7	9.1
OLIVA 6	T		0.9	84.2	0.6	9.0
OLIVA 7	0.1		0.9	84.1	0.6	8.5
OLIVA 8	T		1.0	85.4	0.5	7.5
OLIVA 9	0.1		0.9	82.9	0.3	10.3
OLIVA 10	T		1.0	87.1	0.3	5.5
OLIVA 11			1.0	87.7	0.3	5.6
OLIVA 12			1.0	87.5	0.2	5.7
OLIVA 13	T		1.0	85.5	0.5	7.3
OLIVA 14			1.1	88.9	0.3	3.6
OLIVA 15			1.1	88.2	0.3	5.1
OLIVA 16	T		1.1	89.2	0.5	4.7
OLIVA 17			1.0	88.1	0.4	5.5
OLIVA 18	T		1.0	86.9	0.4	6.2
OLIVA 19			0.9	86.3	0.3	7.5
OLIVA 20	T		1.0	87.6	0.1	5.8
OLIVA 21			1.0	89.8	0.6	3.8
OLIVA 22	T		0.9	83.9	0.5	8.5
OLIVA 23			1.0	81.8	0.4	9.8
OLIVA 24		T	1.0	86.0	0.4	6.7
OLIVA 25	T		1.0	88.2	0.4	5.4
OLIVA 26	T		1.0	89.7	0.4	4.2
OLIVA 27	0.1		1.0	86.8	0.6	5.9
OLIVA 28	T		1.1	85.6	0.6	6.8
OLIVA 29	0.2		1.0	84.7	0.4	8.1
OLIVA 30	0.1		1.0	89.0	0.6	4.3
OLIVA 31	T		1.0	84.5	0.6	8.2
OLIVA 32	T		1.0	86.8	0.2	5.9
OLIVA 33	T		0.9	87.4	0.4	6.3
OLIVA 34	T		1.1	83.4	0.4	8.4
OLIVA 35	T		1.1	87.6	0.3	5.5
OLIVA 36	T		1.0	86.0	0.5	6.5
OLIVA 37	T		0.9	84.3	0.4	8.4
OLIVA 38	T		1.1	87.9	0.6	5.2
OLIVA 39	T		1.0	87.1	0.6	5.7
OLIVA 40			1.0	86.7	0.5	7.3
OLIVA 41	0.1		0.9	84.9	0.6	7.8
OLIVA 42			0.9	83.4	0.5	9.7

Tabla III.12. ESTEROLES (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	Δ -5-24-estig.	Δ -7-estigmasten.	Δ -7-avenas.	B-sitosterol aparente.	ESTEROLES TOTALES(mg/Kg)
OLIVA 1	0.4	0.3	0.7	93.9	1581
OLIVA 2	0.3	0.3	0.4	92.9	2300
OLIVA 3	0.3	0.3	0.5	95.2	1344
OLIVA 4	0.5	0.3	0.6	95.2	1617
OLIVA 5	0.5	0.4	0.9	95.2	1508
OLIVA 6	0.5	0.3	0.8	95.2	1475
OLIVA 7	0.4	0.3	0.6	94.5	1331
OLIVA 8	0.4	0.3	0.5	94.8	1382
OLIVA 9	0.4	0.3	0.6	94.8	1350
OLIVA 10	0.7	0.2	0.6	94.6	1486
OLIVA 11	0.5	0.1	0.5	95.1	1465
OLIVA 12	0.6	0.2	0.5	95.0	1454
OLIVA 13	0.4	0.2	1.1	94.7	1583
OLIVA 14	0.6	0.2	0.5	94.5	1625
OLIVA 15	0.6	0.3	0.6	95.3	1562
OLIVA 16	0.4	0.2	0.6	95.6	1870
OLIVA 17	0.4	0.2	0.5	95.4	1816
OLIVA 18	0.4	0.2	0.5	94.9	1562
OLIVA 19	0.5	0.1	0.5	95.5	1438
OLIVA 20	0.5	0.2	0.5	95.0	1518
OLIVA 21	0.3	0.3	0.5	95.5	1851
OLIVA 22	0.7	0.2	0.5	94.5	1454
OLIVA 23	0.7	0.2	0.4	93.7	1788
OLIVA 24	0.6	0.2	0.5	94.7	1326
OLIVA 25	0.3	0.2	0.6	95.3	1618
OLIVA 26	0.4	0.3	0.6	95.8	2245
OLIVA 27	0.4	0.2	0.4	94.7	1447
OLIVA 28	0.6	0.4	0.7	94.7	1349
OLIVA 29	0.4	0.2	0.6	94.6	1071
OLIVA 30	0.3	0.2	0.4	95.2	1564
OLIVA 31	0.4	0.2	0.6	94.7	1161
OLIVA 32	0.4	0.2	0.3	94.3	2198
OLIVA 33	0.2	0.3	0.5	95.2	1721
OLIVA 34	0.6	0.2	0.4	93.9	1849
OLIVA 35	0.4	0.2	0.5	94.9	1623
OLIVA 36	0.4	0.3	0.5	94.8	1430
OLIVA 37	0.4	0.1	0.4	94.4	1508
OLIVA 38	0.3	0.2	0.4	95.1	1302
OLIVA 39	0.4	0.3	0.4	94.8	1316
OLIVA 40	0.4	0.1	0.3	95.9	1478
OLIVA 41	0.3	0.3	0.6	94.5	1445
OLIVA 42	0.3	0.2	0.6	94.8	1136

También a los esteroides de los aceites de oliva se les ha hecho un tratamiento estadístico descriptivo, que se recoge en la tabla que a continuación viene. Por la misma razón, que se ha expuesto en los esteroides de los aceites de acebuchina para no distorsionar el tratamiento estadístico, aquí también se eliminan los valores de los esteroides brasicasterol y Δ -5-23-estigmasterol por tener valores inferiores al 0.05 % (trazas).

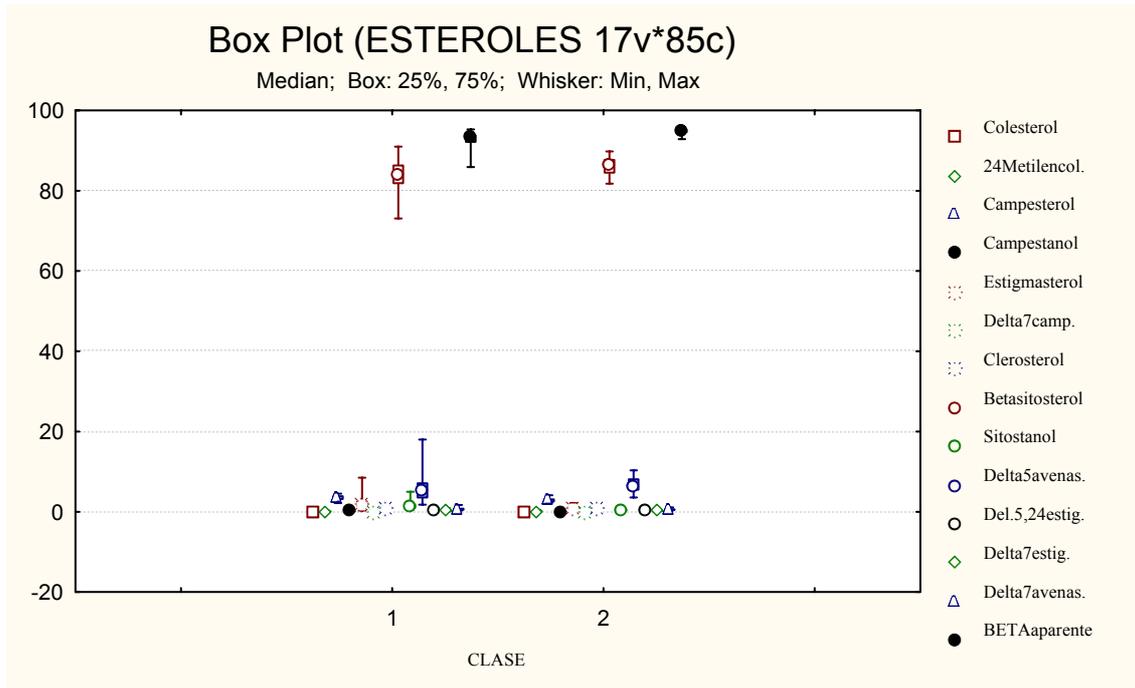
ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.12.

	Muest.N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Dist.Cuart	Std.Dev.
Colesterol	42	0.110	0.100	0.100	0.300	0.100	0.100	0.0000	0.0370
24Metilencol.	42	0.155	0.100	0.000	0.500	0.100	0.200	0.1000	0.0916
Campesterol	42	2.931	2.900	2.400	4.100	2.600	3.100	0.5000	0.3809
Campestanol	42	0.114	0.100	0.100	0.200	0.100	0.100	0.0000	0.0354
Estigmasterol	42	1.033	0.900	0.400	2.200	0.800	1.200	0.4000	0.4016
Δ -7-camp.	42	0.021	0.000	0.000	0.200	0.000	0.000	0.0000	0.0470
Clerosterol	42	0.990	1.000	0.900	1.100	0.900	1.000	0.1000	0.0656
β -sitosterol	42	86.257	86.500	81.800	89.800	84.500	87.700	3.2000	1.9916
Sitostanol	42	0.450	0.450	0.100	0.800	0.300	0.600	0.3000	0.1518
Δ -5-avenas.	42	6.698	6.600	3.600	10.300	5.500	8.100	2.6000	1.6922
Δ -5,24-estig.	42	0.440	0.400	0.200	0.700	0.400	0.500	0.1000	0.1231
Δ -7-estig.	42	0.236	0.200	0.100	0.400	0.200	0.300	0.1000	0.0727
Δ -7-avenas.	42	0.540	0.500	0.300	1.100	0.500	0.600	0.1000	0.1483
B-sitos. aparente	42	94.840	94.800	92.900	95.900	94.600	95.200	0.6000	0.5674
EST. TOTALES	42	1551.119	1497.000	1071.000	2300.000	1382.000	1623.000	241.0000	267.7061

GRÁFICOS “BOX AND WHISKER” PARA LOS ESTEROLES DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA.

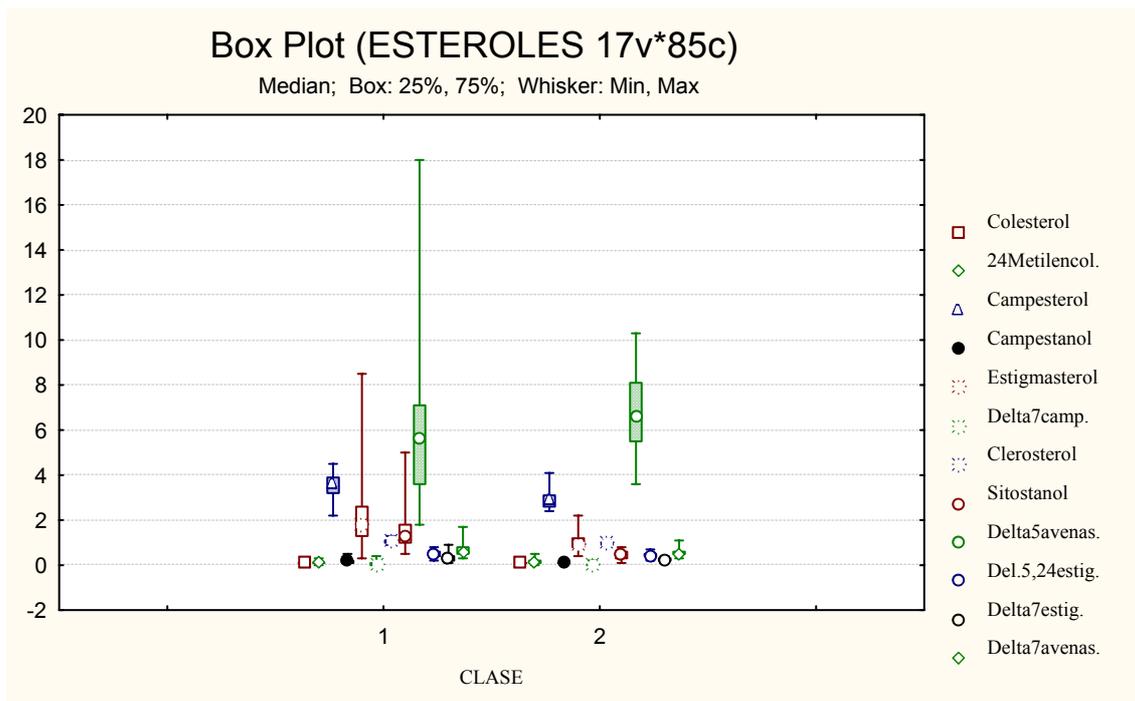
Como ya vimos con anterioridad, también vamos a ver los gráficos de “caja y bigote” para los esteroides. Solamente vamos a ver estos gráficos, de manera individual para las dos clases, en los esteroides más significativos. Primeramente se expone el gráfico de “caja y bigote” de forma conjunta para todos los esteroides (excepto brasicasterol y Δ -5-23-estigmasterol).

GRÁFICO III.28.



Eliminando, los esteroides con valores superiores, es decir, el β -sitosterol y el aparente resulta el siguiente gráfico:

GRÁFICO III.29.



Para tener una mejor visualización de los esteroides con menor cuantía, los hemos estudiado individualmente. Solo se han puesto los de mayor relevancia.

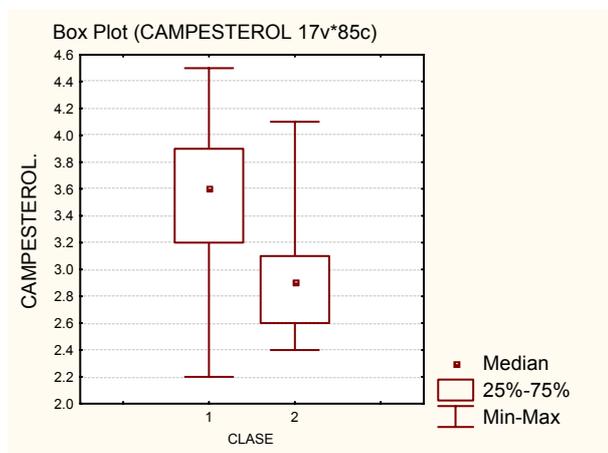
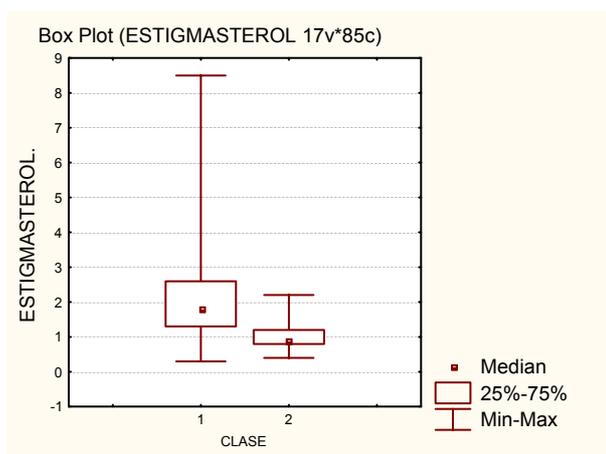
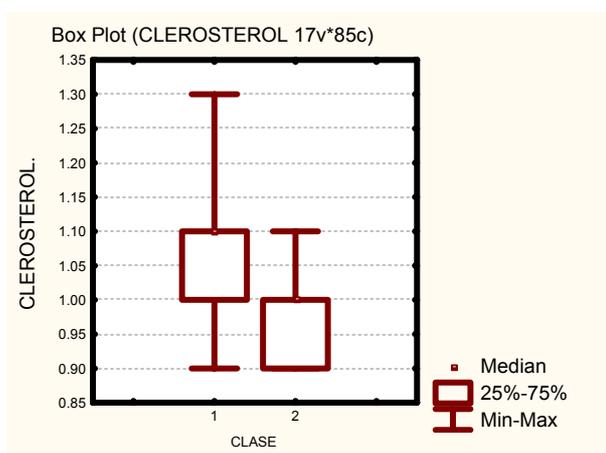
GRÁFICO III.30.**GRÁFICO III.31.****GRÁFICO III.32.**

GRÁFICO III.33.

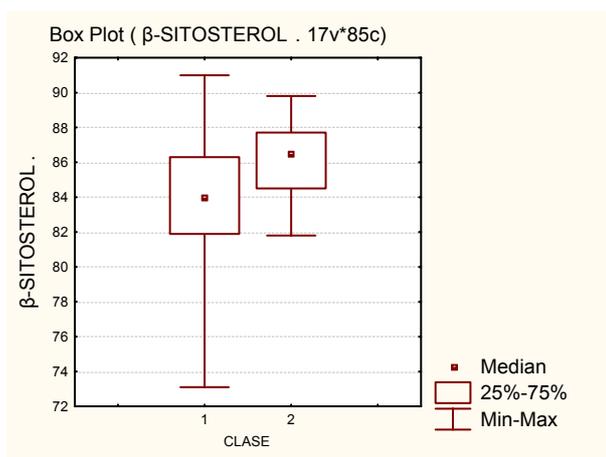


GRÁFICO III.34.

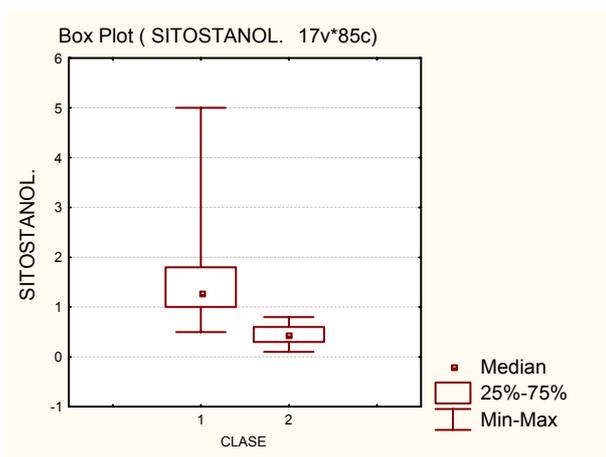


GRÁFICO III.35.

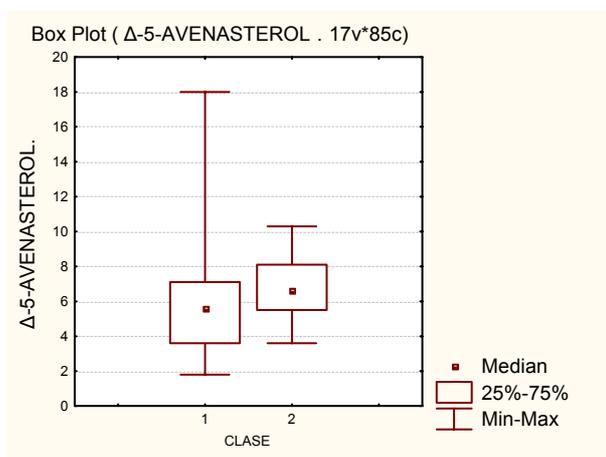


GRÁFICO III.36.

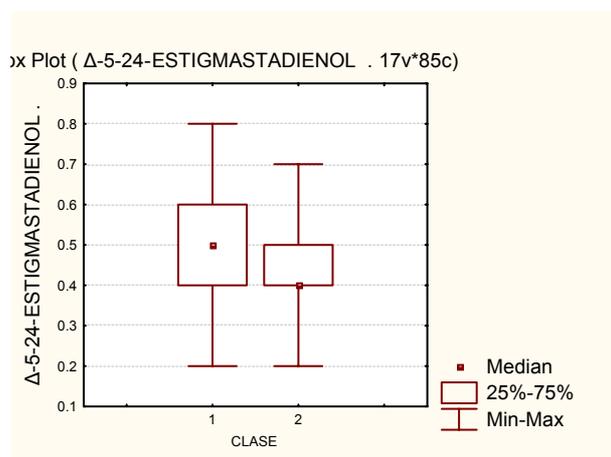


GRÁFICO III.37.

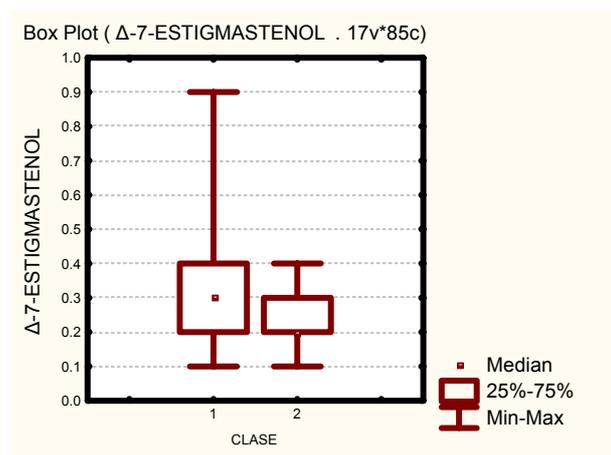
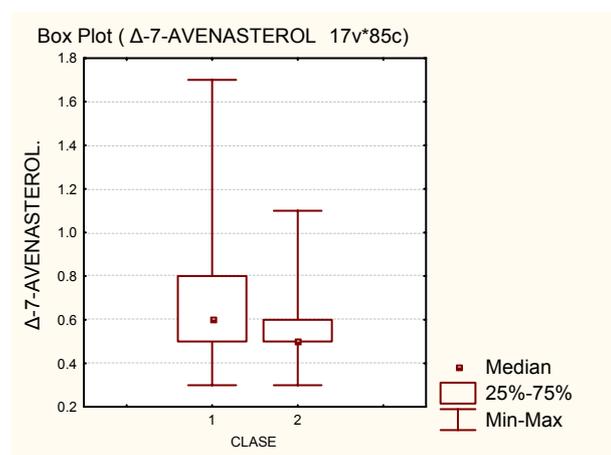
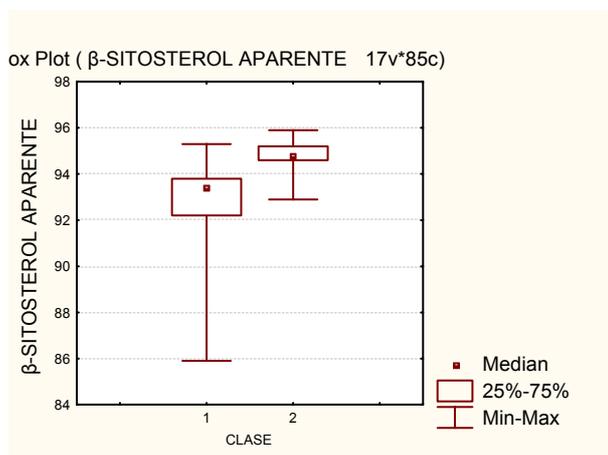


GRÁFICO III.38.



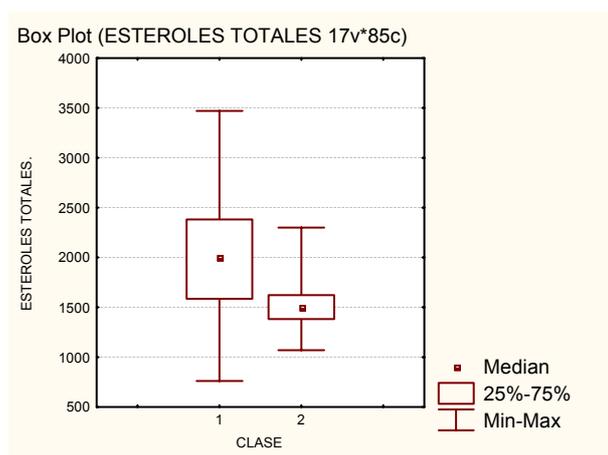
A continuación vamos a ver el gráfico del β -sitosterol aparente las dos clases 1 y 2, que se obtiene, según la norma CEE 2568/91, de sumar los esteroides Δ -5-23-estigmasterol, clerosterol, β -sitosterol, sitostanol, Δ -5-avenasterol y Δ -5-24-estigmastadienol.

GRÁFICO III.39.



Por otra parte, se han cuantificado los esteroides absolutos o totales mediante un patrón interno de α -colestanol. El gráfico de caja y bigote para los esteroides totales de las clases 1 y 2 es el siguiente:

GRÁFICO III.40.



III.3.11. ERITRODIOL MÁS UVAOL DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

La tabla III.13 recoge los valores del eritrodiol y uvaol de acebuchina.

Tabla III.13. ERITRODIOL (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	ERITRODIOL + UVAOL	MUESTRA	ERITRODIOL + UVAOL
ACEBU 1	2.4	ACEBU 34	1.8
ACEBU 2	3.2	ACEBU 35	1.9
ACEBU2A		ACEBU 36	2.0
ACEBU 3	1.2	ACEBU 37	2.2
ACEBU 4	1.0	ACEBU 38	1.7
ACEBU 5	1.3	ACEBU 39	3.0
ACEBU 6	0.7	ACEBU 40	0.6
ACEBU6A	0.5	ACEBU 41	3.1
ACEBU 7	2.5	ACEBU 42	2.7
ACEBU 8	2.1	ACEBU 43	11.2
ACEBU 9	3.2		
ACEBU 10	0.8		
ACEB10A			
ACEBU 11	1.2		
ACEBU 12	1.7		
ACEBU 13	1.2		
ACEBU 14	1.4		
ACEBU 15			
ACEB 15A			
ACEB 15B			
ACEBU 16	2.5		
ACEBU 17	0.9		
ACEBU 18	1.5		
ACEBU 19	0.8		
ACEBU 20	1.6		
ACEB 20A	0.9		
ACEBU 21	1.5		
ACEBU 22	3.9		
ACEBU 23	1.2		
ACEBU 24	1.1		
ACEBU 25	0.7		
ACEBU 26	1.7		
ACEBU 27	1.5		
ACEBU 28	1.7		
ACEB28A	2.2		
ACEB 28B			
ACEBU 29	1.8		
ACEBU 30	4.4		
ACEBU 31	1.1		
ACEBU 32	7.7		
ACEBU 33	1.7		

El recuadro siguiente contiene el tratamiento estadístico descriptivo de la tabla III.13 de los valores de eritrodiol más uvaol de los aceites de acebuchina.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.13.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
ERITRODIOL MÁS UVAOL	43	1.891	1.700	0.5000	7.700	1.100	2.200	1.1000	1.2705

En el tratamiento estadístico no se consideran las muestras 10A, 15, 15A, 15B, 28B y 43 por no ser aceites de acebuchina vírgenes, ya que se obtuvieron mediante extracción con hexano. Por tanto estos aceites tienen connotaciones de aceites de orujo, ya que el eritrodiol suele ser alto. También, volvemos a decir que se elimina la muestra 16 por ser envasada, y no tener la garantía suficiente de que sea exclusivamente de acebuchina sin tener mezcla con aceites de oliva.

III.3.12. ERITRODIOL MÁS UVAOL DE LOS ACEITES DE OLIVA.

En la tabla III.14 se recogen los valores de eritrodiol más uvaol de los aceites de oliva virgen. En la tabla aparecen valores más altos de lo normal en el contenido de eritrodiol en los aceites de oliva virgen debido a que se trata de aceites provenientes de aceitunas de la variedad “Verdial de Huévar” que suelen tenerlo alto. Las muestras de oliva con estas variedades son la 29, 41 y 42.

El tratamiento estadístico descriptivo viene reflejado en la tabla siguiente:

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.14.

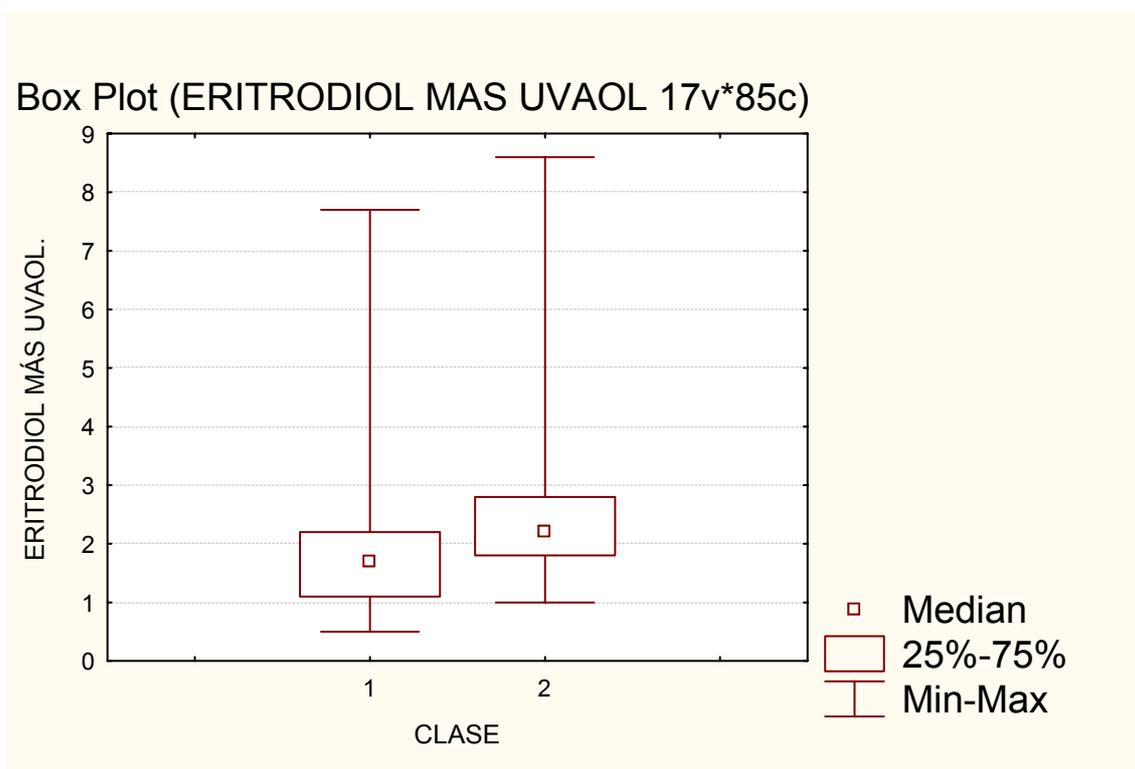
	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
ERITRODIOL MÁS UVAOL	42	2.581	2.200	1.000	8.600	1.800	2.800	1.0000	1.4918

Tabla III.14. ERITRODIOL (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	ERITRODIOL MÁS UVAOL
OLIVA 1	2.2
OLIVA 2	1.9
OLIVA 3	1.9
OLIVA 4	2.4
OLIVA 5	1.9
OLIVA 6	1.8
OLIVA 7	1.9
OLIVA 8	1.4
OLIVA 9	4.1
OLIVA 10	3.4
OLIVA 11	3.5
OLIVA 12	2.8
OLIVA 13	2.2
OLIVA 14	2.8
OLIVA 15	2.0
OLIVA 16	1.3
OLIVA 17	1.8
OLIVA 18	1.6
OLIVA 19	2.2
OLIVA 20	2.8
OLIVA 21	1.7
OLIVA 22	2.2
OLIVA 23	2.1
OLIVA 24	2.3
OLIVA 25	2.7
OLIVA 26	1.0
OLIVA 27	2.5
OLIVA 28	2.4
OLIVA 29	6.4
OLIVA 30	1.6
OLIVA 31	4.3
OLIVA 32	2.3
OLIVA 33	1.7
OLIVA 34	1.8
OLIVA 35	2.8
OLIVA 36	1.4
OLIVA 37	2.5
OLIVA 38	1.7
OLIVA 39	1.6
OLIVA 40	2.3
OLIVA 41	6.6
OLIVA 42	8.6

A continuación vemos los gráficos “box and whisker” del eritrodiol mas el uvaol de los aceites de acebuchina virgen y de oliva virgen.

GRÁFICO III.41.

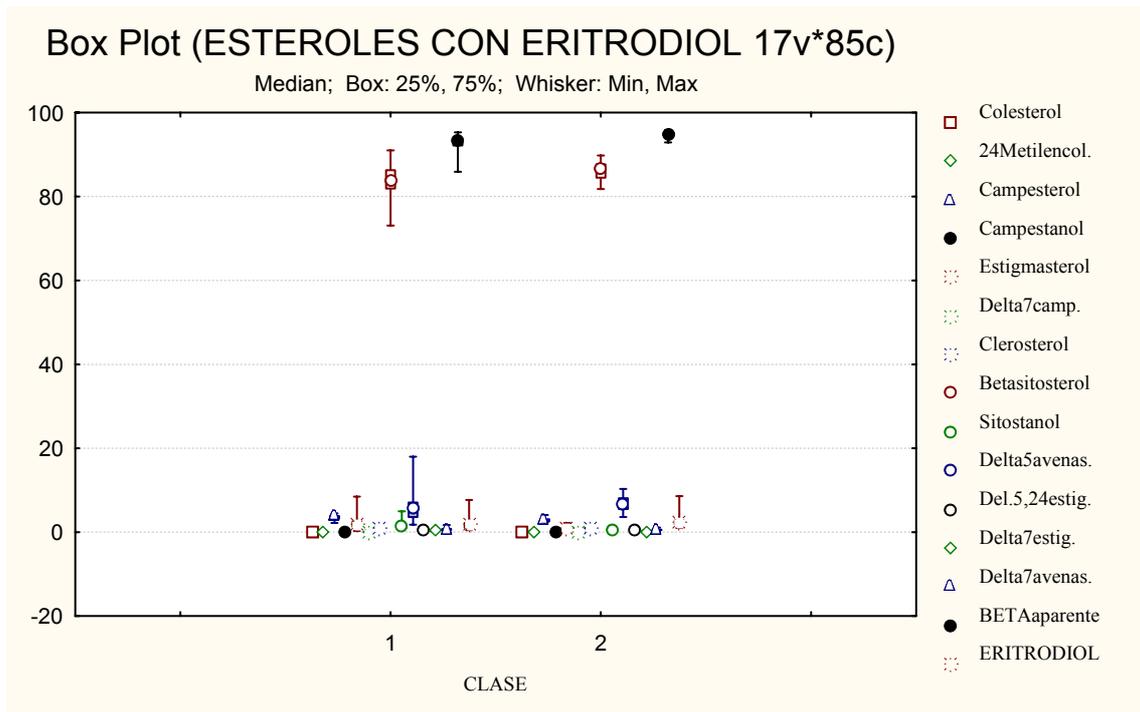


Se observa que las muestras de acebuchina presentan valores “normales” en el contenido de eritrodiol. Los aceites de oliva virgen, según el reglamento comunitario CEE 2568/91, no superan el 4.5 % de eritrodiol más uvaol. Sin embargo, en las muestras de acebuchina virgen hay una sola muestra que supera este límite de 4.5 %, que es la muestra 32 (no tenemos en cuenta la muestra 43, que ya hemos dicho no es virgen, sino que se obtuvo por extracción con hexano).

En el caso de las muestras de oliva virgen hay tres muestras con valores superiores al 4.5 % que son la 29, 41 y 42. Ya hemos dicho que esto es debido a que son muestras provenientes de la variedad “Verdial de Huévar” que dan aceites con niveles altos de eritrodiol.

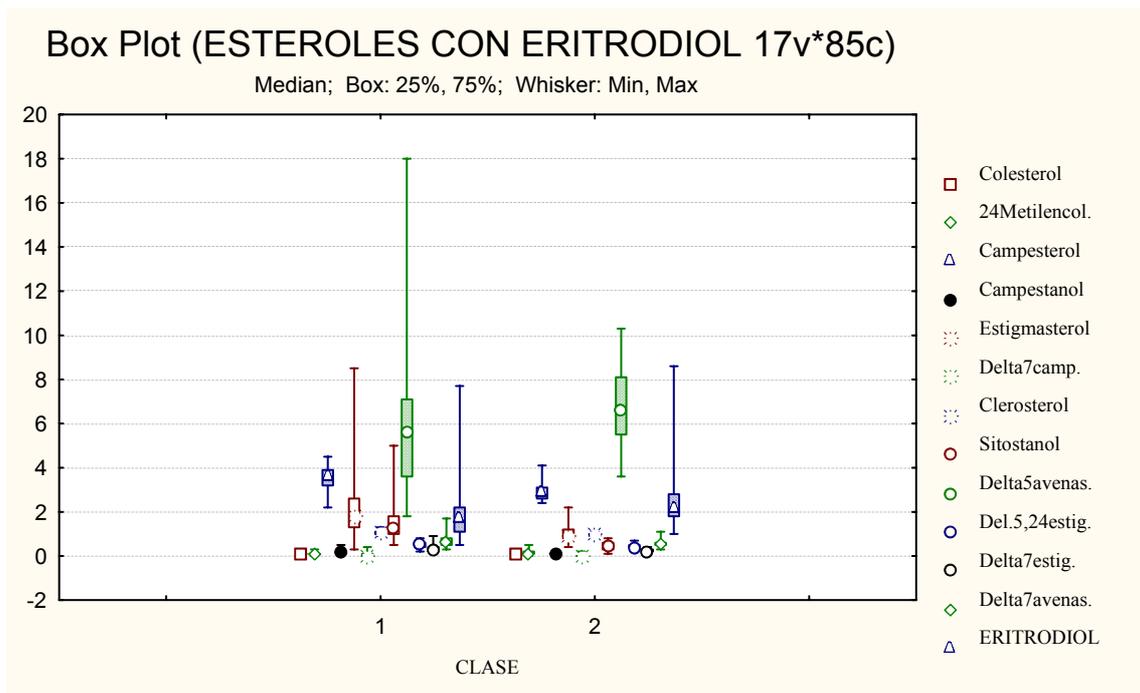
Como el eritrodiol y el uvaol se cuantifican con respecto a los esteroides, vamos a ver el gráfico III.42 de “box and whisker” con todas estas variables.

GRÁFICO III.42.



Eliminando las variables con contenido mayoritario, como son el β -sitosterol y el β -sitosterol aparente, resulta el gráfico III.43 de manera más clarividente para el resto de las variables.

GRÁFICO III.43.



III.3.13. ALCOHOLES ALIFÁTICOS DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

Tabla III.15. ALCOHOLES ALIFÁTICOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Monocosanol	Dicosanol	Tricosanol	Tetracosanol	Pentacosanol	Hexacosanol
ACEBU 1	1.9	5.1	1.5	27.3	3.7	38.4
ACEBU 2	1.0	18.1	1.9	34.0	1.9	27.0
ACEBU2A						
ACEBU 3	1.5	13.1	1.7	23.2	1.8	37.0
ACEBU 4	2.0	13.7	1.4	34.0	2.1	30.4
ACEBU 5	1.5	17.6	2.1	34.0	2.5	27.5
ACEBU 6	4.1	8.1	2.0	26.6	5.4	30.9
ACEBU6A	3.7	10.0	2.1	26.4	4.8	27.8
ACEBU 7	0.9	11.4	1.3	33.6	2.4	28.2
ACEBU 8	0.4	8.2	1.1	25.3	2.7	36.4
ACEBU 9	0.7	9.6	1.8	22.4	3.8	33.6
ACEBU 10	1.3	8.9	1.4	31.9	4.0	29.1
ACEB 10A						
ACEBU 11	0.8	8.0	1.6	31.8	3.8	32.0
ACEBU 12	9.5	7.5	1.5	25.7	4.7	31.4
ACEBU 13	3.3	6.9	0.9	17.3	3.8	38.4
ACEBU 14	1.8	6.1	1.3	29.4	2.9	32.4
ACEBU 15						
ACEB 15A						
ACEB 15B						
ACEBU 16	0.3	12.2	1.5	28.8	3.1	32.5
ACEBU 17	8.1	17.0	1.9	30.8	2.2	23.8
ACEBU 18	7.0	8.2	2.1	15.8	2.8	32.2
ACEBU 19	0.5	11.2	0.9	26.8	2.6	26.1
ACEBU 20	1.4	6.8	1.1	22.4	2.1	29.2
ACEB 20A	2.7	8.1	0.9	22.5	2.9	26.2
ACEBU 21	4.5	14.4	1.1	26.2	2.3	27.4
ACEBU 22	1.8	8.4	0.9	20.7	2.3	33.6
ACEBU 23	2.5	8.0	0.9	26.7	2.8	36.9
ACEBU 24	3.5	13.4	1.1	21.7	2.9	30.3
ACEBU 25	1.1	19.2	1.7	30.4	1.7	26.5
ACEBU 26	2.4	7.1	1.2	22.7	2.4	30.8
ACEBU 27	2.5	7.4	1.2	17.2	2.8	30.3
ACEBU 28	3.1	12.5	0.9	22.2	1.9	24.5
ACEB 28A	2.2	11.3	1.3	23.4	3.6	30.1
ACEB 28B						
ACEBU 29	2.1	7.8	0.8	21.1	1.3	31.9
ACEBU 30	1.6	7.4	0.7	21.2	2.4	33.7
ACEBU 31	4.0	6.6	0.5	11.8	3.3	37.6
ACEBU 32	1.7	7.5	0.8	23.8	2.0	30.1
ACEBU 33	4.9	9.5	0.9	16.7	2.2	29.5

Tabla III.15. ALCOHOLES ALIFÁTICOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Monocosanol	Dicosanol	Tricosanol	Tetracosanol	Pentacosanol	Hexacosanol
ACEBU 34	3.0	9.0	0.7	15.4	2.0	28.6
ACEBU 35	6.6	13.2	1.1	21.4	2.0	29.6
ACEBU 36	2.2	11.6	0.9	30.8	2.1	29.5
ACEBU 37	5.2	12.0	0.6	18.4	2.4	30.1
ACEBU 38	1.5	9.5	1.2	29.8	2.4	27.4
ACEBU 39	5.3	14.5	1.2	24.1	2.3	27.1
ACEBU 40	9.2	15.3	0.8	14.5	3.6	27.7
ACEBU 41	4.5	15.4	1.1	20.1	2.2	25.0
ACEBU 42	6.5	11.7	1.1	23.2	2.9	26.1
ACEBU 43	0.1	10.9	1.2	35.2	1.3	26.5

Tabla III.15. ALCOHOLES ALIFÁTICOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	Heptacosanol	Octacosanol	ALCOHOLES TOTALES (mg/Kg) (8 picos)	ALCOHOLES TOTALES (mg/Kg) según C.E.E. (4 picos)
ACEBU 1	2.8	19.2	322	290
ACEBU 2	2.0	14.1	715	667
ACEBU2A				
ACEBU 3	2.0	19.7	353	328
ACEBU 4	1.8	14.6	395	366
ACEBU 5	1.7	13.0	296	273
ACEBU 6	2.9	20.0	113	97
ACEBU6A	3.7	21.4	120	93
ACEBU 7	2.3	20.0	486	452
ACEBU 8	2.6	23.4	287	268
ACEBU 9	3.4	24.8	304	275
ACEBU 10	3.0	20.3	181	163
ACEB 10A				
ACEBU 11	2.6	19.4	202	184
ACEBU 12	3.1	16.5	158	128
ACEBU 13	3.9	25.5	96	84
ACEBU 14	2.4	23.7	233	213
ACEBU 15				
ACEB 15A				
ACEB 15B				
ACEBU 16	2.1	19.6	180	167
ACEBU 17	1.4	14.9	430	372
ACEBU 18	3.5	28.4	204	172
ACEBU 19	3.0	28.9	274	255
ACEBU 20	2.4	34.6	450	419
ACEB 20A	3.1	33.6	191	172
ACEBU 21	2.1	21.9	555	499
ACEBU 22	2.9	29.3	450	414
ACEBU 23	2.1	20.0	249	228
ACEBU 24	2.5	24.5	249	224
ACEBU 25	1.4	18.1	670	631
ACEBU 26	2.4	30.9	273	250
ACEBU 27	2.6	35.9	251	228
ACEBU 28	2.8	32.1	268	245
ACEB 28A	3.0	25.1	504	453
ACEB 28B				
ACEBU 29	2.0	33.1	464	435
ACEBU 30	3.3	29.7	384	353
ACEBU 31	2.7	33.4	262	234
ACEBU 32	2.2	31.8	621	579
ACEBU 33	2.4	33.9	223	200

Tabla III.15. ALCOHOLES ALIFÁTICOS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA			ALCOHOLES	ALCOHOLES
	Heptacosanol	Octacosanol	TOTALES (mg/Kg) (8 picos)	TOTALES (mg/Kg) según C.E.E. (4 picos)
ACEBU 34	3.1	38.1	275	251
ACEBU 35	2.0	24.0	165	146
ACEBU 36	2.1	20.8	342	317
ACEBU 37	3.1	28.1	480	425
ACEBU 38	2.3	25.9	411	381
ACEBU 39	2.2	23.3	527	470
ACEBU 40	3.3	25.5	101	84
ACEBU 41	2.5	29.2	98	88
ACEBU 42	2.6	25.9	333	290
ACEBU 43	1.7	23.2	3520	3366

En la tabla III.15 se reflejan los valores de los alcoholes alifáticos en % entre ellos de los aceites de acebuchina. También aparece la cuantificación de los alcoholes totales mediante el patrón interno de eicosanol. Estos se han cuantificado de dos formas: considerando los ocho alcoholes tanto los de número par como los de número impar de átomos de carbono y, también, como dice el reglamento nº 2568/91 de la CEE, es decir considerando sólo los alcoholes de número par de átomos de carbono y no integrando en el cromatograma los de número impar.

Igualmente que en las determinaciones anteriores el tratamiento estadístico solo se ha realizado con todas las muestras de aceite de acebuchina virgen, exceptuando las obtenidas por extracción con hexano que son la 10A, 15, 15A, 15B, 28B y 43. También se ha eliminado del estudio la muestra envasada número 16. Los aceites obtenidos por extracción con hexano dan un contenido de alcoholes superior a los aceites vírgenes.

El tratamiento estadístico descriptivo viene reflejado en la tabla que viene a continuación. En esta tabla aparecen los valores mínimo, medio y máximo, la mediana, así como los percentiles 25 % y 75 % y también la desviación estándar.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.15.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
Monocosanol	43	3.1628	2.4000	0.40000	9.5000	1.5000	4.5000	3.0000	2.3258
Dicosanol	43	10.6116	9.5000	5.10000	19.2000	7.8000	13.2000	5.4000	3.5880
Tricosanol	43	1.2372	1.1000	0.50000	2.1000	0.9000	1.5000	0.6000	0.4343
Tetracosanol	43	24.2953	23.4000	11.80000	34.0000	21.1000	29.4000	8.3000	5.7328
Pentacosanol	43	2.7605	2.4000	1.30000	5.4000	2.1000	3.3000	1.2000	0.8913
Hexacosanol	43	30.2860	30.1000	23.80000	38.4000	27.4000	32.2000	4.8000	3.7795
Heptacosanol	43	2.5860	2.6000	1.40000	3.9000	2.1000	3.0000	0.9000	0.5829
Octacosanol	43	25.0349	24.8000	13.00000	38.1000	20.0000	29.7000	9.7000	6.4212
ALC. TOT.	43	324.7674	287.0000	96.00000	715.0000	204.0000	450.0000	246.0000	156.5749
ALC. CEE.	43	295.2558	268.0000	84.00000	667.0000	184.0000	414.0000	230.0000	147.0611

III.3.14. ALCOHOLES ALIFÁTICOS DE LOS ACEITES DE OLIVA.

En la tabla siguiente se recoge el tratamiento estadístico de los alcoholes alifáticos de las muestras de aceite de oliva virgen que se encuentran en la tabla III.16. Como ya se ha dicho en las determinaciones anteriores, se descartan en el tratamiento estadístico las muestras 10A, 15, 15A, 15B, 28B, 43 y 16.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.16.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
Monocosanol	42	4.1190	3.7500	0.20000	15.2000	2.2000	4.8000	2.60000	3.14947
Dicosanol	42	12.2333	11.7500	5.70000	23.8000	9.1000	14.8000	5.70000	4.22147
Tricosanol	42	1.3952	1.3000	0.80000	2.5000	1.2000	1.5000	0.30000	0.36086
Tetracosanol	42	24.7286	24.1500	17.30000	37.4000	21.9000	26.5000	4.60000	4.54089
Pentacosanol	42	3.1619	3.1000	1.80000	6.1000	2.7000	3.5000	0.80000	0.76635
Hexacosanol	42	35.8119	36.7500	23.70000	45.7000	33.3000	39.4000	6.10000	5.09869
Heptacosanol	42	1.8167	1.8000	0.80000	3.0000	1.5000	2.1000	0.60000	0.53279
Octacosanol	42	16.7262	16.2000	8.30000	33.5000	13.0000	18.0000	5.00000	5.90956
ALC. TOT.	42	156.8810	156.0000	76.00000	316.0000	128.0000	179.0000	51.00000	47.76937
ALC. CEE.	42	141.2857	141.5000	59.00000	292.0000	113.0000	161.0000	48.00000	45.25768

Tabla III.16. ALCOHOLES ALIFÁTICOS (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	Monocosanol	Dicosanol	Tricosanol	Tetracosanol	Pentacosanol	Hexacosanol
OLIVA 1	0.5	16.0	1.6	29.5	3.1	31.0
OLIVA 2	0.2	23.8	2.5	37.4	2.9	23.7
OLIVA 3	0.6	5.7	0.8	17.3	3.4	41.8
OLIVA 4	2.2	10.2	1.3	26.0	2.9	37.7
OLIVA 5	3.1	12.0	1.3	25.9	2.5	35.5
OLIVA 6	1.5	12.5	1.3	25.3	2.2	36.4
OLIVA 7	1.2	16.1	1.6	28.5	2.6	36.8
OLIVA 8	1.4	14.8	1.5	26.5	2.7	40.7
OLIVA 9	3.5	14.8	2.0	30.7	3.9	29.6
OLIVA 10	4.7	9.4	1.7	27.0	4.2	36.6
OLIVA 11	4.7	8.9	1.4	23.6	3.6	39.5
OLIVA 12	5.8	8.7	1.4	22.7	3.7	39.4
OLIVA 13	9.8	10.3	1.3	21.1	2.8	33.7
OLIVA 14	3.6	6.2	1.4	23.8	4.1	41.4
OLIVA 15	6.9	7.3	1.4	21.6	3.9	37.3
OLIVA 16	0.4	6.7	0.9	18.5	3.0	34.2
OLIVA 17	4.5	8.8	1.1	21.4	2.8	36.8
OLIVA 18	4.8	10.9	1.5	24.2	3.3	36.7
OLIVA 19	7.7	13.8	1.3	22.0	2.9	35.8
OLIVA 20	4.6	9.1	1.4	23.1	3.3	40.4
OLIVA 21	2.2	8.1	1.0	18.5	3.2	33.3
OLIVA 22	3.5	11.6	1.4	28.0	3.3	37.5
OLIVA 23	4.0	11.8	1.0	25.9	2.4	35.4
OLIVA 24	4.4	13.4	1.3	24.1	2.5	38.8
OLIVA 25	4.5	10.1	1.2	21.3	3.5	33.4
OLIVA 26	4.1	9.0	1.1	18.2	3.0	31.0
OLIVA 27	6.3	11.7	1.2	22.6	3.1	39.9
OLIVA 28	5.4	10.5	1.2	23.0	2.7	38.7
OLIVA 29	13.0	9.1	1.3	22.3	6.1	31.6
OLIVA 30	4.8	7.7	0.9	17.4	2.9	40.0
OLIVA 31	3.9	13.9	1.4	25.1	3.6	39.5
OLIVA 32	3.2	21.8	2.3	34.2	2.5	26.4
OLIVA 33	15.2	17.3	1.3	21.9	1.8	24.5
OLIVA 34	2.9	14.3	1.1	25.5	2.1	37.2
OLIVA 35	5.9	12.5	1.2	22.6	3.5	36.0
OLIVA 36	2.8	15.2	1.4	26.4	2.8	38.7
OLIVA 37	2.7	23.4	1.8	33.7	1.9	24.9
OLIVA 38	2.9	9.8	1.3	24.2	3.1	45.7
OLIVA 39	7.2	12.1	1.5	25.7	3.3	38.7
OLIVA 40	0.5	13.4	1.0	20.2	3.2	45.2
OLIVA 41	0.5	15.9	2.1	31.2	4.0	32.1
OLIVA 42	1.4	15.2	1.9	30.5	4.5	30.6

Tabla III.16. ALCOHOLES ALIFÁTICOS (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	ALCOHOLES		ALCOHOLES
	Heptacosanol	Octacosanol	TOTALES (mg/Kg) según C.E.E. (4 picos)
OLIVA 1	1.8	16.4	120
OLIVA 2	1.2	8.3	172
OLIVA 3	2.8	27.7	316
OLIVA 4	2.1	17.6	162
OLIVA 5	1.7	18.0	155
OLIVA 6	1.9	18.9	170
OLIVA 7	1.7	11.5	150
OLIVA 8	1.2	11.2	157
OLIVA 9	1.7	13.9	80
OLIVA 10	1.7	14.7	179
OLIVA 11	1.9	16.4	159
OLIVA 12	1.9	16.4	141
OLIVA 13	2.0	19.0	80
OLIVA 14	2.0	17.4	264
OLIVA 15	2.2	19.4	147
OLIVA 16	2.9	33.5	224
OLIVA 17	2.2	22.4	135
OLIVA 18	2.1	16.6	128
OLIVA 19	1.6	14.9	88
OLIVA 20	1.6	16.7	180
OLIVA 21	3.0	30.7	188
OLIVA 22	1.8	13.0	186
OLIVA 23	2.1	17.4	212
OLIVA 24	2.2	13.2	189
OLIVA 25	2.0	24.1	164
OLIVA 26	2.3	31.4	163
OLIVA 27	1.4	13.8	143
OLIVA 28	1.6	17.0	167
OLIVA 29	1.6	14.8	76
OLIVA 30	2.1	24.3	164
OLIVA 31	1.3	11.2	142
OLIVA 32	0.9	8.6	166
OLIVA 33	2.6	15.4	85
OLIVA 34	1.0	16.0	224
OLIVA 35	0.8	16.6	126
OLIVA 36	1.2	11.5	155
OLIVA 37	1.8	9.9	150
OLIVA 38	1.3	11.8	200
OLIVA 39	1.0	10.4	124
OLIVA 40	1.5	15.0	117
OLIVA 41	1.8	12.4	129
OLIVA 42	2.8	13.1	112

GRÁFICOS “BOX AND WHISKER” PARA LOS ALCOHOLES ALIFÁTICOS DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA.

Siguiendo el mismo tratamiento seguido para las demás determinaciones, vemos a continuación los gráficos “box and whisker” de los alcoholes alifáticos de los aceites de acebuchina y de oliva (clases 1 y 2). En primer lugar, aparecen los gráficos de manera individualizada de cada alcohol y de los alcoholes totales.

GRÁFICO III.44.

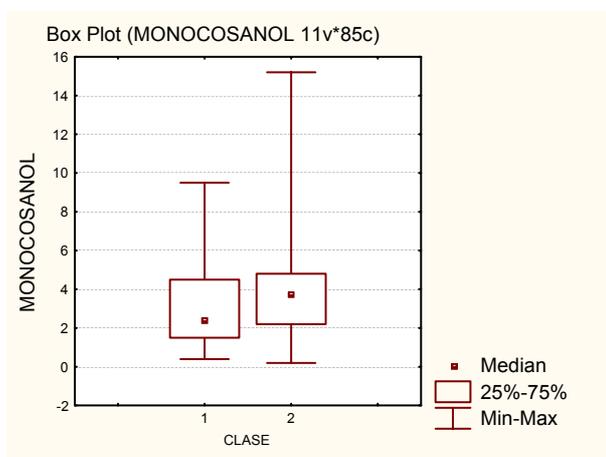


GRÁFICO III.45.

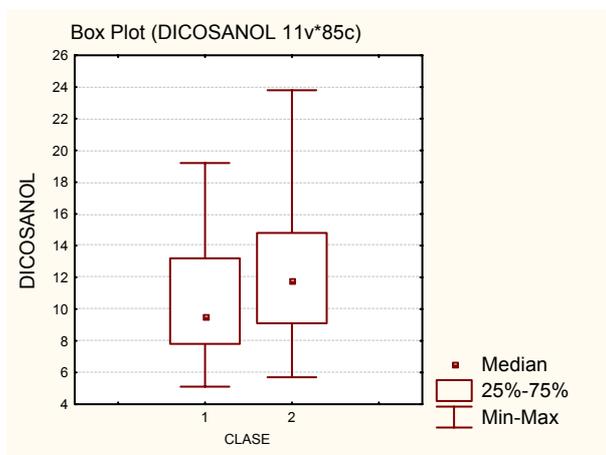


GRÁFICO III.46.

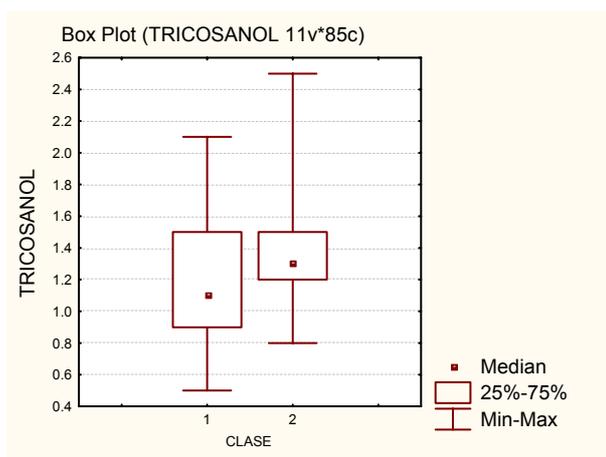


GRÁFICO III.47.

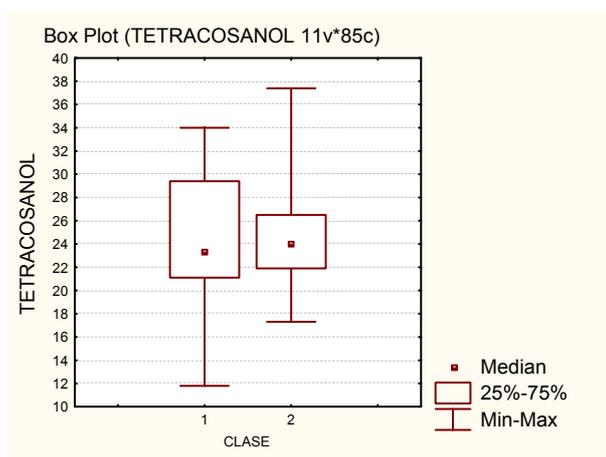


GRÁFICO III.48.

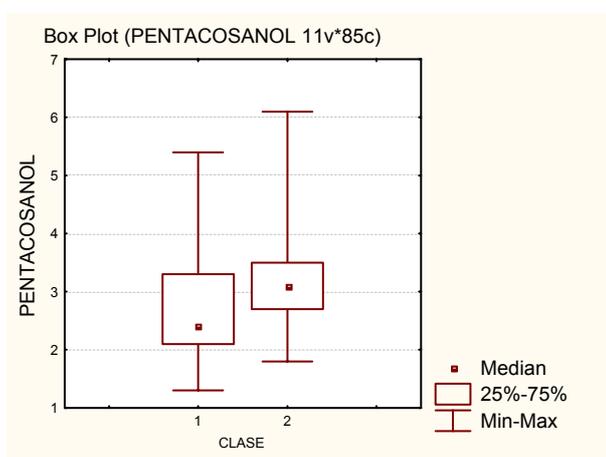


GRÁFICO III.49.

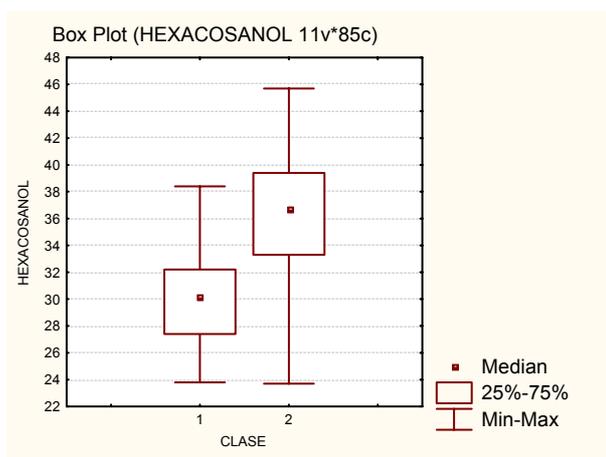


GRÁFICO III.50.

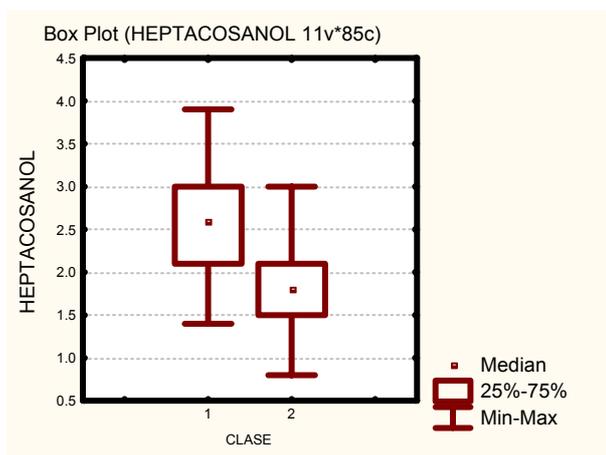
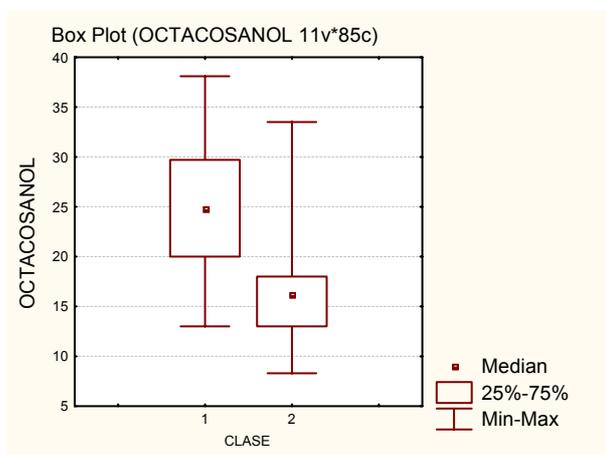
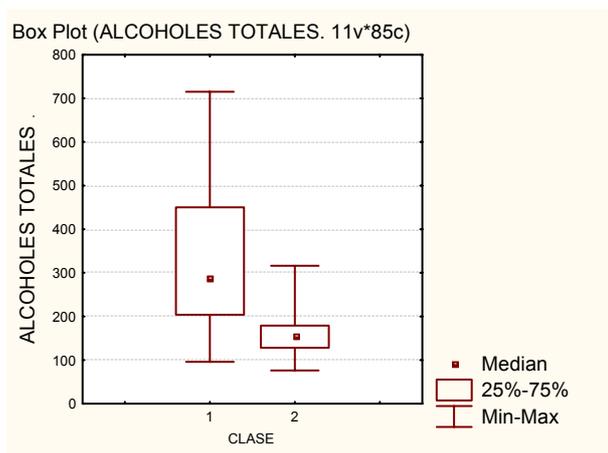


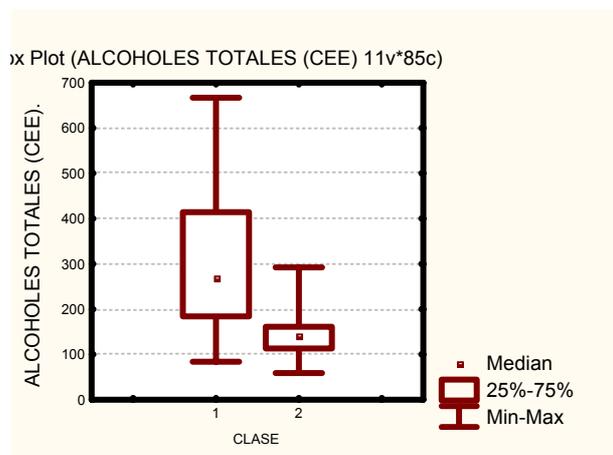
GRÁFICO III.51.



El gráfico III.52 representa a los alcoholes totales que resultan de integrar en el cromatograma a los ocho alcoholes (desde el monocosanol al octacosanol) frente a eicosanol (patrón interno).

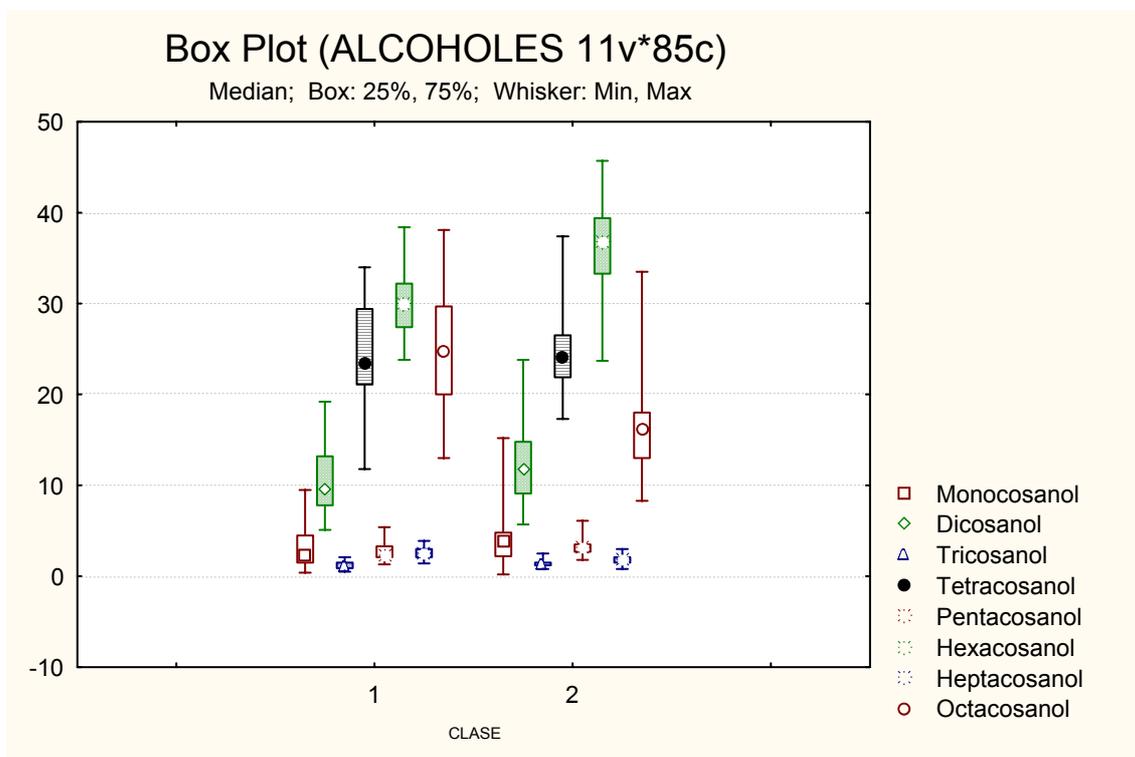
GRÁFICO III.52.

El gráfico III.53 representa a los alcoholes totales según el reglamento comunitario de la CEE 2568/91 por el que se establece que estos resultan de la integración de cuatro alcoholes, en concreto, de los de número de átomos de carbono par frente a un patrón interno de eicosanol.

GRÁFICO III.53.

El gráfico III.54 representa a todas las variables (alcoholes alifáticos) de cada una de las clases 1 y 2 (aceite de acebuchina y aceite de oliva respectivamente).

GRÁFICO III.54.



III.3.15. CERAS DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

En la tabla III.17 se contempla los datos obtenidos en la determinación del contenido de ceras de los aceites de acebuchina virgen. En esta determinación, como en todas las anteriores de esta tesis, las muestras 10A, 15, 15A, 15B, 28B, 43 y 16 (muestra envasada) se desestiman para el tratamiento estadístico.

En esta tabla se refleja el contenido de cada una de las ceras en tanto por ciento entre ellas. Solamente se han cuantificado las de número par de átomos de carbono por ser las más significativas. También se han cuantificado la totalidad de las ceras bien considerando los siete picos o bien según el reglamento 2568/91 de la CEE que solo contempla las cuatro ceras últimas, con respecto al patrón interno de araquidato de laurilo.

Tabla III.17. CERAS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	C34	C36	C38	C40	C42	C44
ACEBU 1	6.8	28.7	26.0	15.7	17.9	4.8
ACEBU 2	2.2	17.9	22.2	25.6	24.3	6.7
ACEBU 2A						
ACEBU 3	4.4	23.5	29.9	18.4	16.2	6.9
ACEBU 4	8.9	29.2	24.1	15.6	15.7	6.1
ACEBU 5	3.0	13.4	19.3	27.7	29.7	6.7
ACEBU 6	5.5	25.7	22.3	14.2	23.9	8.0
ACEBU 6A	4.7	23.8	26.2	17.9	18.5	8.2
ACEBU 7	2.7	10.6	15.5	23.2	37.6	10.1
ACEBU 8	2.7	20.1	20.4	17.5	30.1	8.9
ACEBU 9	2.5	17.8	20.1	14.6	26.4	15.8
ACEBU 10	5.0	14.5	19.1	14.6	31.2	14.1
ACEBU 10A						
ACEBU 11	6.1	25.7	23.8	15.8	20.3	7.7
ACEBU 12	5.2	23.1	21.7	15.1	21.0	11.6
ACEBU 13	9.7	26.2	22.5	9.8	17.0	11.4
ACEBU 14	3.8	24.7	22.4	11.7	19.8	12.8
ACEBU 15						
ACEBU 15A						
ACEBU 15B						
ACEBU 16	2.2	17.4	20.1	18.0	25.8	13.2
ACEBU 17	3.3	11.0	20.8	26.4	28.1	8.9
ACEBU 18	4.7	24.1	26.6	12.5	18.5	11.7
ACEBU 19	4.3	22.7	18.7	13.7	25.5	12.7
ACEBU 20	6.2	23.9	19.3	18.8	19.2	10.4
ACEBU 20A	4.4	5.6	10.2	16.0	40.6	20.0
ACEBU 21	4.2	25.3	31.1	16.3	15.9	6.3
ACEBU 22	5.6	28.7	32.3	12.4	12.8	6.8
ACEBU 23	6.0	22.5	20.5	17.9	21.3	10.8
ACEBU 24	5.7	23.5	27.2	13.2	18.2	10.7
ACEBU 25	4.4	14.8	28.2	26.8	17.7	6.6
ACEBU 26	4.7	18.2	17.1	15.4	24.6	15.7
ACEBU 27	6.3	28.8	26.3	9.2	16.2	11.0
ACEBU 28	3.4	19.5	24.2	10.8	21.2	19.2
ACEBU 28A	3.0	20.3	28.2	16.3	20.7	10.1
ACEBU 28B						
ACEBU 29	3.2	21.0	16.1	12.6	30.4	15.7
ACEBU 30	3.7	22.7	28.7	14.7	15.4	10.9
ACEBU 31	3.0	20.1	29.7	12.8	18.5	12.9
ACEBU 32	2.4	10.0	10.4	12.1	26.1	25.2
ACEBU 33	5.0	15.7	23.3	13.5	24.3	14.8

Tabla III.17. CERAS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	C34	C36	C38	C40	C42	C44
ACEBU 34	3.3	16.6	28.3	17.1	17.5	13.9
ACEBU 35	6.0	10.8	15.4	15.1	37.7	13.3
ACEBU 36	3.9	15.5	23.0	19.5	27.7	8.6
ACEBU 37	3.2	19.1	22.6	12.4	20.7	16.7
ACEBU 38	3.1	14.5	20.0	20.7	25.6	12.2
ACEBU 39	2.5	11.0	15.7	17.2	28.1	19.1
ACEBU 40	3.9	19.9	18.4	11.4	26.9	16.6
ACEBU 41	3.1	29.5	34.1	7.0	14.6	10.1
ACEBU 42	2.2	15.0	20.9	12.1	30.6	14.49
ACEBU 43	0.3	1.9	9.3	27.2	38.2	15.2

Tabla III.17. CERAS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	C46	CERAS	CERAS
		TOTALES (mg/Kg) (7 picos)	TOTALES (mg/Kg) según C.E.E. (4 picos)
ACEBU 1	0.1	188	72
ACEBU 2	1.1	395	228
ACEBU 2A			
ACEBU 3	0.7	73	30
ACEBU 4	0.3	189	71
ACEBU 5	0.3	108	69
ACEBU 6	0.4	97	45
ACEBU 6A	0.7	76	34
ACEBU 7	0.4	296	211
ACEBU 8	0.3	94	54
ACEBU 9	2.8	382	227
ACEBU 10	1.5	173	106
ACEBU 10A			
ACEBU 11	0.8	151	68
ACEBU 12	2.3	178	89
ACEBU 13	3.3	116	48
ACEBU 14	4.9	189	93
ACEBU 15			
ACEBU 15A			
ACEBU 15B			
ACEBU 16	3.3	146	87
ACEBU 17	1.5	245	159
ACEBU 18	1.8	213	95
ACEBU 19	2.4	195	106
ACEBU 20	2.2	398	201
ACEBU 20A	3.1	104	83
ACEBU 21	0.9	459	181
ACEBU 22	1.5	162	54
ACEBU 23	1.1	175	89
ACEBU 24	1.6	187	84
ACEBU 25	1.6	266	140
ACEBU 26	4.2	124	75
ACEBU 27	2.2	187	72
ACEBU 28	1.6	142	75
ACEBU 28A	1.5	315	153
ACEBU 28B			
ACEBU 29	1.0	113	67
ACEBU 30	4.1	315	142
ACEBU 31	3.1	183	86
ACEBU 32	14.0	456	352
ACEBU 33	3.4	91	51

Tabla III.17. CERAS (%) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	C46	CERAS	CERAS
		TOTALES (mg/Kg) (7 picos)	TOTALES (mg/Kg) según C.E.E. (4 picos)
ACEBU 34	3.2	185	96
ACEBU 35	1.6	67	45
ACEBU 36	1.7	150	86
ACEBU 37	5.2	183	101
ACEBU 38	3.9	251	157
ACEBU 39	6.4	303	215
ACEBU 40	2.9	55	32
ACEBU 41	1.5	89	30
ACEBU 42	4.2	186	115
ACEBU 43	7.9	2057	1820

En la tabla siguiente se refleja el tratamiento estadístico descriptivo de la tabla III.17 con los valores máximo, medio y mínimo, la mediana, la desviación estándar y los percentiles 25 % y 75 %.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.17.

	Muestra N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
C34	43	4.3698	4.2000	2.20000	9.7000	3.1000	5.5000	2.4000	1.6799
C36	43	19.8884	20.1000	5.60000	29.5000	15.0000	24.1000	9.1000	6.0190
C38	43	22.6233	22.4000	10.20000	34.1000	19.3000	26.6000	7.3000	5.4298
C40	43	15.8442	15.1000	7.00000	27.7000	12.5000	17.9000	5.4000	4.6755
C42	43	23.1209	21.2000	12.80000	40.6000	17.9000	27.7000	9.8000	6.5992
C44	43	11.7486	11.0000	4.80000	25.2000	8.2000	14.4900	6.2900	4.3784
C46	43	2.4023	1.6000	0.10000	14.0000	1.0000	3.2000	2.2000	2.3407
CER. 7PICOS	43	197.7674	183.0000	55.00000	459.0000	113.0000	251.0000	138.0000	105.3140
CERAS CEE	43	106.6744	86.0000	30.00000	352.0000	67.0000	142.0000	75.0000	67.5735

III.3.16. CERAS DE LOS ACEITES DE OLIVA.

En la tabla III.18 se reúnen los valores de las ceras de las muestras de aceite de oliva virgen.

Tabla III.18. CERAS (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	C34	C36	C38	C40	C42	C44
OLIVA 1	2.5	20.2	20.4	18.0	23.0	13.6
OLIVA 2	1.8	11.4	15.9	24.0	28.9	15.1
OLIVA 3	6.8	16.8	17.5	16.3	24.9	14.6
OLIVA 4	3.4	28.4	20.8	12.2	18.0	13.7
OLIVA 5	3.8	34.7	26.3	12.5	13.4	7.7
OLIVA 6	3.2	32.9	24.6	14.1	13.7	8.9
OLIVA 7	5.5	30.2	19.5	17.2	18.1	9.3
OLIVA 8	3.5	22.6	14.0	18.2	27.0	9.0
OLIVA 9	3.4	36.9	21.9	11.4	20.7	5.0
OLIVA 10	5.7	31.3	22.5	15.2	18.4	5.3
OLIVA 11	4.8	29.1	21.8	15.0	21.4	7.1
OLIVA 12	5.0	30.6	22.1	15.0	18.7	6.6
OLIVA 13	6.2	35.9	21.1	10.1	18.1	8.1
OLIVA 14	5.3	24.2	22.6	17.7	20.3	8.4
OLIVA 15	5.6	29.2	24.1	13.5	17.6	8.4
OLIVA 16	5.3	17.2	19.3	15.4	23.8	15.9
OLIVA 17	7.3	39.4	22.8	9.7	15.1	5.4
OLIVA 18	8.7	27.7	18.0	15.8	21.6	7.1
OLIVA 19	8.6	31.2	19.8	11.7	14.5	8.4
OLIVA 20	6.4	31.2	25.0	14.8	17.0	5.5
OLIVA 21	7.6	22.8	22.2	13.1	21.0	11.1
OLIVA 22	6.6	39.3	21.1	9.7	11.6	10.7
OLIVA 23	8.2	50.5	30.0	6.5	3.7	0.9
OLIVA 24	5.7	35.8	22.8	12.3	13.2	8.8
OLIVA 25	4.1	23.1	15.0	14.9	28.8	10.8
OLIVA 26	3.5	21.2	24.8	13.6	19.8	13.2
OLIVA 27	2.8	5.3	8.3	21.9	35.4	22.3
OLIVA 28	4.4	42.5	21.6	8.8	18.0	3.9
OLIVA 29	1.7	18.6	17.7	27.7	26.7	7.0
OLIVA 30	3.8	19.8	16.0	13.9	25.3	17.7
OLIVA 31	3.9	36.5	22.7	12.4	16.1	7.4
OLIVA 32	1.2	7.3	13.0	21.4	31.8	20.8
OLIVA 33	3.3	34.3	22.4	10.8	17.4	9.7
OLIVA 34	7.7	46.6	27.9	7.0	6.6	3.6
OLIVA 35	5.9	32.9	25.0	11.8	14.5	8.7
OLIVA 36	2.7	10.6	14.9	19.8	29.7	19.1
OLIVA 37	3.0	42.2	28.2	11.2	9.5	5.0
OLIVA 38	2.5	14.6	13.4	25.7	32.6	9.5
OLIVA 39	4.0	25.4	18.9	14.3	24.8	10.7
OLIVA 40	5.1	13.9	11.2	20.1	28.8	17.9
OLIVA 41	5.9	35.1	20.9	11.6	14.9	10.1
OLIVA 42	4.5	37.0	17.6	13.0	15.0	12.0

Tabla III.18. CERAS (%) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	C46	CERAS	CERAS
		TOTALES (mg/Kg) (7 picos)	TOTALES (mg/Kg) según C.E.E. (4 picos)
OLIVA 1	2.2	108	62
OLIVA 2	3.0	329	235
OLIVA 3	3.1	93	54
OLIVA 4	3.5	200	95
OLIVA 5	1.7	146	52
OLIVA 6	2.6	162	64
OLIVA 7	0.3	153	68
OLIVA 8	5.7	146	88
OLIVA 9	0.8	242	92
OLIVA 10	1.7	159	64
OLIVA 11	0.9	89	39
OLIVA 12	1.9	93	39
OLIVA 13	0.4	94	35
OLIVA 14	1.5	165	79
OLIVA 15	1.6	94	39
OLIVA 16	3.0	85	49
OLIVA 17	0.2	147	45
OLIVA 18	1.1	91	42
OLIVA 19	5.8	65	29
OLIVA 20	0.2	110	39
OLIVA 21	2.2	89	42
OLIVA 22	1.0	284	94
OLIVA 23	0.1	665	74
OLIVA 24	1.4	258	92
OLIVA 25	3.3	114	66
OLIVA 26	4.0	81	41
OLIVA 27	3.9	69	58
OLIVA 28	0.9	190	60
OLIVA 29	0.7	175	64
OLIVA 30	3.5	117	71
OLIVA 31	1.0	122	45
OLIVA 32	4.6	251	197
OLIVA 33	2.1	120	48
OLIVA 34	0.7	565	101
OLIVA 35	1.2	153	56
OLIVA 36	3.2	88	63
OLIVA 37	1.0	336	90
OLIVA 38	1.6	109	76
OLIVA 39	1.9	99	51
OLIVA 40	2.9	46	32
OLIVA 41	1.4	189	72
OLIVA 42	0.9	79	32

El tratamiento estadístico viene reflejado en la tabla siguiente:

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.18.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
C34	42	4.7833	4.6500	1.20000	8.7000	3.40000	5.9000	2.50000	1.9214
C36	42	28.0095	29.7000	5.30000	50.5000	20.20000	35.8000	15.60000	10.6071
C38	42	20.3714	21.1000	8.30000	30.0000	17.60000	22.8000	5.20000	4.6565
C40	42	14.7452	14.0000	6.50000	27.7000	11.70000	17.2000	5.50000	4.6870
C42	42	19.9857	18.5500	3.70000	35.4000	15.00000	24.9000	9.90000	7.0004
C44	42	10.0952	8.9500	0.90000	22.3000	7.10000	13.2000	6.10000	4.7860
C46	42	2.0167	1.6500	0.10000	5.8000	0.90000	3.0000	2.10000	1.4358
CER. 7PICOS	42	165.9524	121.0000	46.00000	665.0000	93.00000	189.0000	96.00000	123.5965
CERAS CEE	42	67.4762	61.0000	29.00000	235.0000	42.00000	76.0000	34.00000	39.1752

GRÁFICOS “BOX AND WHISKER” PARA LAS CERAS DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA.

En primer lugar vemos los gráficos de “caja y bigote” de forma individualizada de cada una de las ceras para las dos clases de aceites (acebuchina y oliva).

GRÁFICO III.55.

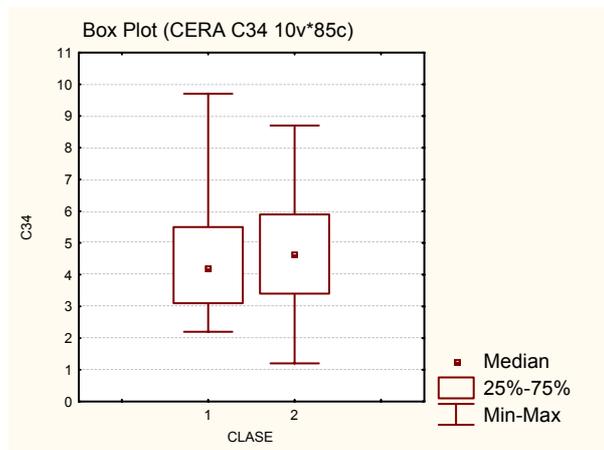


GRÁFICO III.56.

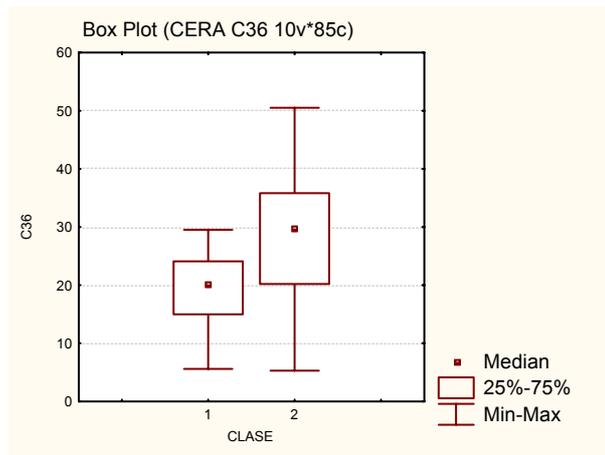


GRÁFICO III.57.

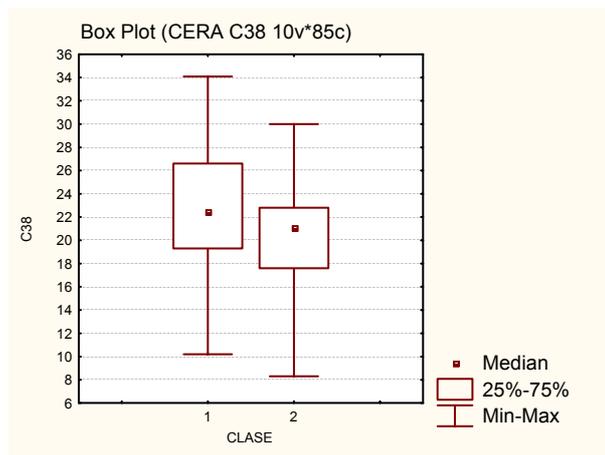


GRÁFICO III.58.

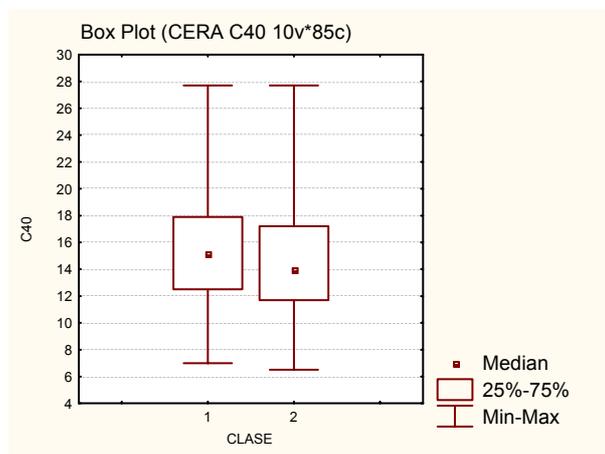


GRÁFICO III.59.

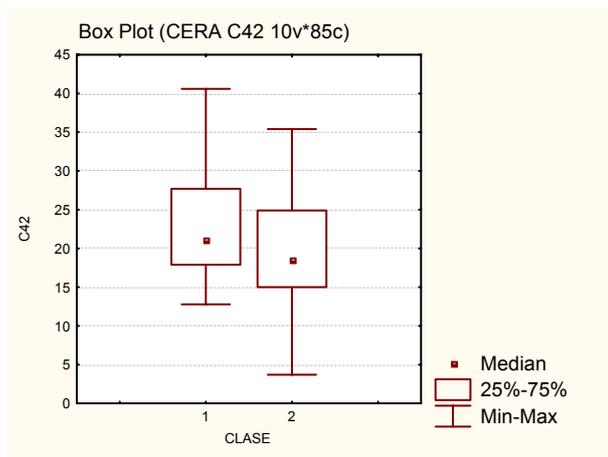


GRÁFICO III.60.

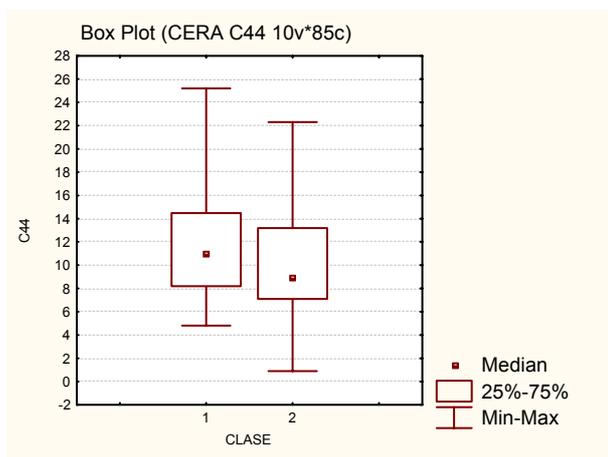
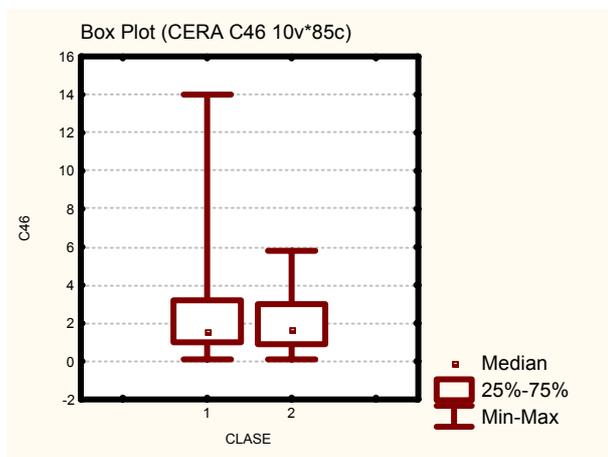
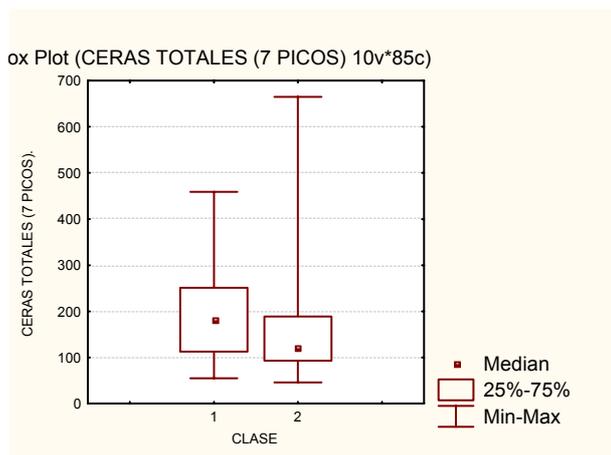


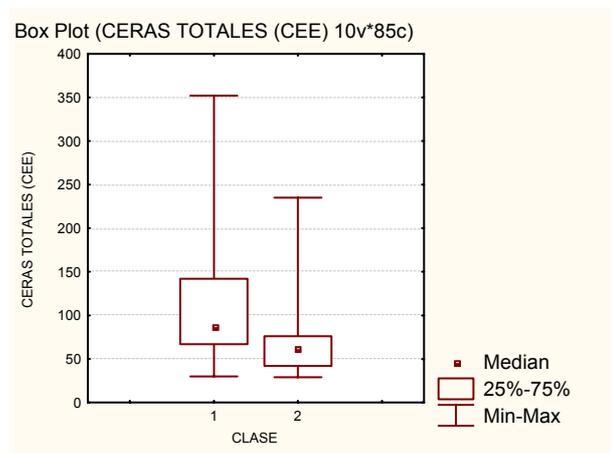
GRÁFICO III.61.



A continuación, el gráfico III.62 representa a la totalidad de las ceras en mg/Kg de todas las ceras que tienen número par de átomos de carbono, es decir, las siete ceras desde la C34 a la C46. Para ello se cuantifican con respecto al patrón interno de araquidato de laurilo. El gráfico resultante es el siguiente:

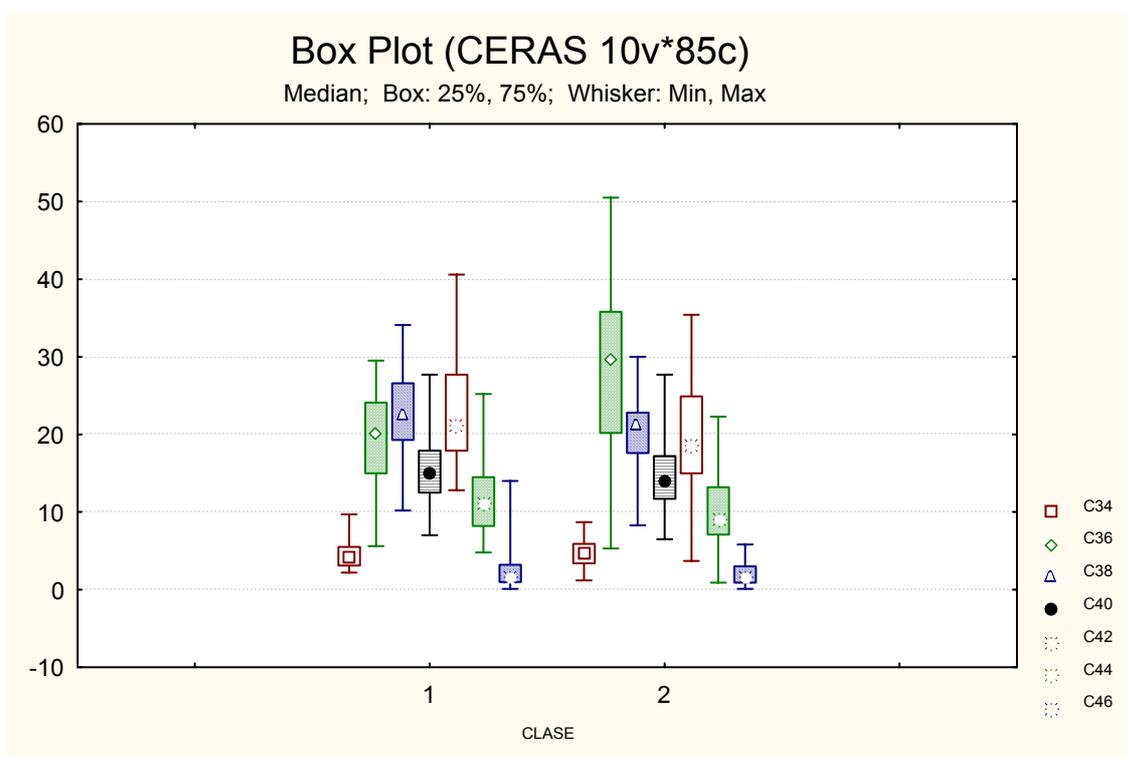
GRÁFICO III.62.

El gráfico III.63, representa a las ceras totales según el reglamento de la CEE 2568/91. Es decir, se cuantifica el contenido de ceras de los aceites mediante la integración en el gascromatograma de las cuatro ceras de número par de átomos de carbono, de la C40 a la C46, mediante el empleo del patrón interno de araquidato de laurilo.

GRÁFICO III.63.

El gráfico III.64 muestra el conjunto de todas las ceras (variables) de las dos clases (acebuchina y oliva). De esta forma se pueden apreciar mejor las diferencias entre ambas clases.

GRÁFICO III.64.



III.3.17. TOCOFEROLES DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

El análisis de los tocoferoles de las muestras de aceite de acebuchina virgen está recopilado en la tabla III.19. Los datos vienen expresados en mg/Kg que se obtiene a partir de patrones externos de los distintos tocoferoles.

Al igual que en todas las determinaciones de esta tesis, solo se tienen en cuenta las muestras que son vírgenes, desechándose las obtenidas con hexano como son: 10A, 15, 15A, 15B, 28B y 43. Las muestras 28B y 43 se han analizado por simple curiosidad, no dándoles valor. También se desestima la muestra envasada número 16.

Tabla III.19. TOCOFEROLES (mg/Kg) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	TOCOFEROLES				TOTALES(mg/Kg)
	α-tocoferol	β-tocoferol	γ-tocoferol	δ-tocoferol	
ACEBU 1	320.47	1.41	3.73	0.31	325.92
ACEBU 2	303.05	5.12	22.20	0.53	330.90
ACEBU2A					
ACEBU 3	197.03	0.34	0.90	0.40	198.67
ACEBU 4					
ACEBU 5	341.19	2.48	6.60	n. d.	350.27
ACEBU 6	327.23	0.66	1.74	0.03	329.66
ACEBU6A	482.70	1.00	2.72	0.45	486.87
ACEBU 7	374.14	11.02	89.02	2.78	476.96
ACEBU 8	201.60	8.17	10.20	0.12	220.09
ACEBU 9	403.19	5.82	25.23	0.90	435.14
ACEBU 10	356.73	5.53	15.06	0.62	377.94
ACEBU10A					
ACEBU 11	359.55	5.92	14.58	0.37	380.42
ACEBU 12	239.23	5.44	14.44	0.38	259.49
ACEBU 13	290.52	9.21	25.65	1.19	326.57
ACEBU 14	324.96	10.12	27.24	1.42	363.74
ACEBU 15					
ACEBU15A					
ACEBU15B					
ACEBU 16	146.57	3.92	7.62	0.18	158.29
ACEBU 17	517.64	5.88	19.23	0.06	542.81
ACEBU 18	400.00	3.99	8.82	0.06	412.87
ACEBU 19	348.38	6.71	23.53	0.33	378.95
ACEBU 20	479.61	5.23	14.70	0.06	499.60
ACEBU20A	311.01	5.35	10.60	0.49	327.45
ACEBU 21	321.83	5.70	19.63	0.29	347.45
ACEBU 22	475.37	7.26	13.80	0.96	497.39
ACEBU 23	379.31	4.76	23.26	2.17	409.50
ACEBU 24	566.05	5.17	84.76	3.30	659.28
ACEBU 25	531.12	7.20	28.22	0.25	566.79
ACEBU 26	449.34	8.99	23.10	0.07	481.50
ACEBU 27	534.93	8.81	14.07	0.44	558.25
ACEBU 28	559.12	7.23	46.29	2.07	614.71
ACEBU28A	493.60	6.24	29.84	0.55	530.23
ACEBU28B	354.43	6.43	29.83	0.99	391.68
ACEBU 29	517.17	6.84	55.24	3.91	583.16
ACEBU 30	332.78	11.42	7.30	0.21	351.71
ACEBU 31	311.80	21.27	20.00	0.37	353.44
ACEBU 32	548.22	17.96	19.75	1.27	587.20
ACEBU 33	540.09	9.31	12.75	0.36	562.51

Tabla III.19. TOCOFEROLES (mg/Kg) DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA.

MUESTRA	TOCOFEROLES				TOTALES(mg/Kg)
	α -tocoferol	β -tocoferol	γ -tocoferol	δ -tocoferol	
ACEBU 34	803.42	13.92	28.71	0.06	846.11
ACEBU 35	267.32	2.92	9.96	0.07	280.27
ACEBU 36	354.85	4.60	16.22	0.04	375.71
ACEBU 37	449.15	14.83	29.88	0.02	493.88
ACEBU 38	367.48	6.82	22.08	0.40	396.78
ACEBU 39	264.28	5.40	14.59	0.90	285.17
ACEBU 40	304.93	4.06	9.07	0.10	318.16
ACEBU 41	203.23	2.15	4.39	1.40	211.17
ACEBU 42	279.15	4.18	2.59	0.44	286.36
ACEBU 43	262.72	1.70	26.70	1.03	292.15

La tabla siguiente recoge el tratamiento estadístico descriptivo de la tabla III.19.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.19.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
Alfatocoferol	42	391.2564	358.1400	197.0300	803.4200	311.0100	482.7000	171.6900	124.2587
Betatocoferol	42	6.8200	5.8500	0.3400	21.2700	4.6000	8.8100	4.2100	4.3363
Gammatocof.	42	20.7545	15.6400	0.9000	89.0200	9.9600	25.2300	15.2700	18.6889
Deltatocoferol	42	0.7179	0.3900	0.0000	3.9100	0.1000	0.9000	0.8000	0.9095
TOC. TOTAL.	42	419.5488	379.6850	198.6700	846.1100	327.4500	499.6000	172.1500	134.8523

III.3.18. TOCOFEROLES DE LOS ACEITES DE OLIVA.

Los tocoferoles de las muestras de los aceites de oliva virgen se reflejan en la tabla III.20. Mediante patrones externos se cuantifican los distintos tocoferoles. Además se obtiene los tocoferoles totales a partir de la suma de todos ellos.

Tabla III.20. TOCOFEROLES (mg/Kg) DE LOS ACEITES DE OLIVA.

MUESTRA	TOCOFEROLES				TOTALES(mg/Kg)
	α-tocoferol	β-tocoferol	γ-tocoferol	δ-tocoferol	
OLIVA 1	79.67	0.87	5.78	0.36	86.68
OLIVA 2	30.98	3.07	4.36	1.20	39.61
OLIVA 3	126.80	1.50	10.47	0.78	139.55
OLIVA 4	105.54	3.31	8.55	0.31	117.71
OLIVA 5	136.34	1.15	8.13	0.25	145.87
OLIVA 6	89.65	12.00	n. d.	0.06	101.71
OLIVA 7	93.04	1.74	11.86	0.06	106.70
OLIVA 8	101.08	1.60	8.98	0.06	111.72
OLIVA 9	99.29	0.40	3.75	0.77	104.21
OLIVA 10	145.35	1.23	10.45	0.20	157.23
OLIVA 11	173.32	3.68	12.38	0.23	189.61
OLIVA 12	150.63	2.68	12.09	0.12	165.52
OLIVA 13	266.17	3.99	13.06	0.25	283.47
OLIVA 14	229.72	2.62	13.88	0.41	246.63
OLIVA 15	197.08	6.04	12.20	0.33	215.65
OLIVA 16	210.64	2.89	6.98	0.01	220.52
OLIVA 17	320.94	3.37	12.90	0.09	337.30
OLIVA 18	276.82	2.23	16.65	0.02	295.72
OLIVA 19	205.07	2.27	22.59	2.90	232.83
OLIVA 20	146.76	1.08	10.30	0.08	158.22
OLIVA 21	257.62	2.34	7.66	0.34	267.96
OLIVA 22	196.01	2.34	8.41	0.07	206.83
OLIVA 23	236.49	1.50	0.98	n. d.	238.97
OLIVA 24	170.57	1.95	10.91	0.06	183.49
OLIVA 25	117.40	1.54	6.98	0.08	126.00
OLIVA 26	181.58	3.05	7.21	0.02	191.86
OLIVA 27	148.15	3.44	14.05	0.40	166.04
OLIVA 28	209.67	6.74	12.81	n. d.	229.22
OLIVA 29	187.69	3.23	3.65	n. d.	194.57
OLIVA 30	241.26	3.49	12.15	n. d.	256.90
OLIVA 31	126.97	1.23	5.56	0.27	134.03
OLIVA 32	68.49	1.21	2.00	0.75	72.45
OLIVA 33	280.16	3.03	14.07	0.76	298.02
OLIVA 34	267.89	1.98	5.62	0.12	275.61
OLIVA 35	223.78	2.65	14.30	0.44	241.17
OLIVA 36	167.09	3.34	16.97	0.67	188.07
OLIVA 37	115.14	0.60	8.37	0.32	124.43
OLIVA 38	237.37	2.68	10.81	0.19	251.05
OLIVA 39	233.38	2.17	10.69	0.34	246.58
OLIVA 40	163.51	1.47	10.57	n. d.	175.55
OLIVA 41	222.19	2.20	5.04	n. d.	229.43
OLIVA 42	171.45	1.59	3.17	0.20	176.41

Las muestras de oliva virgen se someten a un tratamiento estadístico descriptivo que viene recogido en la tabla siguiente:

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA TABLA III.20.

	Muestras N	Media	Mediana	Mínimo	Máximo	1 ^{er} cuartil	3 ^{er} cuartil	Distancia cuartil	Std.Dev.
Alfa-tocoferol	42	176.3988	172.3850	30.98000	320.9400	126.8000	229.7200	102.9200	66.52205
Beta-tocoferol	42	2.6545	2.3050	0.40000	12.0000	1.5000	3.2300	1.7300	1.94810
Gamma-tocof.	42	9.4605	10.3750	0.00000	22.5900	5.7800	12.3800	6.6000	4.64563
Delta-tocoferol	42	0.3219	0.2000	0.00000	2.9000	0.0600	0.3600	0.3000	0.49176
TOC. TOTAL.	42	188.8357	188.8400	39.61000	337.3000	134.0300	241.1700	107.1400	68.67313

Si observamos la tabla III.19 (tocoferoles acebuchina) y la tabla III.20 (tocoferoles oliva), vemos que prácticamente el contenido de los tocoferoles de los aceites de acebuchina es el doble al de los de los aceites de oliva. Por lo tanto, hemos de decir que el contenido alto de tocoferoles es significativo en los aceites de acebuchina vírgenes con respecto a los aceites de oliva vírgenes. Vemos que en los aceites de acebuchina los tocoferoles totales oscilan entre 200 ppm y 850 ppm, siendo el valor medio de 420 ppm. Mientras que los aceites de oliva oscilan entre 40 ppm y 340 ppm, teniendo un valor medio de 190 ppm.

GRÁFICOS “BOX AND WHISKER” PARA LOS TOCOFEROLES DE LOS ACEITES DE ACEBUCHINA Y DE OLIVA.

A continuación vemos los gráficos de “caja y bigote” de los distintos tocoferoles de los aceites de acebuchina y de los aceites de oliva (clase 1 y 2).

GRÁFICO III.65.

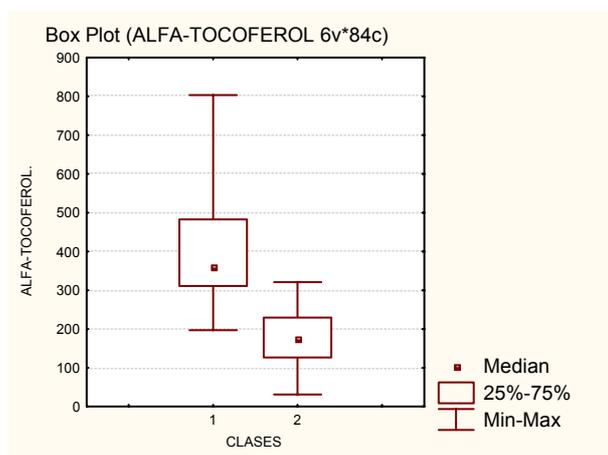


GRÁFICO III.66.

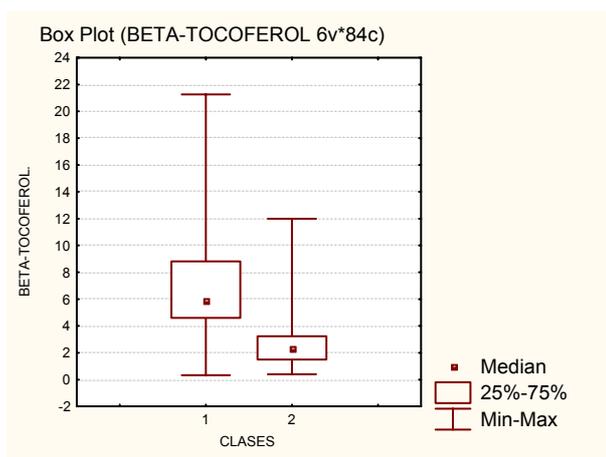


GRÁFICO III.67.

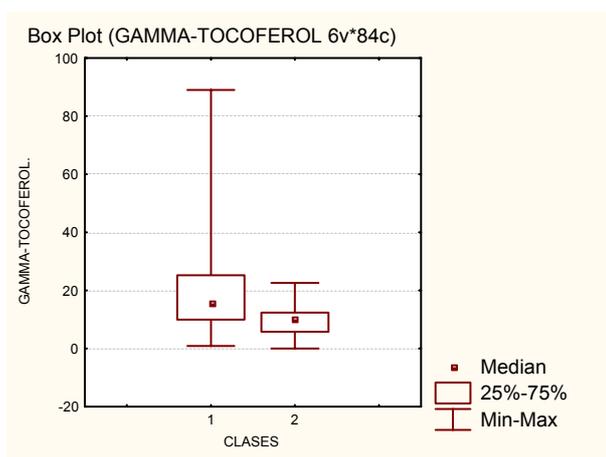
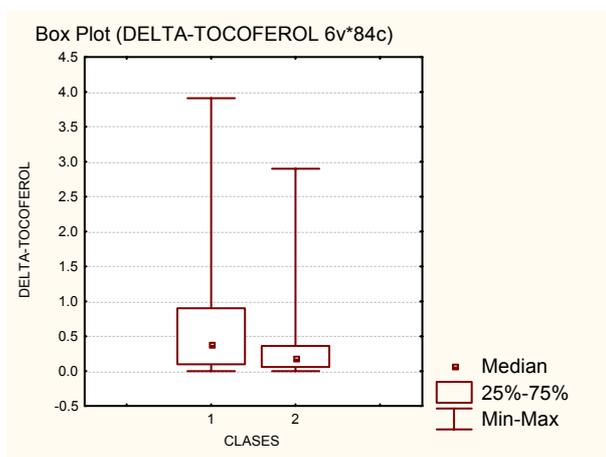
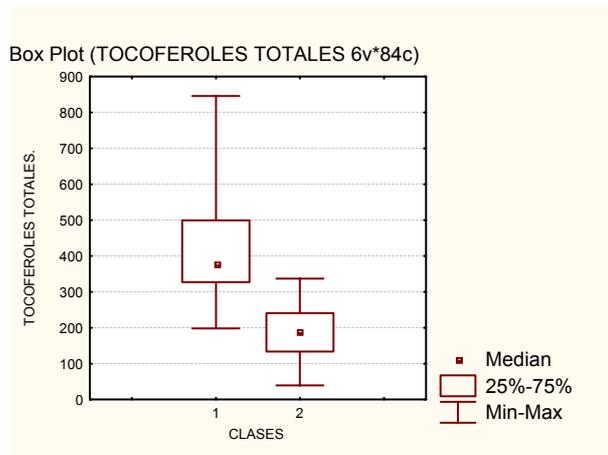


GRÁFICO III.68.



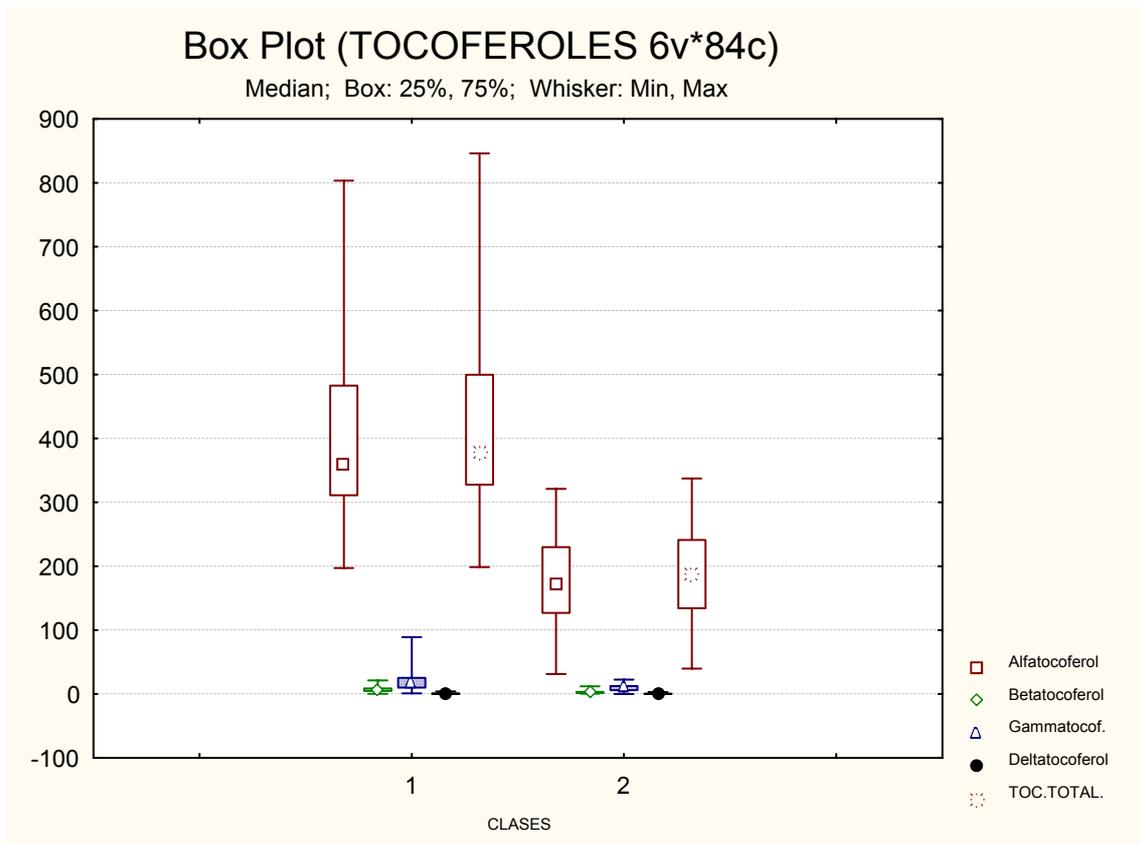
El gráfico III.69 representa a los tocoferoles totales de las clases 1 y 2.

GRÁFICO III.69.



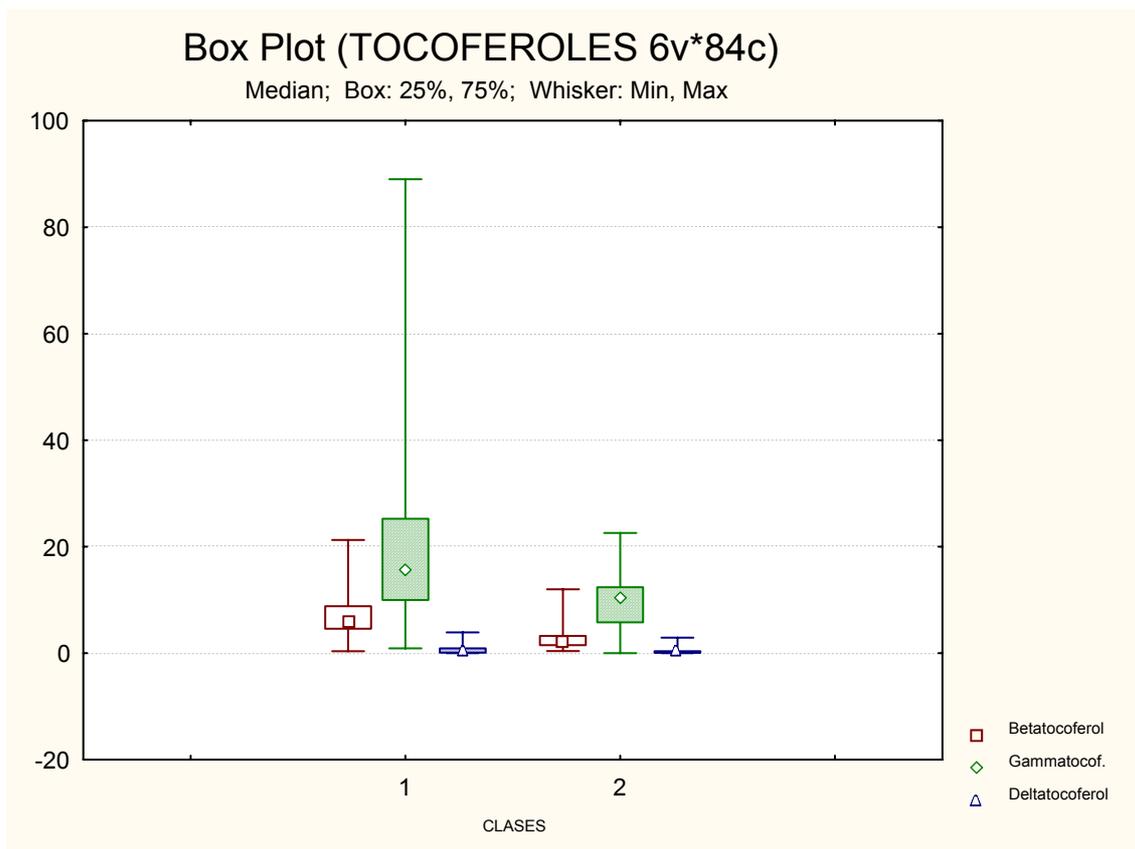
En el gráfico III.70 se representan en conjunto a todos los tocoferoles incluido los tocoferoles totales.

GRÁFICO III.70.



Para tener una mejor visualización de cada uno de los tocoferoles de menor cuantía de manera conjunta, eliminamos el α -tocoferol, que es mayoritario, y los tocoferoles totales resultando el gráfico III.71.

GRÁFICO III.71.



III.4. DISCUSIÓN SOBRE LA CAPACIDAD DIFERENCIADORA DE LOS DISTINTOS PARÁMETROS.

Una vez obtenidos los resultados, y dado el gran número de variables y perfiles estudiados, es necesario establecer criterios de selección de los descriptores óptimos para llevar a cabo el estudio de la separación y discriminación de los aceites de oliva y acebuchina. Comenzaremos estableciendo ensayos univariantes clásicos, donde se le da

a cada variable un peso en función de su capacidad para discriminar entre elementos de las dos clases. De cualquier forma, y dado que todos los descriptores correspondientes a un perfil analítico se obtienen en el mismo análisis, es más conveniente escrutinizar por perfiles mejor que por variables. Así emplearemos procedimientos multivariantes sencillos para preseleccionar los perfiles más discriminantes que luego estudiaremos con mayor profundidad aplicando técnicas basadas en algoritmos neuronales artificiales.

Los procedimientos univariantes de ponderación de variables se basan fundamentalmente en la "habilidad" de una variable para diferenciar entre las muestras de una y otra clase. Esta capacidad es directamente proporcional a la diferencia entre los valores promedio de la variable en cada clase (diferencia entre medias ó medianas) e inversamente proporcional a la dispersión general observada (a menudo se toma la suma de las varianzas o de las desviaciones estándar encontradas en cada clase). Una de las ponderaciones más sencillas es la propuesta por Coomans y colaboradores (1978), en la que se define el factor de ponderación g_i correspondiente a la variable i según la expresión:

$$g_i = \frac{|\bar{x}_i^{(1)} - \bar{x}_i^{(2)}|}{S_i^{(1)} + S_i^{(2)}} \quad \text{(III.1)}$$

Donde $\bar{x}_i^{(k)}$ hace referencia a la media de los valores de la variable i para la clase k (1 o 2) y $S_i^{(k)}$ es la correspondiente desviación estándar. En las tablas III.21 a III.29 se muestran las ponderaciones asignadas a las diversas variables por perfil.

PARÁMETROS	PONDERACIÓN DE COOMANS (g _i)
Acidez	0.22
Índice de peróxidos	0.27
Rancimat (100°C)	0.17
AOM (97.8°C)	0.17
K232	0.36
K266	0.19
K270	0.17
K274	0.17
Δk	0.13

Tabla III.21. Ponderación de Coomans de los parámetros de calidad (tablas III.3 y III.4).

PARÁMETROS	PONDERACIÓN DE COOMANS (g _i)
Unidades amarillas	0.49
Unidades rojas	0.18
Unidades azules	0.44

Tabla III.22. Ponderación de Coomans de la medida del color (tablas III.5 y III.6).

PARÁMETROS	PONDERACIÓN DE COOMANS (g _i)
Ácido mirístico	0.27
Ácido palmítico	0.66
Ácido palmitoleico	0.88
Ácido margárico	0.48
Ácido margaroleico	0.44
Ácido esteárico	0.78
Ácido oleico	0.53
Ácido linoleico	0.19
Ácido linolénico	0.46
Ácido aráquico	0.33
Ácido gadoleico	0.77
Ácido behénico	0.39
Ácido lignocérico	0.19
Ácido trans-oleico	0.03
Ácidos trans-(linoleico + linolénico)	0.24

Tabla III.23. Ponderación de Coomans de los ácidos grasos (tablas III.7 y III.8).

PARÁMETROS	PONDERACIÓN DE COOMANS (g _i)
LLL	0.37
LLnO	0.17
PLnO	0.27
OLL + PoOL	0.38
PLL + LnOO	0.60
POLn	0.23
OLO + PoOO	0.10
PLO + SLL	0.51
PPL	0.47
OOO	0.52
POO + SOL	0.18
POP + PLS	0.66
1)	0.24
2)	0.85
3)	0.22

Tabla III.24. Ponderación de Coomans de los triglicéridos (tablas III.9 y III.10).

PARÁMETROS	PONDERACIÓN DE COOMANS (g _i)
Colesterol	0.18
24-metilcolesterol	0.23
Campesterol	0.66
Campestanol	0.65
Estigmasterol	0.61
Δ -7-campesterol	0.16
Clerosterol	0.65
β -sitosterol	0.43
Sitostanol	1.06
Δ -5-avenasterol	0.19
Δ -5-24-estigmasterol	0.25
Δ -7-estigmastenol	0.25
Δ -7-avenasterol	0.37
β -sitosterol aparente	0.87
Esteroles totales	0.58

Tabla III.25. Ponderación de Coomans de los esteroides (tablas III.11 y III.12).

PARÁMETROS	PONDERACIÓN DE COOMANS (g _i)
Eritrodiol + uvaol	0.25

Tabla III.26. Ponderación de Coomans del eritrodiol más el uvaol (tablas III.13 y III.14).

PARÁMETROS	PONDERACIÓN DE COOMANS (g _i)
Monocosanol	0.17
Dicosanol	0.21
Tricosanol	0.20
Tetracosanol	0.04
Pentacosanol	0.24
Hexacosanol	0.62
Heptacosanol	0.69
Octacosanol	0.67
Alcoholes totales	0.82
Alcoholes CEE	0.80

Tabla III.27. Ponderación de Coomans de los alcoholes alifáticos (tablas III.15 y III.16).

PARÁMETROS	PONDERACIÓN DE COOMANS (g _i)
C34	0.11
C36	0.49
C38	0.22
C40	0.12
C42	0.23
C44	0.18
C46	0.10
CERAS 7 picos	0.14
CERAS CEE	0.37

Tabla III.28. Ponderación de Coomans de las ceras (tablas III.17 y III.18).

PARÁMETROS	PONDERACIÓN DE COOMANS (g _i)
α -tocoferol	1.13
β -tocoferol	0.66
γ -tocoferol	0.48
δ -tocoferol	0.28
Tocoferoles totales	1.14

Tabla III.29. Ponderación de Coomans de los tocoferoles (tablas III.19 y III.20).

Así observamos que las variables más discriminantes corresponden a los perfiles de ácidos grasos (palmitoleico), esteroides (sitostanol) y tocoferoles (α -tocoferol).

Para efectuar un escrutinio más profundo y general a nivel de perfiles, se ha aplicado el método de reconocimiento de patrones supervisado de Análisis Discriminante Lineal que se explicará sucintamente en el capítulo siguiente con el objetivo de pre-seleccionar los perfiles más diferenciadores basándonos en el porcentaje de muestras bien clasificadas (usando el conjunto completo de datos, sin dividir en un conjunto de entrenamiento y de evaluación, como se verá en el próximo capítulo). De este modo se obtienen los resultados indicados en la tabla III.30, que vuelven a indicarnos que los tres perfiles más diferenciadores son los correspondientes a los ácidos grasos, los esteroides y tocoferoles.

GRUPOS DE PARÁMETROS	% ÉXITO
Ácidos grasos	97.65
Triglicéridos	91.76
Ceras	87.06
Alcoholes alifáticos	90.59
Esteroides	97.65
Tocoferoles	92.86

Tabla III.30. Porcentajes de éxito de discriminación por grupos de parámetros de los aceites de acebuchina y de oliva.

Por lo tanto, serán estos tres perfiles los que se utilicen para un estudio más profundo de la discriminación entre muestras de aceites de oliva y acebuchina, en el siguiente capítulo.

Al realizar el análisis discriminante con el programa STATISTICA entre las dos clases, hay algunas muestras cuya clasificación no está bien definida, pudiendo estar en una clase u otra. Así hay muestras de acebuchina que tienen connotaciones de oliva en el análisis de determinados parámetros pero no en todos y por tanto, no se puede decir con rotundidad de que se traten de “olivos asilvestrados”. Esto ocurre en la muestra ACEBU 3 (Zahara de la Sierra) que por los parámetros de los ácidos grasos, tocoferoles

y alcoholes lo catalogan como olivo (pudiendo ser entonces un olivo asilvestrado), pero por el resto de parámetros lo sigue clasificando, el programa estadístico, como acebuche. Otras muestras que también les ocurre lo mismo, aunque en menor cuantía de acierto o de éxito, son: ACEBU 8 (El Bosque) (por los triglicéridos y los tocoferoles), ACEBU 35 (Castellar Viejo) (por los alcoholes y los tocoferoles), ACEBU 41 (Puebla de los Infantes) (por los esteroides y los tocoferoles).

Aplicando, con el programa STATISTICA, un análisis discriminante lineal a la muestra ACEBU 16, que supuestamente se comercializa envasada como aceite de acebuchina, se obtiene como resultado que ésta muestra se podría clasificar como aceite de oliva. Esto se demuestra claramente por los perfiles de tocoferoles, esteroides, triglicéridos y alcoholes, que dan un porcentaje de probabilidad alto de que pertenezca esta muestra a la clase 2 (oliva). Sin embargo, los perfiles de ácidos grasos y de ceras indican con una probabilidad del 50 % de que pueda pertenecer a la clase de acebuchina o a la de oliva.

CAPÍTULO IV.-

**ESTUDIO DE LA DIFERENCIACIÓN ENTRE
EL ACEITE DE OLIVA Y EL DE ACEBUCHINA.**

IV.1. MÉTODOS DE CLASIFICACIÓN Y DISCRIMINACIÓN BASADOS EN ALGORITMOS NEURONALES ARTIFICIALES.

El empleo de procedimientos quimiométricos en conjuntos de datos multivariantes que se obtienen en análisis químico es algo habitual cuando se requiere cubrir alguno de los aspectos correspondientes a la exploración y visualización de los datos, al agrupamiento, clasificación y predicción de la categoría de las muestras o especímenes o a la predicción de variables externas que son funciones de los descriptores del sistema. En el caso de esta memoria, la aplicación de los métodos quimiométricos pretenden establecer la separación de las muestras de aceite de acebuchina y las de aceite de oliva, admitiendo que se tratan de dos subespecies diferentes del género *Olea*.

Dentro del campo del análisis y la composición de los alimentos, podemos subrayar cuatro factores básicos a considerar desde el punto de vista de la discriminación de categorías (Page, 1986). El primero, habida cuenta de la creciente aplicación de la ingeniería genética a los alimentos procedentes del mundo animal y

vegetal, es el *control genético*. El segundo factor es el *componente ambiental*, que incluye al suelo, clima y organismos simbióticos ó parásitos. El tercer factor es el *componente agronómico*, resultado de las prácticas utilizadas en la producción del alimento: cultivo, riego, fertilizantes y abonos, piensos y medicamentos, pesticidas y prácticas de recolección. El cuarto factor es el *procesamiento*, que incluye las manipulaciones realizadas después de la cosecha tales como la preservación, agregado de aditivos y conversiones a otras formas alimentarias y productos terminados. Estos cuatro factores pueden considerarse en la terminología del análisis multivariante como las causas directrices de la composición de los alimentos. No obstante, aún cuando tales factores son fehacientemente trazables y definibles, frecuentemente resulta difícil inferirlos de los datos de composición de los alimentos, pues ésta no sólo es multivariante, sino que además puede ser no lineal con respecto a estos factores.

La composición de los alimentos puede definirse cualitativa y cuantitativamente mediante medidas físicas y químicas, y como la mayoría de los alimentos son mezclas complejas de muchos componentes a menudo desconocidos y variables, la caracterización de un alimento requiere muchas medidas, en el caso que nos ocupa, diferentes perfiles cromatográficos.

Como ya hemos indicado el objetivo de utilizar métodos quimiométricos de análisis multivariantes es estudiar si existe una separación clara entre las muestras correspondientes a las clases ó categorías de aceite de acebuchina y aceite de oliva. En análisis multivariante, las muestras se refieren como *objetos* o *patrones*, traducción de los términos anglosajones *object* y *pattern*. De aquí en adelante, acompañaremos algunos términos acuñados en castellano con sus homólogos anglosajones dada su importancia en la bibliografía internacional. Estos patrones vienen descritos por una serie de variables llamadas *descriptores* o *características* (descriptors, features), que son parámetros físicos ó químicos que los caracterizan. A partir de la diferenciación de los valores de estos descriptores podemos estudiar la separación entre clases de muestras. A un conjunto de patrones que presentan valores similares de sus descriptores se le conoce como *categoría* o *clase* (class). La idea básica de los métodos de clasificación consiste en el establecimiento de fronteras entre las clases de patrones mediante una *regla de clasificación*. Los métodos de clasificación mediante *aprendizaje supervisado* (supervised learning) suponen que disponemos de un *conjunto conocido*

(known set) de patrones cuya categoría (pertenencia a una clase determinada) está establecida. La finalidad del aprendizaje supervisado es encontrar la regla de clasificación en función de los valores de los descriptores de las muestras para predecir las clases a las que pueden pertenecer muestras desconocidas. Al desarrollo de la regla de clasificación se le conoce como *entrenamiento* (training). Durante tal desarrollo, se emplean dos subconjuntos del conjunto conocido: el *conjunto de entrenamiento* (training set) y el *conjunto de evaluación* (evaluation/test set). La regla de clasificación se elabora con el conjunto de entrenamiento y se comprueban sus predicciones con el conjunto de evaluación (Defernez & Kemsley, 1997). En esto consiste la *validación* (validation) de la regla de clasificación. Para obtener estos dos conjuntos, el conjunto conocido se divide aleatoriamente en dos, que contengan alrededor de P% y 100-P% de las muestras de cada clase considerada. Una vez desarrollada la regla, se considera la *eficacia en el reconocimiento* (recalling efficacy) como el porcentaje de patrones del conjunto de entrenamiento correctamente clasificados, y especialmente, la *eficacia en la predicción* (prediction ability) correspondiente al porcentaje de patrones del conjunto de evaluación correctamente clasificados. Un procedimiento alternativo es el método consistente en *dejar uno fuera* (leave-one-out): Del conjunto conocido se separa una muestra, que constituirá el conjunto de evaluación, y las restantes muestras conformarán el conjunto de entrenamiento. Con éstos se desarrollará la regla de clasificación, que se aplicará a aquél, prediciendo la clase de la muestra separada. Como medida de la capacidad predictiva de la regla se toma el porcentaje de éxito en la predicción una vez que todas las muestras han sido procesadas.

Sin embargo, estos índices empleados para validar la capacidad predictiva de la regla de clasificación pueden ser engañosos al no considerar el número de falsos positivos y falsos negativos de una clase determinada frente al “resto del universo”. Es por lo tanto más recomendable emplear términos como los de *sensibilidad* (sensitivity) y *especificidad* (specificity) (González-Arjona, López-Pérez & González, 1999; ídem, 2001). Podemos definir dentro de cada clase la sensibilidad (SENS) como la tasa de muestras de una clase determinada del conjunto de evaluación que han sido clasificadas correctamente y la especificidad (ESPEC) como la tasa de muestras de evaluación que no pertenecen a una clase determinada y que han sido correctamente asignadas a las otras clases. Consideremos una clase llamada A. Designemos por n_A al número de

muestras del conjunto de evaluación que *a priori* sabemos que constituyen la clase A. Las muestras que no son de la clase A serán $\bar{n}_A = n - n_A$, siendo n el número total de muestras del conjunto de evaluación. Llamemos $\langle n_A \rangle$ al número de muestras del conjunto de evaluación de la clase A que han sido clasificadas como pertenecientes a la clase A y $\langle \bar{n}_A \rangle$ al número de muestras del conjunto de evaluación que no son de la clase A y que han sido clasificadas como “no-A”. De este modo podemos definir operativamente los términos SENS y ESPEC:

$$\text{SENS} = \frac{\langle n_A \rangle}{n_A} \quad (\text{IV.1})$$

$$\text{ESPEC} = \frac{\langle \bar{n}_A \rangle}{\bar{n}_A}$$

Podemos operar del mismo modo con parámetros derivados de los falsos positivos y negativos (Yang, Lu, Harrison, Eftestøl & Steen, 2005). Tomaremos como *verdaderos positivos* (true positive) $\text{TP} = \langle n_A \rangle$, *falsos positivos* (false positive) $\text{FP} = \bar{n}_A - \langle \bar{n}_A \rangle$, *verdaderos negativos* (true negative) $\text{TN} = \langle \bar{n}_A \rangle$ y *falsos negativos* (false negative) $\text{FN} = n_A - \langle n_A \rangle$. De este modo obtenemos que $\text{TP} + \text{FN} = n_A$ y $\text{TN} + \text{FP} = \bar{n}_A$, y por lo tanto:

$$\text{SENS} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FN}} \quad (\text{IV.2})$$

$$\text{ESPEC} = \frac{\text{TN}}{\text{TN} + \text{FP}}$$

Con tales parámetros se construye también la *matriz de confusión* (confusion matrix) para la clase A, expresada como:

$$M_C = \begin{bmatrix} \text{TN} & \text{FP} \\ \text{FN} & \text{TP} \end{bmatrix} \quad (\text{IV.3})$$

(Hajmeer & Basheer, 2002).

La validación de la regla de clasificación permite evitar los problemas derivados de fallos en el proceso de generalización durante el entrenamiento, conocidos como *sobre-entrenamiento* (overtraining/overfitting) en los que se aprenden peculiaridades del conjunto de entrenamiento que conducen a fallos de reconocimiento en el conjunto de evaluación como mencionaremos con más profundidad más adelante.

Existe un nutrido elenco de métodos de clasificación por aprendizaje supervisado, que pueden clasificarse atendiendo a varios paradigmas. Uno de ellos es el de métodos de clasificación duros o discriminativos y blandos o de clases modeladas (González-Arjona & González, 1998). Se llaman técnicas discriminativas a las que clasifican las muestras en una serie de clases predefinidas en el conjunto de entrenamiento; esto es, un objeto o muestra futura necesariamente habrá de clasificarse en una de las clases ya establecidas. Un procedimiento discriminativo típico es el *Análisis Discriminante Lineal* (LDA, Linear Discriminant Análisis) (Fisher, 1936), pero hay muchos más, la mayoría. Las técnicas basadas en el modelado de clases construyen fronteras no entre cada pareja de clases, sino entre cada clase y el resto del universo. La regla de decisión para una clase determinada es una caja multidimensional que envuelve a las muestras de dicha categoría en el espacio de los patrones, de manera que en este caso hay tres modos de clasificación:

- Un objeto se asigna a una clase si está situado dentro de los límites de una caja
- Un objeto puede situarse dentro de la región de solapamiento de más de una caja, con lo cual será un objeto multiclásico
- Un objeto puede situarse más allá de los límites de cualquier caja, con lo cual es un objeto aclásico, “anómalo”, un *outlier*.

Estas posibilidades se ilustran claramente en la siguiente figura, donde se observan dos cajas tridimensionales correspondientes a las clases 1 y 2, que contienen las muestras de entrenamiento con etiquetas “1” y “2” respectivamente, así como cuatro muestras de evaluación A, B, C y D.

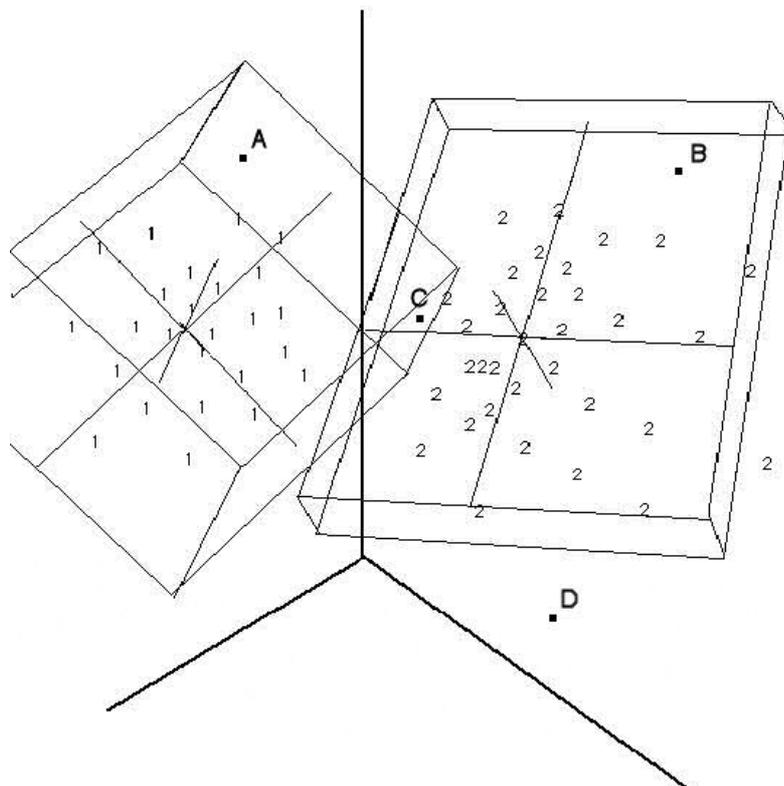


Figura IV.1. Cajas tridimensionales correspondientes a la clases 1 y 2.

El objeto A se asigna a la clase 1 y el B a la clase 2 porque se encuentran dentro de sus correspondientes cajas. El objeto C se asigna a ambas clases porque está ubicado en la zona en la que se superponen las dos cajas. El objeto D es atípico, no pertenece a la clase 1 ni a la clase 2.

El método más conocido de clasificación con modelado de clases es SIMCA, acrónimo de Soft Independent Modeling of Class Analogy o Statistical Isolinear by Independent Multicategory Analysis, desarrollado por Svante Wold a finales de los setenta (Wold, 1976; Wold & Sjöström, 1997), pero existen otros, como UNEQ y PRIMA (Derde & Massart, 1988).

El segundo paradigma hace referencia a técnicas de clasificación paramétricas y no paramétricas. En los métodos paramétricos se utilizan estadísticos para el establecimiento de la regla de clasificación que admiten la distribución normal de las muestras en las clases. Métodos como LDA y SIMCA son paramétricos. Otros como el

de los K vecinos más próximos (KNN, K Nearest Neighbours), desarrollado en los años 50 por Fix y Hodges (1951) y en general los algoritmos neuronales artificiales son no paramétricos.

El tercer paradigma corresponde a la naturaleza lineal o no lineal de las fronteras de las clases. LDA y SIMCA, de nuevo, son métodos que consideran una separación lineal bien entre clase y clase o bien entre una clase y el resto del universo. Existen muchos registros, dentro del análisis de alimentos, especialmente vinculados a la separación de variedades y especies similares, así como en la influencia del origen geográfico, en los que se observa un comportamiento claramente no lineal de las fronteras de separación, como sucede en casos bien tipificados, como el de la discriminación de las variedades de lirios *Setosa*, *Versicolor* y *Virginica* y en la diferenciación de aceites de oliva producidos en distintas regiones italianas referidos por Hopke y Massart como conjuntos de datos de referencia para el contraste de métodos quimiométricos (Hopke & Massart, 1993).

Es, fundamentalmente por estos dos últimos paradigmas que nos hemos decidido a utilizar las técnicas basadas en algoritmos neuronales artificiales para estudiar la separación entre las clases correspondientes al aceite de acebuchina y al aceite de oliva, a partir de los resultados de los perfiles cromatográficos ya referidos en el capítulo anterior.

IV.2. REDES NEURONALES ARTIFICIALES.

Las redes neuronales artificiales son procedimientos matemáticos que trabajan, tal y como indica su nombre mimetizando el funcionamiento del cerebro humano. El funcionamiento de estos procedimientos radica en cómo están interconectadas las neuronas artificiales, es decir, la *arquitectura de la red*. La gran diferencia del empleo de las redes neuronales en relación con otras aplicaciones de la computación radica en que no son algorítmicas, esto es no se programan haciéndoles seguir una secuencia predefinida de instrucciones. Ellas mismas generan sus propias "reglas", para asociar la respuesta a su entrada; es decir, aprenden por ejemplos y de sus propios errores. Las redes neuronales artificiales han sido objeto de gran número de aplicaciones, básicamente centradas en el reconocimiento de imágenes. Dentro del campo químico

hoy día son numerosísimos los artículos publicados en el Chemical Abstract que emplean las redes neuronales para la resolución de problemas (control de procesos, optimización, clasificación, elucidación de estructuras, QSAR...). Dentro de la extensa nombradía de textos relativos a las redes neuronales en quimiometría, cabría subrayar por su carácter formativo las aportaciones excepcionales de Bishop (1995) y Zupan y Gasteiger (1993).

Volviendo a nuestro objeto material, una red neuronal puede considerarse como una caja negra que acepta una serie de datos de entrada y proporciona uno o más datos de salida, tal como se muestra a continuación:

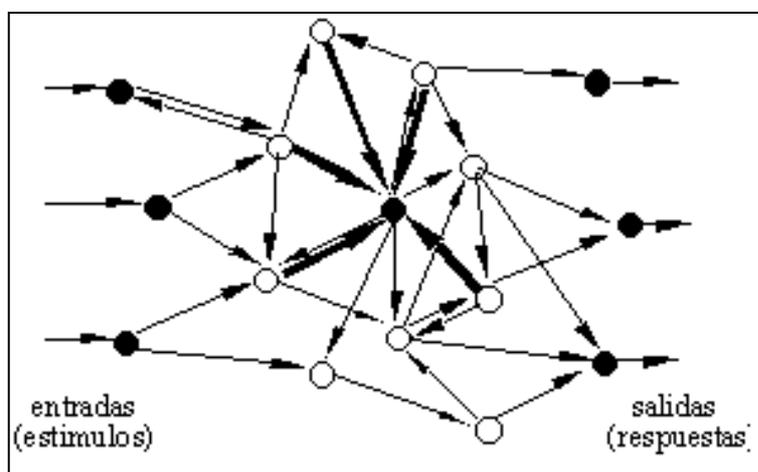


Figura IV.2. Red neuronal.

En el interior de la caja existen unidades básicas conectadas unas con otras llamadas *neuronas*. Las entradas pasan a través de estas conexiones que son las líneas de la red transformándose y distribuyéndose en cada una de estas neuronas de forma que producen una o varias salidas. Las redes neuronales artificiales como ya hemos dicho, son modelos matemáticos con una similitud muy superficial a las redes neuronales biológicas. El sistema nervioso humano consta de unos 10000 millones de neuronas. Una neurona biológica consta de ramificaciones llamadas *dendritas*, un cuerpo o *soma* y una ramificación más alargada llamada *axón*. Las dendritas reciben la información en forma de impulsos nerviosos y la transmiten al axón, y de ahí a la siguiente neurona. Las *sinapsis* son posiciones situadas en las dendritas y en el axón donde se realiza la transmisión de información. La señal producida por la neurona y transportada por el

axón es eléctrica, mientras que la señal que se transmite en los terminales axónicos de una neurona y las dendritas de la siguiente es de origen químico. Esta transmisión se lleva a cabo con el concurso de sustancias químicas llamadas *neurotransmisores*, los cuales modulan la información y fluyen a través de la sinapsis transmitiendo el impulso nervioso hacia las dendritas de otras neuronas (Hilera & Martínez, 1995).

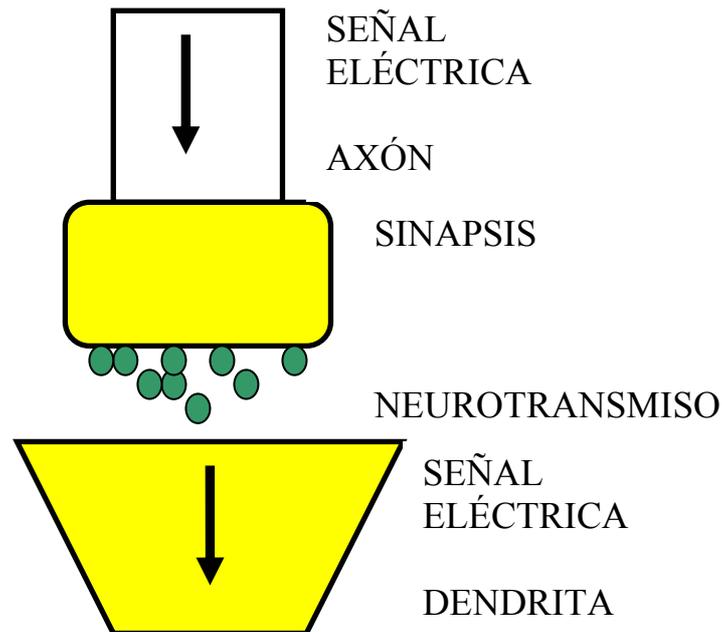


Figura IV.3. Neurona.

El paso de información de una neurona a otra se realiza de forma unidireccional dendrita-axón-dendrita. La sinapsis implica la acción de los neurotransmisores modificando la señal que se transmite. En neurobiología, a esta modulación se le denomina *fuerza sináptica*.

En el caso de las neuronas artificiales, la fuerza sináptica se denomina *peso* (weight) w . Según el signo de w la sinapsis es excitadora ($w > 0$) ó inhibitoria ($w < 0$). En la figura siguiente se considera una neurona artificial con su sinapsis de entrada y salida:

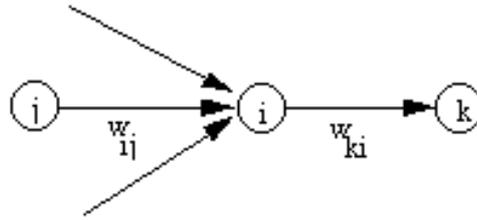


Figura IV.4. Neurona artificial.

El peso w_{ij} es la fuerza sináptica de la neurona j sobre la i y w_{ki} la de la neurona i sobre la k . Es generalmente admitido que las sinapsis pueden ser modificadas por la experiencia, es decir, por aprendizaje. Para su análisis, es conveniente considerar una sola neurona con sus sinapsis. Esta unidad es llamada neurona de McCulloch-Pitts, y constituye la base de las redes neuronales. La fuerza sináptica determina la cantidad de señal que entra en el cuerpo de una neurona a través de las dendritas. Los cambios en la fuerza sináptica constituyen un mecanismo esencial para el correcto funcionamiento del proceso de aprendizaje, que no es más que un cierto número de cambios en los valores de los pesos. Por tanto, si designamos la señal de entrada como s_i ($i = 1, \dots, m$), que actúa sobre los pesos w_i , la señal de entrada global o neta (Net) va a ser la suma de los productos $w_i s_i$. Esta idea se representa en el esquema siguiente:

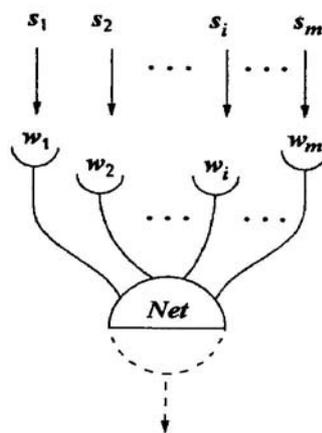


Figura. IV.5. Cálculo de la señal de entrada global a una neurona artificial.

$$\text{Net} = \sum_{i=1}^m w_i s_i \quad (\text{IV.4})$$

Es conveniente expresar las relaciones de manera vectorial. Así tomando \mathbf{X} como el vector de componentes $\{x_1=s_1, x_2=s_2, \dots, x_m=s_m\}$ y \mathbf{W} como el vector de pesos $\{w_1, w_2, \dots, w_m\}$, podemos poner:

$$\text{Net} = \mathbf{W}\mathbf{X} \quad (\text{IV.5})$$

Generalmente se le añade un término independiente para mejorar el modelado, llamado *offset* o *bias*, θ , que conduce a

$$\text{Net} = \mathbf{W}\mathbf{X} + \theta \quad (\text{IV.6})$$

Todo proceso de aprendizaje implica el cálculo del vector \mathbf{W} óptimo para conseguir decisiones correctas. Para evaluar este vector se utiliza la denominada *regla delta* (delta rule). Inicialmente el vector de pesos se escoge al azar y se calcula Net para un objeto determinado \mathbf{X} . Si no se ha obtenido el resultado correcto, debemos modificar \mathbf{W} :

$$\Delta \mathbf{W} = \mathbf{W}^{(\text{nuevo})} - \mathbf{W}^{(\text{viejo})} \quad (\text{IV.7})$$

Esta modificación es proporcional a una cierta cantidad δ del vector de pesos \mathbf{W} :

$$\Delta \mathbf{W} \approx \delta \mathbf{X} \quad (\text{IV.8})$$

Por lo que podemos escribir:

$$\delta = \eta \frac{\Delta \mathbf{W}}{\mathbf{X}} \quad (\text{IV.9})$$

$$\Delta \mathbf{W} = \eta \delta \mathbf{X}$$

El parámetro η puede tomarse como una medida de la velocidad del proceso de aprendizaje. Al principio del proceso de aprendizaje conviene mantener $\eta = 1$ y

conforme va aumentando el tiempo de cálculo y mejorando el aprendizaje, es aconsejable ir reduciendo su valor. Una vez, obtenido \mathbf{W} y calculada Net, hay que transformar este valor para calcular la salida de la neurona mediante una *función de transferencia*, f , de manera que la salida $Y = f(\text{Net})$ se ajuste al objetivo. La función de transferencia puede ser de naturaleza muy variada, pero para poder rendir cuenta de las tendencias no lineales que encontramos en la naturaleza debe cumplir con tres requisitos:

- No ser negativa
- Ser continua y confinada en un determinado dominio
- Ser derivable

Dentro de las funciones matemáticas que cumplen estas características, una de las más utilizadas es la *función sigmoidea*, cuya expresión analítica es:

$$f(\text{Net}) = \frac{1}{1 + \exp(-\text{Net})} \quad (\text{IV.10})$$

Una de las ventajas que presenta esta función de transferencia es que el cambio de pendiente es mucho más suave que en otras funciones y la zona de cambio corresponde al máximo aprendizaje. Además, la derivada de la función contiene a la propia función gracias a la exponencial.

Con lo explicado hasta aquí tenemos definida la neurona artificial que emplearemos más adelante, y cuya representación gráfica es:

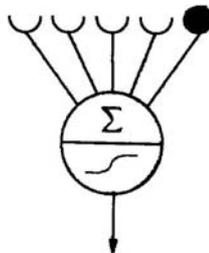


Figura IV.6. Representación gráfica de una neurona artificial.

El modelo de red debe procesar la información de manera paralela. La señal de entrada debe adecuarse al conjunto de neuronas conectadas en la red. Por lo tanto, la señal de entrada debe activar a todas las neuronas a la vez, cada una de ellas con sus propios vectores de pesos \mathbf{W} y señales de salida \mathbf{Y} . Al grupo de neuronas que reciben el mismo conjunto de señales de entrada \mathbf{X} y producen otras tantas salidas simultáneamente se denomina *capa* (layer). Todas las neuronas de la misma capa deben tener la misma dimensión. Como cada neurona “ j ” produce su propia suma Net_j y su correspondiente señal de salida Y_j , cada señal individual de una misma capa se puede englobar en los respectivos vectores \mathbf{X} , \mathbf{Net} y \mathbf{Y} . El vector salida \mathbf{Y} de una capa será el vector entrada \mathbf{X} de la siguiente en una arquitectura multicapa.

IV.2.1. PERCEPTRONES MULTICAPA.

Las arquitecturas de red multicapa pueden aproximar su salida a cualquier función continua con la única condición de que presenten *alimentación hacia delante* (feed-forward, sin bucles de retro-alimentación, ya que esto asegura que la salida de la red pueda ser calculada como una función explícita de las entradas \mathbf{X} y los pesos \mathbf{W}).

Aquellas arquitecturas de red sin bucles de retro-alimentación que contienen varias capas de neuronas con funciones de transferencia sigmoideas se llaman *perceptrones multicapa* (multilayer perceptrons, MLP). Un MLP consiste en neuronas artificiales y conexiones (pesos) entre ellas. Las neuronas se disponen en capas: Una *capa de entrada* (input layer), una ó varias *capas ocultas* (hidden layers) y una *capa de salida* (output layer), siendo las conexiones unidireccionales desde la entrada a la salida. Las capas adyacentes están completamente conectadas, pero no existen conexiones entre neuronas de la misma capa (González-Arjona, López-Pérez & Gustavo González, 2002). Siendo diferenciable la función de transferencia, es posible aplicar un método computacionalmente muy efectivo, llamado *retro-propagación de errores* (error back-propagation) para llevar a cabo el entrenamiento de la red. Sea cual fuere la arquitectura de la red neuronal, se debe cumplir que a todas las neuronas de la misma capa les ha de llegar igual número de entradas, incluyendo el *offset*. En la figura siguiente se representa un MLP con una arquitectura 2x3x2x4 (dos neuronas en la capa de entrada, dos capas ocultas de tres y dos neuronas, y una capa de salida de dos neuronas):

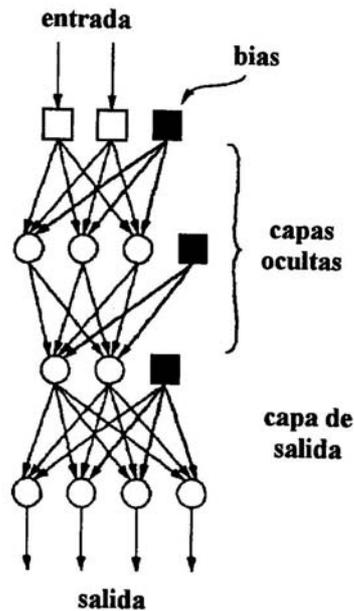


Figura IV.7. Perceptrón multicapa con una red neuronal 2x3x2x4.

La capa de salida usualmente tiene funciones de transferencia sigmoideal ó lineal, dependiendo de la aplicación. La red completa representa una relación no lineal que puede escribirse para cada salida como:

$$\hat{Y} = F(X) = \sum_h \left[f \left(\sum_i x_i w_{ih} + \theta_i \right) \right] w_h + \theta_h \quad (\text{IV.11})$$

Donde w_{ih} es el peso que conecta la neurona de entrada i con la neurona oculta h y w_h son los pesos conectados entre cada neurona oculta h y la salida final considerada, Y . θ_i y θ_h son los *offsets* correspondientes a la capa de entrada y la capa oculta. La diferencia $\hat{Y} - Y$ es el error en el objetivo, que se retro-propaga para modificar los pesos y encontrar el mejor ajuste.

IV.2.2. EL APRENDIZAJE POR RETRO-PROPAGACIÓN DE ERRORES.

La principal ventaja de este tipo de aprendizaje es que la corrección de los pesos está muy bien definida: Se comienza a aplicar a los pesos de la capa de salida, continuando hacia atrás hasta la capa de entrada:

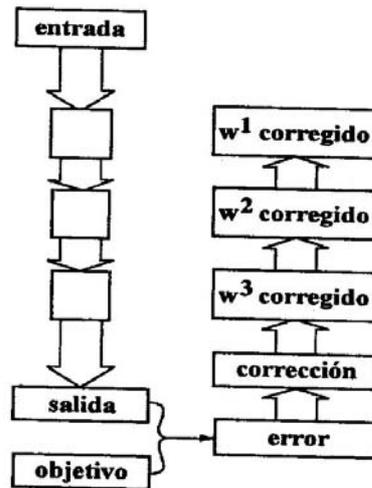


Figura IV.8. Corrección de pesos en el aprendizaje por retropropagación.

La arquitectura de la red es muy flexible. En la mayoría de los casos, la capa de entrada consiste en tantas neuronas como componentes tenga la señal de entrada X . Estas neuronas son inactivas: no realizan procesamientos de ninguna señal porque ellas son los componentes de la señal. Luego tenemos fundamentalmente una capa oculta y la capa de salida, de neuronas activas. Antes de comenzar el entrenamiento es conveniente inicializar los pesos a pequeños valores, por ejemplo en el intervalo $[-0.1, 0.1]$, elegidos al azar. Con esto se asegura que la red no se sature con valores grandes de los pesos y por otra, que se comience en un punto aleatorio de la superficie de error. Los pasos a seguir en el entrenamiento son:

- Elegir el número de vectores de entrada que componen el conjunto de entrenamiento.
- Introducir el primer vector X
- Calcular la salida \hat{Y}
- Calcular el error entre la salida de red \hat{Y} y la salida objetivo Y
- Modificar los pesos de la red con el fin de minimizar el error empleando la regla delta.
- Repetir los pasos anteriores para cada vector del conjunto de entrenamiento hasta disminuir convenientemente el error.

El proceso de entrenamiento se realiza de manera iterativa, introduciendo en la red todos los miembros del conjunto de entrenamiento y todas las salidas objetivo. Para cada valor de entrada \mathbf{X} existe un valor de salida Y conocido (aprendizaje supervisado). En métodos de clasificación la salida Y coincide con el código binario de la clase a la que pertenece la muestra \mathbf{X} . Cada vez que se hace pasar por la red el conjunto completo de entrenamiento se dice que ha transcurrido *una época* (epoch) o iteración. El aprendizaje termina cuando no se mejora el ajuste de \hat{Y} a Y , o bien cuando han transcurrido un número prefijado de épocas. Como ya se dijo, cuando se usan funciones de transferencia derivables, como la sigmoidea, el error en la capa de salida viene dado por:

$$\delta_{kl} = (Y_{kl} - \hat{Y}_{kl}) \hat{Y}_{kl} (1 - \hat{Y}_{kl}) \quad (\text{IV.12})$$

Donde δ_{kl} es el error para la muestra \mathbf{k} a la salida de la neurona \mathbf{l} , Y_{kl} es el valor conocido que debería tomar la salida del objeto \mathbf{k} y \hat{Y}_{kl} es el valor estimado computacionalmente de la salida en la neurona \mathbf{l} .

El error en la neurona \mathbf{h} de la capa oculta cuando se usa la función sigmoidea es:

$$\delta_{kh} = \hat{Y}_{kh} (1 - \hat{Y}_{kh}) \sum_l \delta_{kl} w_{lh} \quad (\text{IV.13})$$

Los errores de la capa oculta se propagan hacia atrás en la red corrigiendo los pesos según la regla delta:

$$\Delta w_{hi}(n+1) = \eta \delta_{kh} \hat{Y}_{ki} + \mu \Delta w_{hi}(n) \quad (\text{IV.14})$$

Donde Δw_{hi} es la corrección de pesos entre la neurona \mathbf{h} de la capa oculta y la neurona \mathbf{i} de la capa de entrada, η es la velocidad de aprendizaje y μ es un parámetro llamado momento que sirve para evitar caer en mínimos locales de la función error. El índice n es el número de la iteración. Durante el entrenamiento de la red, las muestras pueden introducirse al azar para evitar posibles tendencias de aprendizaje de idiosincrasias, en lugar de generalizaciones. Como ya se ha indicado, este tipo de

aprendizaje es muy adecuado para la clasificación de muestras. Para estos casos, el número de neuronas de la capa de salida se hace coincidir con el número de clases establecidos *a priori* y las salidas conocidas de cada muestra de entrada será el código binario de la clase a la cual pertenece dicha muestra. Por ejemplo: si hay cuatro clases tendremos los códigos 0001, 0010, 0100 y 1000. Por lo tanto, las salidas se escalan entre 0 y 1. Cuando acaba el entrenamiento, podemos predecir la categoría de cada muestra del conjunto de evaluación a partir de la matriz de pesos final de la red y el vector de entrada de la muestra a clasificar \mathbf{X}_{test} . Una vez obtenido el valor de la salida \hat{Y}_{test} , lo comparamos con el valor conocido usando una función $G(\hat{Y}_{\text{test}} - Y_{\text{test}})$ que devuelva 1 (acierto) si el argumento es menor o igual que el error preseleccionado y que devuelve 0 (fallo) en caso contrario.

IV.2.3. SOBREENTRENAMIENTO.

Un MLP con una capa de entrada, una interna y otra de salida, basta para aproximar cualquier función continua arbitraria según el teorema de Kolmogorov, de modo que las fronteras inter-clásicas pueden modelarse mediante estas redes neuronales. Una característica especial que justifica el impacto de las redes neuronales en el modelado de fronteras es su "parsimonia", esto es: Las redes neuronales producen mejores resultados que otras aproximaciones (Regresión Lineal Múltiple, Regresión en Componentes Principales, Mínimos Cuadrados Parciales...) con el mismo número de parámetros. Cualquier MLP con una capa oculta y funciones de transferencia sigmoideas se comporta como parsimonioso. El número de neuronas de la capa oculta indica la complejidad de la relación de manera muy similar al grado del ajuste polinomial a una curva. Siempre es posible construir un modelo parametrizado que ajuste perfectamente los datos tomando un número suficiente de parámetros. Si imaginamos un conjunto de datos (X) divididos en subconjuntos de entrenamiento y evaluación que pretenden ajustarse a una serie de respuestas (Y). Realizamos el ajuste con el conjunto de entrenamiento y con la función ajustada, predecimos los resultados del subconjunto de evaluación. En la figura siguiente se muestra la curva de ajuste obtenida con los objetos de entrenamiento (círculos negros), que presenta la generalización adecuada para predecir los objetos de evaluación (círculos rojos)

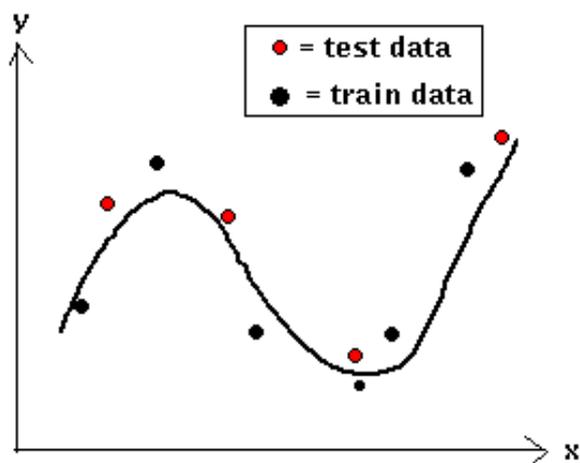


Figura IV.9. Curva de ajuste de los objetos de entrenamiento y evaluación.

Si utilizamos un polinomio de mayor grado, podemos llevar a cabo el ajuste (sobre-parametrizado) de manera que pase exactamente por todos los objetos de entrenamiento, como vemos en la figura IV.10:

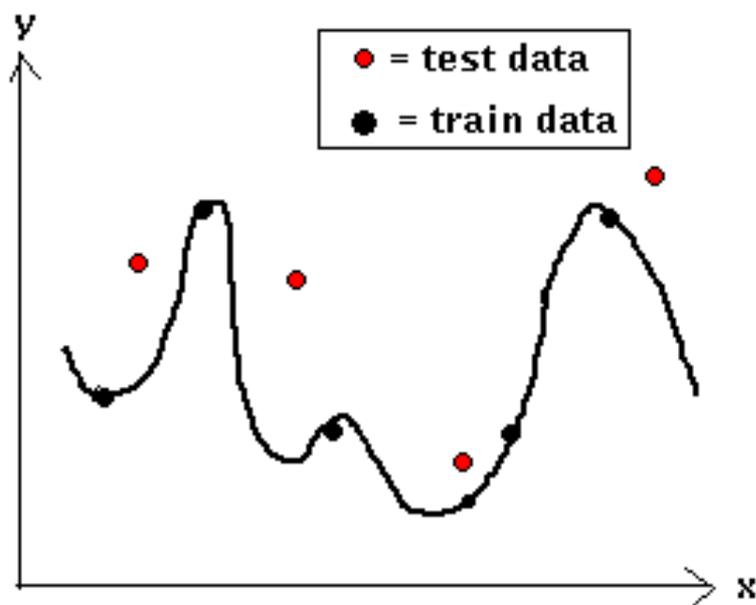


Figura IV.10. Ajuste sobre-parametrizado.

El modelo obtenido produce resultados muy malos con los datos que no se han utilizado en el entrenamiento. Este fenómeno se llama *sobreentrenamiento* (overfitting, overtraining) y puede observarse fácilmente cuando se usa una red neuronal con muchas conexiones (pesos). Por lo tanto, la función global de la red será demasiado compleja para una solución razonable. En tal caso, hay un riesgo severo de especialización en el entrenamiento, que resultará en una capacidad predictiva muy pobre para el conjunto de evaluación. El problema de encontrar la complejidad óptima de la red es un ejemplo de *la navaja de Occam*, principio epistemológico establecido por el monje franciscano William of Occam (1285-1349) que dice: *Entia non sunt multiplicanda praeter necessitatem*. El sentido de la frase para nuestros fines es que siempre es preferible un modelo sencillo a uno complejo y tal preferencia debería tener supremacía frente a la extensión en que el modelo se ajusta a los datos. La mejor aproximación para realizar el modelado de la regla de clasificación es construir la red con el menor número de conexiones compatible con la fiabilidad de la predicción. Para ello es fundamental que los vectores de entrada tengan el menor número de componentes y que la capa oculta tenga un número mínimo de neuronas. Las componentes de cada muestra de entrada son los valores de las variables que caracterizan la misma. Pero en muchos casos las variables establecidas pueden ser redundantes o irrelevantes a la regla de clasificación, con lo cual es fundamental realizar una selección previa de las variables. Algunos autores apuntan que para evitar falsos positivos en la separación binaria de clases, la relación entre el número de muestras de entrenamiento (n_t) y el número de variables independientes o dimensión del espacio vectorial de los patrones (p) debe ser superior a 3 (Varmuza, 1980). Aunque existen numerosísimos procedimientos para la selección de variables, uno de los más prácticos consiste en realizar un análisis de componentes principales, y seleccionar las variables contenidas en los primeros componentes principales (D. González-Arjona et al., 2002). Para la determinación del número óptimo de neuronas de la capa oculta, algunos autores utilizan el parámetro ρ , definido como:

$$\rho = \frac{\text{numero de datos en el conjunto de entrenamiento}}{\text{suma total de conexiones en la red}} \quad (\text{IV.15})$$

Para evitar sobreentrenamiento, se recomienda que $1 < \rho < 2.2$ (Douali, Villemin & Cherquaoui, 2004). Pero existen muchos métodos heurísticos y empíricos de prueba y error. El siguiente punto crítico es la validación de la regla de clasificación obtenida.

Generalmente se considera la sensibilidad y especificidad en la predicción de los objetos del conjunto de evaluación por clase. Pero en el caso de las redes neuronales existe una fuente adicional de sobreentrenamiento que es el número de épocas empleadas para la consecución de la regla. Es conveniente emplear un subconjunto de "verificación" para detener el proceso de entrenamiento antes que la red aprenda idiosincrasias presentes en el conjunto de entrenamiento en lugar de generalizar. Durante el entrenamiento, en cada ciclo de iteración o época, todas las muestras han pasado a través de la red como vectores de entrada. Los pesos se re-evalúan iterativamente a partir del error producido en la capa de salida mediante el algoritmo de retro-propagación de acuerdo con la regla delta. El cálculo iterativo de los pesos continúa con el número de épocas y se construye una función de coste (suma de cuadrados de las desviaciones de las salidas calculadas por la red frente a los valores conocidos). Si designamos la matriz de pesos en la época m como W_m , la función puede escribirse como

$$J_m = \sum_{k=1}^{n_t} [\hat{Y}_k(W_m) - Y_k]^2 \quad (\text{IV.16})$$

Donde k es un contador. Al pasar el tiempo, el proceso de aprendizaje continúa y disminuyen las desviaciones, con lo que la función de coste disminuye monótonicamente. ¿Dónde detenemos el entrenamiento? A partir de una iteración dada, si el entrenamiento continúa, se pueden aprender las peculiaridades de los objetos conduciendo a sobreentrenamiento. Si aplicamos la función de coste al conjunto de verificación y la comparamos con la función de coste del entrenamiento, un incremento de la primera con respecto de la segunda para el mismo número de iteraciones puede tomarse como indicación de sobreentrenamiento y emplearse como criterio de detención del proceso de aprendizaje:

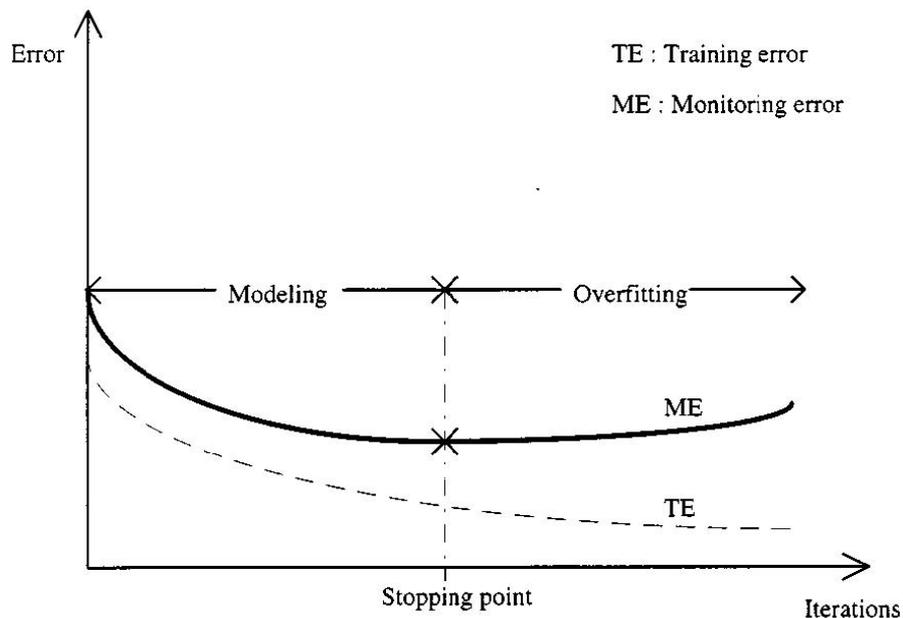


Figura IV.11. (TE: función de coste para el entrenamiento; ME: función de coste para el conjunto de verificación).

Desde la perspectiva del análisis multivariante, consideraremos las muestras de aceite como objetos multivariantes caracterizados por los valores de los descriptores correspondientes a los componentes de cada uno de los perfiles cromatográficos estudiados. Por ejemplo, en el caso del perfil de tocoferoles, cada muestra de aceite vendrá caracterizada por el contenido en α -, β -, γ - y δ -tocoferol. Cada uno de estos componentes es un descriptor (variable). Consideraremos que cada muestra se asigna a un vector patrón \mathbf{X} que tiene p componentes (ya que viene descrita por p variables o descriptores): $\mathbf{X} = (x_1, x_2, \dots, x_p)$. Si disponemos de n muestras en el conjunto conocido, de las cuales n_t se tomarán para formar el conjunto de entrenamiento y n_e para el conjunto de evaluación, tendremos \mathbf{X}_i vectores, siendo i el subíndice indexador del número de muestra. Sus componentes serían entonces $(x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{ip})$. Podemos disponer las distintas muestras como vectores fila una debajo de otra, con lo cual construimos la matriz de datos \mathbf{X} cuyos componentes son x_{ij} , $i = 1 - N$ y $j = 1 - p$. Además de estos términos, al tratarse de un problema de clasificación supervisada, nosotros conocemos la categoría a las que pertenecen las muestras, es decir, a cada una podemos asignarle un tercer índice que haga referencia a la clase. De este modo el vector patrón podría escribirse como $\mathbf{X}_i^{(k)}$, con k indexando la clase. Si hay Q clases, $k = 1 - Q$. El

correspondiente elemento de la matriz de datos que corresponde al valor de la variable j para la muestra i de la clase k como $x_{ij}^{(k)}$.

IV.2.4. ALGORITMOS NEURONALES PROBABILÍSTICOS Y ESTIMACIÓN BAYESIANA.

Existen otros métodos discriminantes que utilizan redes neuronales para resolver problemas de clasificación y son los llamados *algoritmos neuronales probabilísticos* (PNN, Probabilistic Neural Networks) (Specht, 1990; Streit & Luginbuhl, 1994). El PNN esencialmente es un tipo de red neuronal que implementa una estrategia de decisión bayesiana, así que vamos a recordar un poco el teorema de Bayes. Thomas Bayes (1702-1761) fue un matemático británico y ministro presbiteriano que formuló un caso especial del teorema que hoy lleva su nombre y que tiene que ver con la probabilidad condicionada de sucesos. Puede considerarse como un procedimiento para incorporar información a partir de observaciones para actualizar y modificar la probabilidad de un evento. Llevando el teorema a nuestro terreno, admitamos que tenemos un conjunto de entrenamiento de vectores patrón distribuidos en Q clases: C_1, C_2, \dots, C_Q . Sea n_1, n_2, \dots, n_Q el número de vectores patrón que pertenece a cada una de las clases anteriores de modo que $n_1 + n_2 + \dots + n_Q = n_t$. Consideremos un vector patrón dado \mathbf{X} ¿A qué clase lo asignaríamos? Pues así “a ciegas” las probabilidades de que pertenezca a la clase C_k vendrá dada por la Regla de Laplace:

$$P(C_k) = \frac{n_k}{n_t} \quad (\text{IV.17})$$

Estas son las probabilidades *a priori*. Pero si observamos los datos de sus componentes x_1, x_2, \dots, x_p podemos añadir esta información al sistema y calcular una probabilidad *a posteriori* de que el vector pertenezca a la clase C_k una vez que conocemos sus componentes según el teorema de Bayes:

$$P(C_k/X) = \frac{p(X/C_k)P(C_k)}{p(X)} \quad (\text{IV.18})$$

P hace referencia a probabilidad y p a *función de densidad de probabilidad* (PDF, probability density function):

$$P(a < x < b) = \int_a^b p(x)dx \quad (\text{IV.19})$$

$p(X/C_k)$ es la densidad de probabilidad de los vectores patrón condicionada a la clase C_k . $p(X)$ es la densidad de probabilidad no condicional y que hace las veces de mero factor de escala:

$$p(X) = \sum_{k=1}^Q p(X/C_k)P(C_k) \quad (\text{IV.20})$$

Y que nos asegura que:

$$\sum_{k=1}^Q P(C_k/X) = 1 \quad (\text{IV.21})$$

La probabilidad *a posteriori* $P(C_k/X)$ da la probabilidad de que el vector patrón pertenezca a la clase C_k una vez que hemos observado sus componentes. La probabilidad de fallo en la clasificación se minimiza seleccionando la clase C_k que tenga el mayor valor de probabilidad *a posteriori*:

$$P(C_k/X) = \max_{j \in \{1,2,\dots,Q\}} P(C_j/X) \quad (\text{IV.22})$$

Como $p(X)$ es independiente de la clase y puede tomarse como un factor de escala, podemos maximizar los productos $P(C_k/X)p(X) = p(X/C_k)P(C_k)$, con lo cual el criterio de asignación será:

$$p(X/C_k)P(C_k) = \max_{j \in \{1,2,\dots,Q\}} p(X/C_j)P(C_j) \quad (\text{IV.23})$$

El problema se ha reducido a la estimación de las PDF condicionadas a las clases, $p(X/C_j)$. Ahí es donde actúa la red neuronal probabilística. Las PDF condicionales pueden evaluarse aplicando algún estimador de PDF. Existen varios, pero el mejor es el estimador de Parzen (Parzen, 1962) pues es insesgado (el promedio de n estimaciones converge al valor de referencia cuando n crece) y asintóticamente convergente (el error cuadrático medio tiende a cero cuando el número de vectores de entrenamiento tiende a infinito). El problema del estimador original de Parzen es que solo se aplicaba al caso univariante. Cacoullos extendió el estimador de Parzen al caso multivariante (Cacoullos, 1966). Este estimador puede considerarse la función de activación del PNN y tiene la forma de un operador Gaussiano multivariante:

$$p(X/C_k) = \frac{1}{(2\pi)^{p/2} \prod_{j=1}^p \sigma_{kj} n_k} \sum_{i=1}^{n_k} w_i e^{-D_k(X, X_i)} \quad (\text{IV.24})$$

Donde σ_{kj} es un parámetro llamado *factor de suavizado* y representa la desviación estándar de la distribución de la variable j entre las muestras de la clase C_k . Los pesos w_i son ponderaciones asociadas al vector de entrenamiento X_i , que habitualmente se toman igual a la unidad. El número total de descriptores es p , el número de vectores de entrenamiento de la clase C_k es n_k . $D_k(X, X_i)$ representa la distancia cuadrática normalizada entre un vector patrón del conjunto de evaluación X y un vector patrón de entrenamiento perteneciente a la clase k , $X_i^{(k)}$:

$$D_k(X, X_i) = \sum_{j=1}^p \left(\frac{X_j - X_{ij}^{(k)}}{\sigma_{kj}} \right)^2 \quad (\text{IV.25})$$

Aunque el estimador es un operador gaussiano, esto no tiene relación alguna con la suposición de normalidad de la distribución $p(X/C_k)$. Si admitimos la equivalencia de los parámetros de suavizado ($\sigma_{k1} = \sigma_{k2} = \sigma_{kj} = \dots = \sigma_{kp} = \sigma_k$) y tomamos $w_i = 1$ el estimador de PDF vendrá dado por:

$$p(X/C_k) = \frac{1}{(2\pi)^{p/2} \sigma_k^p n_k} \sum_{i=1}^{n_k} \exp \left(- \sum_{j=1}^p \frac{(X_j - X_{ij})^2}{\sigma_k^2} \right) \quad (\text{IV.26})$$

A diferencia de los MLP en los que el núcleo del proceso es la capa oculta, el PNN tiene una *capa patrón* (pattern layer) que se encarga de hacer el entrenamiento de manera equivalente a como funcionan las redes neuronales con función de base radial (Sarle, 1994). Durante el aprendizaje, los vectores patrones del conjunto de entrenamiento simplemente se introducen en la capa patrón del PNN agrupados por clases. La peculiaridad del PNN es que durante el entrenamiento el único parámetro que hay que ajustar es de acuerdo con la ecuación (IV.26), el parámetro de suavizado σ_k , también llamado *anchura del núcleo* (kernel width). Este parámetro es fundamental porque determina la interpolación que tiene lugar entre vectores patrones adyacentes. Cuando el parámetro de suavizado tiende a cero, el PNN se reduce esencialmente a un clasificador del vecino más próximo (1NN). Un valor grande del parámetro de suavizado tiene la ventaja de producir un PDF suave, con buenas propiedades de interpolación para predecir nuevos vectores patrón, pero como contrapartida, presenta severos riesgos de fallo en la clasificación. El valor óptimo para el parámetro de suavizado es un compromiso y puede estimarse un valor de entrada a partir de la expresión (Hammond, Riedel, Rose-Pehrsson & Williams, 2004):

$$\sigma_k^{\text{opt}} = 1.44 \sqrt{\frac{1}{n_k} \sum_{i=1}^{n_k} \|X_i - X_i^*\|^2} \quad (\text{IV.27})$$

Donde X_i es un vector patrón del conjunto de entrenamiento y X_i^* su vecino más próximo en la clase. Pero el procedimiento de ajuste más habitual es maximizar la eficacia del reconocimiento, es decir minimizar el fallo de clasificación en el conjunto de entrenamiento. Este criterio es discreto, pero puede definirse una función error continua para estos menesteres (Chtioui, Bertrand & Barba, 1996).

$$\text{error}_k(X) = [1 - p(X / C_k)]^2 + \sum_{j \neq k} [p(X / C_j)]^2 \quad (\text{IV.28})$$

Las derivadas de esta función pueden emplearse para la optimización de los parámetros de suavizado utilizando poderosos como el del gradiente conjugado. En ciertos casos, algunos programas emplean un único parámetro de suavizado para todas las clases admitiendo la homocedasticidad de los núcleos: $\sigma_1 = \sigma_2 = \sigma_k = \dots = \sigma_Q = \sigma$.

El PNN tiene cuatro capas:

- La *capa de entrada* (input layer) presenta simplemente los vectores patrón de entrada en la red, que corresponderán al conjunto de evaluación para predecir su pertenencia a clase. Los vectores patrón del conjunto de entrenamiento se usan previamente para en la etapa de aprendizaje optimizar el parámetro de suavizado que caracteriza los estimadores de Parzen para la PDF condicional.
- La *capa patrón* (pattern layer) contiene tantas neuronas como vectores patrones del conjunto de entrenamiento agrupados en clases. Cada neurona de esta capa comprueba la distancia entre cada vector patrón de evaluación (\mathbf{X}) y el correspondiente vector patrón de entrenamiento (\mathbf{X}_i) mediante la ecuación (IV.25).
- La *capa sumatoria* (summation layer) calcula el valor de la PDF condicional para cada clase según la ecuación (IV.26).
- La *capa de decisión* (decision layer) que en realidad es una unidad de decisión que busca el máximo de la PDF condicional según la ecuación (IV.23), asignando la clase de la PDF ganadora al vector patrón de entrada.

La arquitectura del PNN se ilustra en la siguiente figura para el caso de 4 vectores de entrada y un conjunto de entrenamiento constituido por dos clases que contienen 5 y 3 vectores patrón.

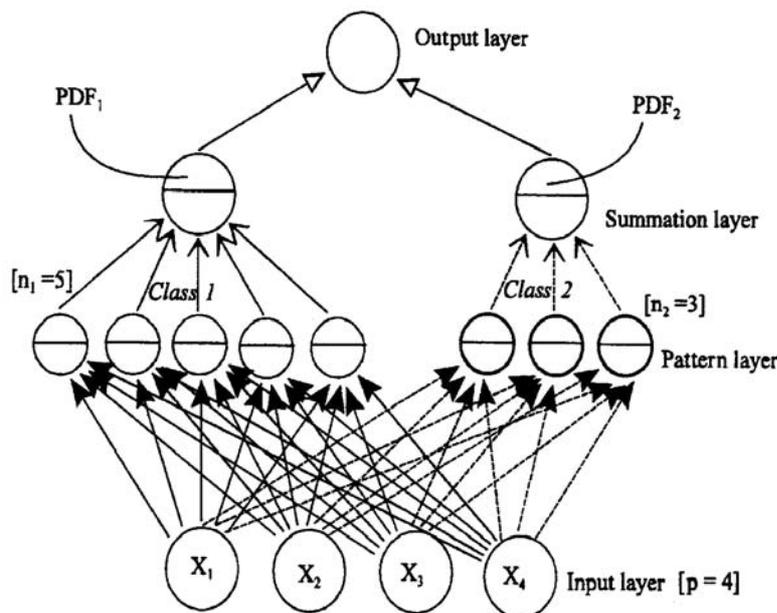


Figura IV.12. Representación gráfica del algoritmo neuronal probabilístico (PNN).

IV.3. CLASIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS DE ACEITE EMPLEANDO MLP Y PNN.

De los diversos perfiles analíticos cromatográficos correspondientes a la fracción del insaponificable, aquellos que muestran una mayor discriminación entre las dos clases de aceites (correspondientes a las especies de acebuchina y oliva) son los correspondientes a esteroides y tocoferoles, y a la fracción saponificable, son los correspondientes a ácidos grasos. Esto se ha deducido de observaciones preliminares llevando a cabo un análisis discriminante lineal con los perfiles y seleccionando los más discriminatorios. Los descriptores correspondientes a los tres perfiles seleccionados son:

TOCOFEROLES: α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol y δ -tocoferol.

ESTEROLES: 24-metilen-colesterol, campesterol, campestanol, estigmasterol, clerosterol, β -sitosterol, sitostanol, δ -5-avenasterol, δ -5,24-estigmasterol, δ -7 estigmastanol y δ -7 avenasterol.

ÁCIDOS GRASOS: Mirístico, palmítico, palmitoleico, margárico, margaroleico, esteárico, oleico, linoleico, linolénico, aráquico, gadoleico, behénico, lignocérico, trans-oleico y trans-linoleico mas linolénico.

El conjunto de trabajo ha consistido en 43 muestras de aceite de acebuchina (código ACEBU) y 42 muestras de aceite de oliva (código OLIVA), que se ha dividido en dos subconjuntos tomando de manera aleatoria aproximadamente el 50% de las muestras correspondientes a cada clase, con lo cual, el conjunto de entrenamiento contiene 21 muestras de aceite de acebuchina y 21 muestras de aceite de oliva y el de evaluación, 22 muestras de aceite de acebuchina y 21 muestras de aceite de oliva.

IV.3.1. CLASIFICACIÓN MEDIANTE MLP.

En todos los casos se utilizó un conjunto de verificación para optimizar el número de épocas sin peligro de sobreentrenamiento. El valor óptimo fue de 1000 épocas en los tres perfiles. Los valores tomados por defecto para la velocidad de aprendizaje y el momento fueron los recomendados por Zupan y Gasteiger (1993): $\eta =$

0.2 y $\mu = 0.5$ y se mantuvieron fijos durante todo el entrenamiento. El número de neuronas en la capa oculta se optimizó aplicando el módulo de Algoritmos Neuronales del paquete STATISTICA. Los pesos se tomaron para todas las capas de manera aleatoria dentro del intervalo $[-1, +1]$. La función de transferencia tanto de la capa oculta como de la de salida fue sigmoidea. El muestreo de los vectores patrón fue aleatorio. Los valores de la salida Y_{kl} para cada vector de entrada se codifican en forma binaria de manera que para la clase ACEBU será (1 0) y para la clase OLIVA, (0 1). Por lo tanto, los valores estimados \hat{Y}_{kl} se normalizan a 0 y 1. La función de asignación de acierto/fallo $G(\hat{Y}_{kl} - Y_{kl})$ devuelve 1 para argumentos menores o iguales al error máximo seleccionado para el objetivo (en nuestro caso 0.15) y produce 0 en caso contrario. A continuación pasaremos revista a los tres perfiles seleccionados para la discriminación, indicándose la arquitectura de la red utilizada y la matriz de confusión obtenida, junto con los valores de sensibilidad y especificidad para cada clase.

Perfil ESTEROLES:

Arquitectura: 11x8x2

$$\text{Matrices de confusión: } M_C^{\text{ACEBU}} = \begin{bmatrix} 19 & 2 \\ 0 & 22 \end{bmatrix} \quad M_C^{\text{OLIVA}} = \begin{bmatrix} 22 & 0 \\ 2 & 19 \end{bmatrix}$$

$$\text{SENS}_{\text{ACEBU}} = 100\% \quad \text{ESPEC}_{\text{ACEBU}} = 90.4\%$$

$$\text{SENS}_{\text{OLIVA}} = 90.4\% \quad \text{ESPEC}_{\text{OLIVA}} = 100\%$$

Perfil ÁCIDOS GRASOS:

Arquitectura: 15x8x2

$$\text{Matrices de confusión: } M_C^{\text{ACEBU}} = \begin{bmatrix} 19 & 2 \\ 0 & 22 \end{bmatrix} \quad M_C^{\text{OLIVA}} = \begin{bmatrix} 22 & 0 \\ 2 & 19 \end{bmatrix}$$

$$\text{SENS}_{\text{ACEBU}} = 100\% \quad \text{ESPEC}_{\text{ACEBU}} = 90.4\%$$

$$\text{SENS}_{\text{OLIVA}} = 90.4\% \quad \text{ESPEC}_{\text{OLIVA}} = 100\%$$

Perfil TOCOFEROLES:

Arquitectura: 4x3x2

$$\text{Matrices de confusión: } M_C^{\text{ACEBU}} = \begin{bmatrix} 19 & 2 \\ 2 & 20 \end{bmatrix} \quad M_C^{\text{OLIVA}} = \begin{bmatrix} 20 & 2 \\ 2 & 19 \end{bmatrix}$$

$$\text{SENS}_{\text{ACEBU}} = 90.9\% \quad \text{ESPEC}_{\text{ACEBU}} = 90.5\%$$

$$\text{SENS}_{\text{OLIVA}} = 90.5\% \quad \text{ESPEC}_{\text{OLIVA}} = 90.9\%$$

IV.3.2. CLASIFICACIÓN MEDIANTE PNN.

Dado que el número de muestras de una clase y otra era de 43 (ACEBU) y 42 (OLIVA), las probabilidades *a priori* se tomaron como $P(\text{ACEBU}) = 43/85 = 0.51$ y $P(\text{OLIVA}) = 42/85 = 0.49$. El parámetro de suavizado se tomo igual para las dos clases y se seleccionó como valor inicial el proporcionado por el módulo de Algoritmos Neuronales del paquete STATISTICA. Este valor se fue modificando por prueba y error de manera que produjese un máximo de eficacia de reconocimiento en el conjunto de entrenamiento. Análogamente al caso anterior, veremos los resultados de los tres perfiles seleccionados para la discriminación, indicándose la arquitectura de la red utilizada y la matriz de confusión obtenida, junto con los valores de sensibilidad y especificidad para cada clase.

Perfil ESTEROLES:

Arquitectura: 11x42x2x1

Parámetro de suavizado: $\sigma = 0.15$

$$\text{Matrices de confusión: } M_C^{\text{ACEBU}} = \begin{bmatrix} 20 & 1 \\ 6 & 16 \end{bmatrix} \quad M_C^{\text{OLIVA}} = \begin{bmatrix} 16 & 6 \\ 1 & 20 \end{bmatrix}$$

$$\text{SENS}_{\text{ACEBU}} = 72.7\% \quad \text{ESPEC}_{\text{ACEBU}} = 95.2\%$$

$$\text{SENS}_{\text{OLIVA}} = 95.2\% \quad \text{ESPEC}_{\text{OLIVA}} = 72.7\%$$

Perfil ÁCIDOS GRASOS:

Arquitectura: 15x42x2x1

$$\text{Matrices de confusión: } M_C^{\text{ACEBU}} = \begin{bmatrix} 19 & 2 \\ 4 & 18 \end{bmatrix} \quad M_C^{\text{OLIVA}} = \begin{bmatrix} 18 & 4 \\ 2 & 19 \end{bmatrix}$$

$$\text{SENS}_{\text{ACEBU}} = 81.8\% \quad \text{ESPEC}_{\text{ACEBU}} = 90.5\%$$

$$\text{SENS}_{\text{OLIVA}} = 90.5\% \quad \text{ESPEC}_{\text{OLIVA}} = 81.8\%$$

Perfil TOCOFEROLES:

Arquitectura: 4x42x2x1

$$\text{Matrices de confusión: } M_C^{\text{ACEBU}} = \begin{bmatrix} 14 & 7 \\ 5 & 17 \end{bmatrix} \quad M_C^{\text{OLIVA}} = \begin{bmatrix} 17 & 5 \\ 7 & 14 \end{bmatrix}$$

$$\text{SENS}_{\text{ACEBU}} = 73.9\% \quad \text{ESPEC}_{\text{ACEBU}} = 66.6\%$$

$$\text{SENS}_{\text{OLIVA}} = 66.6\% \quad \text{ESPEC}_{\text{OLIVA}} = 73.9\%$$

Como puede observarse, los resultados obtenidos mediante el empleo de MLP han sido notablemente mejores que los producidos por los PNN. La separación entre las muestras de aceite de acebuchina y oliva es un hecho, dados los excelentes resultados obtenidos en la discriminación, especialmente con los perfiles de esteroides y ácidos grasos. Sin embargo, la similitud entre ambas especies de *Olea* origina una superposición exigua, pero existente entre las dos clases, originando algunos, aunque muy pocos, falsos positivos y falsos negativos.

CAPÍTULO V.-

RESUMEN Y CONCLUSIONES.

1. Se ha realizado un estudio analítico sobre un conjunto de 51 muestras de acebuchina recogidas manualmente en los campos de las provincias de Cádiz, Sevilla y Huelva, a las que se les extrajo el aceite mediante el molino a escala de laboratorio marca ABENCOR. Por ello, era necesario recolectar un mínimo de cuatro kilos de acebuchinas para obtener la cantidad necesaria de aceite para realizar los análisis programados con la finalidad de caracterizar el aceite de acebuchina. El procesado de las muestras de los aceites de acebuchina conllevó una enorme dificultad, además de la búsqueda, recolección manual, limpieza, molturación y extracción de los aceites. De estas muestras, siete de ellas, por no haber reunido la suficiente cantidad de acebuchina, se extrajo el aceite mediante extracción con disolventes orgánicos (concretamente con hexano). También se ha analizado un aceite envasado como aceite de acebuchina.

2. Se han estudiado los rendimientos grasos de los frutos (acebuchinas), además de verles el peso y el tamaño.

3. Se han procesado las muestras de los frutos para la obtención de los aceites de acebuchina. En el caso de las de oliva se ha trabajado directamente con aceites.

4. Se ha realizado un estudio analítico sobre los aceites obtenidos de acebuchina y de oliva virgen para su caracterización y diferenciación entre ellos.

5. Los parámetros analíticos que se han empleado en este trabajo fueron los siguientes:

5.1. Parámetros de calidad: acidez, índice de peróxidos, ensayo espectrofotométrico en el UV, estabilidad inducida (Rancimat; AOM).

5.2 Parámetros de pureza: Cromatografías de ácidos grasos, triglicéridos, esteroides y eritrodiol más uvaol, alcoholes alifáticos, ceras y tocoferoles

Todas estas determinaciones se han practicado de acuerdo con la Reglamentación de la CEE 2568/91 y posteriores modificaciones, a excepción de los tocoferoles que se realizó según el método 2432 de la IUPAC y de la estabilidad u oxidación inducida según el método “Rancimat”. Además se vió el color de los aceites con un colorímetro Lovibond.

6. Se han analizado 42 muestras de aceite de oliva virgen, procurando que fueran de lugares próximos a la zona donde se han recogido las acebuchinas.

Se han realizado los mismos análisis en los aceites de oliva como en los de acebuchina, para poder compararlos y diferenciarlos. De esta forma, hemos caracterizado los aceites de acebuchina mediante una serie de parámetros físico-químicos.

7. Se han aplicado diversos criterios estadísticos para la caracterización de los aceites de acebuchina y de oliva.

Mediante los parámetros analíticos, se han podido caracterizar los aceites de acebuchinas, pudiéndose notar diferencias con respecto a los aceites de oliva. Así se observa las diferencias en los valores de determinados ácidos grasos como el alto

contenido en ácido palmítico, palmitoleico y de otros ácidos grasos. Otro parámetro digno de resaltar por su gran notoriedad, es el alto contenido de tocoferoles (vitamina E) en los aceites de acebuchina. Se observa, que de la totalidad de muestras analizadas de las dos clases (acebuchina y oliva), el contenido en tocoferoles es prácticamente el doble en los aceites de acebuchina que en los de oliva. De esta forma, por los análisis se obtiene un contenido de tocoferoles en los aceites de acebuchina que oscila entre aproximadamente 200 ppm y 850 ppm, con un valor medio de unas 420 ppm, mientras que en los aceites de oliva los valores se mueven en un rango de aproximadamente 40 ppm y 340 ppm, con un valor medio de unas 190 ppm.

Una vez obtenidos los resultados, tanto parámetros físico-químicos como perfiles analíticos, se utilizaron métodos univariantes (criterio de Coomans) para la selección de las variables más diferenciadoras entre los aceites de acebuchina y oliva, siendo éstas el ácido palmítoleico (en el perfil cromatográfico de ácidos grasos), el sitostanol (en el de los esteroides) y el α -tocoferol (en los tocoferoles). Puesto que desde el punto de vista instrumental es igual de económico obtener una variable que un perfil completo, se emplearon los perfiles analíticos como elementos diferenciadores. Para realizar una preselección de los perfiles analíticos, se utilizó el método de reconocimiento de patrones supervisado, de Análisis Discriminante Lineal, tomando como base el % de éxito en la clasificación de las muestras procesadas. De éste modo, los perfiles más discriminativos fueron los correspondientes a las variables previamente escogidas: los ácidos grasos, los esteroides y los tocoferoles. Con estos tres perfiles se emplearon técnicas supervisadas de reconocimiento de patrones basados en algoritmos neuronales artificiales, que son los más versátiles cuando es posible encontrar patrones no lineales naturales en la distribución de las clases. Se utilizaron redes neuronales probabilísticas (PNN) y perceptrones multicapa entrenados por retropropagación de errores (MLP). El procedimiento de clasificación fue validado dividiendo el conjunto de datos en un conjunto de entrenamiento y otro de evaluación conteniendo cada uno alrededor del 50 % de las muestras de cada clase. Con los datos del conjunto de entrenamiento se desarrolla la regla de decisión y ésta se aplica al conjunto de evaluación, siendo los parámetros de sensibilidad y selectividad, obtenidos a partir de los falsos positivos y falsos negativos, los que se emplean para medir la eficacia en la predicción. Los resultados han presentado una buena separación entre las dos clases de aceite.

Como consecuencia de de todos los resultados obtenidos en la memoria podemos establecer las siguientes conclusiones:

1°. Los rendimientos grasos (aceite de presión) de las muestras de acebuchinas (frutos) varían entre el 1.20 % y el 16.16 %, teniendo un valor medio del 6.24 %, valores bajos comparados con las aceitunas que suelen oscilar alrededor de entre un 22 y un 25 % de valor medio.

2°. El aceite de acebuchina ha sido caracterizado mediante una serie de parámetros físico-químicos y perfiles analíticos.

3°. Las variables que mejor discriminan entre el aceite de acebuchina y de oliva, seleccionados por el criterio univariante de Coomans fueron: el ácido palmitoleico (ácidos grasos), el sitostanol (esteroles) y el α -tocoferol (tocoferoles).

Los perfiles más diferenciadores entre el aceite de acebuchina y oliva, preseleccionados aplicando el método de reconocimiento de patrones supervisado de Análisis Discriminante Lineal y basándonos en el % de muestras bien clasificadas fueron los correspondientes a ácidos grasos, esteroles y tocoferoles; justo aquellos que correspondían a las variables escogidas por el método univariante.

4°. Estos tres perfiles seleccionados se utilizaron para diferenciar y clasificar los dos tipos de aceite utilizando técnicas supervisadas de reconocimiento de patrones basadas en algoritmos neuronales artificiales (perceptrones multicapa entrenados por retropropagación de errores (MLP) y redes neuronales probabilísticas (PNN)). Se obtuvo una diferenciación clara entre los aceites de acebuchina y de oliva, especialmente con los perfiles de ácidos grasos y esteroles

5°. No es posible diferenciar analíticamente los olivos asilvestrados de los acebuches en el ámbito de ésta memoria. A pesar de que existen algunas muestras de aceite de acebuchina que tienen similitud con algunos de los perfiles propios del aceite de oliva, no es posible concluir nada ya que no son los mismos perfiles para las mismas muestras y el número de éstas es muy pequeño.

6°. Los resultados analíticos obtenidos en esta memoria han sido caracterizados por procedimientos estadísticos básicos y métodos quimiométricos avanzados, pero considerados estándar para los estudios descriptivos y clasificatorios realizados.

7°. Los aceites de acebuchina podrían presentar viabilidad comercial debido al alto contenido en antioxidantes (tocoferoles) de modo que pudieran usarse desde el punto de vista nutricional, medicinal o como base de cosméticos.

8°. Acerca del aprovechamiento de los acebuchales sería oportuno hacer un estudio de viabilidad económica y considerar factores sociales, ya que muchos acebuchales se encuentran en zonas depauperadas de las provincias de Cádiz y Huelva (como la región del Andévalo) y también en zonas de difícil acceso que dificultaría la recolección de los frutos, pero todo ello se sale del ámbito de esta memoria.

CAPÍTULO VI.-
BIBLIOGRAFÍA.

AGRAMUNT, A.; LLINAS, M. C.; LÓPEZ SABATER; BOATELLA RIERA, J. & DE LA TORRE BURONAT, M. C., “Evolution de la teneur en tocopherols et en tocotrienol pendant le murissage des olives”. Riv. Ital. Sost. Grasse. 63:443. (1986).

AGUSTÍ, B. & al., “Dinámica de l'utilizació de la cova 120 per l'home en els darrers 6000 anys”. Centre d'Investigacions Arqueològiques. Serie Monogràfica, 7. Girona. (1987).

ALBA MENDOZA, J.; HIDALGO CASADO, T.; RUIZ GÓMEZ, M. A.; MARTÍNEZ ROMÁN, F.; MOYANO PÉREZ, M. J.; CERT VENTULÁ, A.; PÉREZ CAMINO, M. C. & RUÍZ MÉNDEZ M. V., “Características de los aceites de oliva de primera y segunda centrifugación”. Grasas y Aceites, 47. pp. 163-181. (1996).

ALIGIZAKIS, M., “Processing and canning of edible olive”. Mauromatis, N. Editor. Athens, Greece. (1982).

AMARAL, J. do, "Flora de Portugal". Vol. I. Sociedade Astórica, Lda., Lisboa: 648 pp. (1984).

AMARAL, J. do & ROCHA, M. L. da, "Olea L.". En T. G. Tutin, V. H. Heywood, N. A. Burges, D. H. Valentine, S. M. Walters & D. A. Webb (Eds.). "Flora Europaea". Vol. III. Cambridge at the University Press, Cambridge: 370 pp. (1972).

AMIOT, M. J.; FLEURIET, A. & MACHEIX, J. J., "Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation". J. Agric. Food Chem. 34:823. (1986).

ANDRIKOPOULOS, N.; HASSAPIDOU, M. & MANOUKAS, "The tocopherol content of Greek olive oils". J. Sci. Food Agric. 46:503. (1989).

APARICIO, R & ALONSO, V., "Characterization of virgin olive oils by SEXIA expert system". Prog. Lipid Res. 33, pp. 29-38. (1994).

APARICIO, R; ALONSO, V & MORALES, M.T., "Detailed and exhaustive study of the authentication of European virgin olive oils by SEXIA expert system". Grasas y Aceites, 45, pp. 241-252. (1994).

APARICIO, R. & MCINTYRE, P., "Oils and fats commodity group", in "Faim-food authenticity: Issues and methodologies". Edited by M. Lees. Nantes, France: Eurofins Scientific. (1998).

APARICIO, R; HARWOOD, J., "Manual del aceite de oliva". AMV Ediciones MUNDI-PRENSA. Madrid. 614 pp. (2003).

BARRANCO, D.; FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R. & RALLO, L., "El cultivo del olivo". Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 651 pp. (1998).

BARUCH, U., "The late Holocene vegetational history of Lake Kinneret (Sea of Galilee, Israel)". Paléorient; 12 pp. 37-48. (1986).

BATTAND & TRAB., Bull. Soc. Bot. France 58: 672 (1912).

BATTAND & TRAB., Men. Soc. Hist. Nat. Afr. N 3: 166, 168 (1933).

BELAJ, A.; TRUJILLO, I.; DE LA ROSA, R.; RALLO, L. & GIMÉNEZ, M. J., “Polymorphism and discrimination capacity of randomly amplified polymorphic markers in an olive Germoplasm Bank”. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 126: 64-71. (2001).

BERNABEU, J.; AURA, J. E. & BADAL, E., “Al Oeste del Edén. Las primeras sociedades agrícolas en la Europa mediterránea”. Serie Historia Universal, 4: Prehistoria. Síntesis, Madrid. (1993).

BESNARD, G. & BERVILLÉ, A., “Multiple origins for Mediterranean olive (*Olea europaea* L. ssp. *europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms: Origines multiples de l’olivier méditerranéen (*Olea europaea* L. ssp. *europaea*) établies sur le polymorphisme de l’ADN mitochondrial”. Comptes Rendus de l’Académie des Sciences – Series III – Sciences de la Vie, Volume 323, Issue 2, February 2000, Pages 173-181. (2000).

BISHOP, C. M., “Neural Networks for Pattern Recognition”, Oxford University Press. (1995).

BLITZER, H., “Olive cultivation and oil production in Minoan Crete”. La production du vin et de l’huile en Méditerranée de l’Age du Bronze à la fin du XVIème siècle. Aix-en-Provence. (1991).

BOARDMAN, J., “The olive in the Mediterranean; its culture and use”. Phil. Trans. R. Soc. Lond., Biol. Sci. 275: 187-96. (1976).

BOATELLA, R., “Analysis of the tocopherols of vegetable oils by gas-phase chromatography”. J. Ann. Brom. 27:287. (1975).

BOSKOU D., “Química y tecnología del aceite de oliva”. AMV Ediciones MUNDI-PRENSA. Madrid. 291 pp. (1998).

BOSKOU, D. y MORTON I.D., "Changes in the sterol composition of olive oil on heating". *J. Sci. Food. Agric.* 26:1149 (1975).

BOSKOU, D., STEPHANOU, G. & KONSTANTINIDIS, M., "Tetracosanol and hexacosanol content of greek olive oils". *Grasas y Aceites*, 34: (402). (1983).

BOSKOU, D. & VLACHOPOULOU, J., "On the level of steryl esters in olive oil". *Lebensnci-Wiss u Technol.* 19:156 (1986).

BRENES-BALBUENA, M.; GARCÍA-GARCÍA, P. & GARRIDO-FERNÁNDEZ, A., "Phenolic compounds related to the black color formed during the processing of ripe olives". *J. Agric. Food Chem.* 40:1192 (1992).

BURM., *Fl. Ind.* 6 (1790).

BURÓN, I; GARCÍA, R., "La calidad del aceite de oliva". *Comunicaciones INIA. Ser. Tecnología Agraria*, 430 pp. (1979).

BUXÓ, R.; CATALÁ, M. & VILLALBA, M. J., "Llavors i fruits en un conjunt funerari situat en la galeria d'accés a la Mina 28 de Can Tintorer (Gavà)". *Cypsela*, 9. Girona. pp. 65-72. (1992).

CACOULLOS, T., "Estimation of a multivariate density". *Annals of the Institute of Statistical Mathematics (Tokio)* 18, pp. 179-189 (1966).

CALAPAJ, R., CHIRICOSTA, S., SAIJA, G. & BINOVA, V., "Evaluation of gas chromatographic and spectrophotometric analytical results to check the presence of seed oils in olive samples". *Riv. Ital. Sost. Grasse.* 70:5X5. (1993).

CAMERA, L., ANGEROSA, F. & CUCURACHI, A., "The influence of olives storage on the constituents of oil sterolic fraction". *Riv. Ital. Sost. Grasse.* 55:107. (1978).

CASARI, E., "First results on detection of adulterated olive oil. Products with hazelnut and/or esterified oils by HPLC of triglycerides". *Riv. Ital. Sost. Grasse*. 64:373. (1978).

CATALO, M., "The olive oil triglyceride structures obtained by combined by chromatographic techniques". *Riv. Ital. Sost. Grasse*. 45:791. (1968).

CERT, A. & al., "Formation of stigmasta-3,5-diene en vegetable oils". *Food Chem.*, 49. pp. 287-293. (1994).

CHAMORRO, J., "Flotation strategy: Method and sampling plant dietary resources of Tartessian times at Doña Blanca", en E. Roselló y A. Morales, eds., *Castillo de Doña Blanca. Archaeo-environmental investigations in the Bay of Cádiz, Spain (750-500 B.C.)* (1994).

CHEVALIER, A., "L'origine de l'olivier cultivé et ses variations". *Rev. internat. Bot. appl. Agric. Trop.* 28, 1-25. (1948).

CHTIOUI, Y.; BERTRAND, D. & BARBA, D., "Reduction of the size of the learning data in a probabilistic neural network by hierarchical clustering. Application to the discrimination of seeds by artificial vision". *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 35, pp. 175-186 (1996).

CIFFERRI, R., "Recenti progressi degli studi botanico agrari sull'olivo". *Convegno di Studi Olivicoli (XX)*, Firenze (Italia). 51 pp. (1942).

CIMATO, A., "La caratterizzazione dell'olio extravergine "tipico toscano"". *Editori del Grifo*. Montepulciano, 78 pp. (1990).

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, "Fats, oils and derivatives". Vol.8, issued by the Joint FAO/WHO Food Standards Program, Rome, pp. 41-46, (1993).

COLAKOGLU, M., "Donnes analytiques. Nouvelles sur les huiles d'olive". *Rev. Franc. des Corps Gras*. 13 Anne. 4-261 (1996).

COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS. Reglamento (CEE) N° 2568/91 de la Comisión de 11 de Julio de 1991 relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis y posteriores modificaciones. (1991).

COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS. Reglamento (CEE) N° 183/93. Diario Oficial de las Comunidades Europeas N° L 22/58 (1993).

COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS. Reglamento (CEE) N° 656/95. Diario Oficial de las Comunidades Europeas N° 1 96/1 (1995).

CONTRERAS JIMÉNEZ, A. M., “El olivo”. Biblioteca de Babel (artículo de Internet). (2002).

COOMANS, D.; BROECKAERT, I.; FONCKHEER, M.; MASSART, D. L. & BLOCKS, P., Anal. Chim. Acta, 103, 409. (1978).

CORTESI, N. & FEDELI, E., “Polar components of virgin olive oil”. Note. J. Riv. Ital. Sost. Grasse, 60:341. (1983).

CORTESI, N., REVELLINI, P. & FEDELI, E., “Triglycerides of olive oil”. Note III. Riv. Ital. Sost. Grasse. 63:179. (1990).

COSTANTINI, L., “Origen i difusió de l’agricultura a l’Itàlia meridional”. Cota Zero, 7, pp. 103-114. (1991).

COVIAN, F. G., “Lipid hypothesis and antioxidants”. *Olivae*. 51:26 (1994).

CRONQUIST, A., “The evolution and classification of flowering plant”. London: Thomas Nelson and Sons Ltd.; Boston: Houghton Hifflin Company. 396 pp. (1968).

CRONQUIST, A., “An integrated system of classification of flowering plants”. Columbia University Press: 1262 pp. (1981).

CUCURACHI, A., CAMERA, L., ANGEROSA, F. & SOLINAS, M., “Erythrodiol content of dark green olive oil”. *Riv. Ital. Sost. Grasse*. 52:266. (1975).

DAHLGREN, R. M. T., “A revised system of classification of the angiosperms”. *Bot. Journ. Linn. Soc.* 80 (2): 91-124. (1980).

DEFERNEZ, M. & KEMSLEY, E.K., “The use and misuse of chemometrics for treating classifications problems”, *TRAC*, 16, 216-221 (1997).

DERDE, M. P. & MASSART, D. L., “Comparison of the performance of the class modelling techniques UNEQ, SIMCA and PRIMA”. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 4, pp. 65-93 (1988).

DI GIOVACCHINO, L.; SOLINAS, M. & MICCOLI, M., “Effect of extraction systems on the quality of virgin olive oil”. *J. Am. Oil Chem. Soc.* (1994).

DOUALI, L.; VILLEMEN, D. & CHERQUAOUI, D., “Exploring QSAR of Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors by Neural Networks: TIBO Derivatives”. *International Journal Molecular Sciences*, 5, pp. 48-55 (2004).

EMBERGER, L., “Sistématique de traité de botanique”, tomo II : “Vasculaires de végétaux de Les”, S. 269-275. Masson et Cie., Paris. Francia. (1974).

ESLAVA GALÁN, J., “Las rutas del olivo en Andalucía”. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Ed. Andalucía Abierta. (Fundación José Manuel Lara). Sevilla. 330 pp. (2003).

ESPEJO GUTIÉRREZ, JOAQUÍN., “Un método de análisis de aceitunas de molino”. Trabajo presentado en el III Congreso de Química (Química Agrícola y Alimentaria), celebrado en Sevilla (1980).

ESPEJO GUTIÉRREZ, JOAQUÍN., “El aceite de oliva. Un ensayo en ocho capítulos”. Sevilla. (1997).

ESPEJO GUTIÉRREZ, JOAQUÍN, “Determinación de trazas metálicas en los alimentos por espectrofotometría de absorción molecular UV-VISIBLE”. Sevilla. (2000).

FEDELI, E., “Lipids of olives. Progrees in the chemistry of fats and other lipids”. 15:57, Editado por E. Ralph y T. Holman. Paris. Pergamon Press. (1977).

FEDELI, E., ”Olive oil technology”. *Olivae*. 45:20 (1993).

FEDELI, E. y CONESI, N., “Quality, origin and technology of virgin olive oils”. *Riv. Ital. Sost. Grasse*. 70:419. (1993).

FISHER, R.A., “The use of multiple measurements in taxonomic problems”, *Annals of Eugenics* 7, 179-188 (1936).

FIX, E. & HODGES, J. L., “Discriminatory Analysis: non parametric discrimination, consistency properties”. Vol. 4, USAF School of Aviation Medicine, Randolph Field, Texas, (1951).

FRANKEL, E. N., “In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids”. *Trends Food Sci. Technol.*, 4, pp. 220-223. (1993).

FREGA, N., BOCCI, F. & LERCKER, G., “Direct gas chromatographic analysis of the unsaponifiable fraction of different oils with a polar capillary column”. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69: 447. (1992).

GARCÍA-DONAS DÍAZ, M. A., “Caracterización morfológica, agronómica y elaiotécnica de los acebuchales de la provincia de Cádiz”. Universidad de Córdoba. (2001).

GONZÁLEZ-ARJONA, D. & GONZÁLEZ, A.G., “Adaptation of linear discriminat análisis to second level-pattern recognition classification”, *Analytica Chimica Acta*, 363, 89-95 (1998).

GONZÁLEZ-ARJONA, D.; LÓPEZ-PÉREZ, G. & GONZÁLEZ, A. G., “Performing procrustes discriminant análisis with Holmes”, *Talanta* 49, 189-197 (1999).

GONZÁLEZ-ARJONA, D.; LÓPEZ-PÉREZ, G. & GONZÁLEZ, A. G., “Holmes, a program for performing Procrustes Transformations”, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 57, 133-137 (2001).

GONZÁLEZ-ARJONA, D.; LÓPEZ-PÉREZ, G. & GONZÁLEZ A. GUSTAVO, “Non-linear QSAR modeling by using multilayer perceptrons feedforward neural networks trained by back-propagation”. *Talanta* 56, pp. 79-90 (2002).

GRACIÁN, T.; ARÉVALO, G., “Los tocoferoles en los aceites vegetales con especial referencia al aceite de oliva”. *Grasas y Aceites*, 16:278 (1965).

GRAU ALMERO, E., “El uso de la madera en yacimientos valencianos de la Edad del Bronce a la época visigoda. Datos etnobotánicos y reconstrucción ecológica según la antracología”. Universidad de Valencia, Valencia. (1990).

GREEN, P. S., *Kew Bull.* 34 (1): 69. (1979).

GROB, K., LANFRANCHI, M. & MARIANI, C., “Evaluation of olive oils through the fatty alcohols, the sterols and their esthers by coupled LC. GC”. *J. Am. Oil. Chem.* 67.626 (1990).

GUTFINGER, J. & LETAN, A., “Studies of unsaponificables in several vegetable oils”. *Lipids.* 9:658. (1974).

GUTIÉRREZ ROSALES, F., “Determinación de la estabilidad oxidativa de los aceites de oliva vírgenes: Comparación entre el método de oxígeno activo (A.O.M.) y el método Rancimat”. *Grasas y Aceites*, 40: 1-5. (1989).

GUTIÉRREZ, R.; DOBARGANES, M. C.; GUTIÉRREZ, F. & OLÍAS, M., “Volatile components in the aroma of virgin olive oil”. *Grasas y Aceites*, 32: 299 (1981).

HAJMEER, M. & BASHEER, I., “A probabilistic neural network approach for modeling and classification of bacterial growth/no-growth data”, *Journal of Microbiological Methods*, 51, 217-226 (2002).

HAMMOND, M. K.; RIEDEL, C. J.; ROSE-PEHRSSON, S. L. & WILLIAMS, F. W., “Training set optimization methods for a probabilistic neural network”. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 71, pp. 73-78 (2004).

HEGI, Ill. Fl. Mitt.-Eur. 5: 1936. (1927).

HERNÁNDEZ RABASCALL, N. & RIERA BOATELLA, J., “Variations in the tocopherol and tocotrienol content in the obtention, refining and hydrogenation processes of edible oils”. *Grasas y Aceites*, 36:145. (1987).

HESS, J.; KADEREIT, J. W. & VARGAS, P., “The colonization history of *Olea europaea* L. in Macronesia based on internal transcribed spacer 1 (ITS-1) sequences, randomly amplified polymorphic DNAs (RAPD), and intersimple sequence repeats (ISSR). *Molecular Ecology*, 9: 857-868. (2000).

HEYWOOD, V. H., “Flowering plants of the world”. Oxford University Press, Oxford: 335 pp. (1978).

HILERA, J. R. & MARTÍNEZ, V. J., “Redes neuronales artificiales. Fundamentos, modelos y aplicaciones”. Serie Paradigma, Ed. Ra-Ma, Madrid. (1995).

HOFFMANN & LINK, Fl. Port. 1: 387 (1813-1820).

HOPF, M., “Vorgeschichtliche Pflanze Reste aus Otspanien”. *Madridrer Mitteilungen*, 12. Heidelberg. pp. 101-114. (1971).

HOPF, M. & PELLICER, M., “Neolithische Getreidefunde in der Höhle von Nerja (Málaga)”. *Madridrer Mitteilungen*, 11. pp. 18-34. (1970).

HOPKE, P. & MASSART, D. L., "Reference data sets for chemometrical methods testing". *Chemometrics and Intelligent Laboratory System*, 19, pp. 35-41 (1993).

ISTITUTO FEDERALE DI CREDITO AGRARIO PER LA TOSCANA., "La caratterazione dele oli extravergine di oliva "tipico toscano"". Croevott, Firenze. (1991).

INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL (IOOC). "Trade standard applying to olive oil and olive-pomace oil". COI/T. 15, N° 2/Rev. 6. Madrid, Spain. (1997).

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). *Standard Methods for the Análisis of Oils, Fats and Derivates: Method 2301. "Preparation of the fatty acid methyl esters"*. 7ª ed., pp. 123-129. Editado por C. Paquot y A. Haufenne, Oxford, England: Blackwell Scientific Publications. (1987a).

INTERNATIONAL UNION PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates: Method 2411, "Identification and determination of tocopherols"*. 7ª ed., pp. 174-182. Edited by C. Paquot y A. Haufenne; Oxford, England: Blackwell Scientific Publications. (1987c).

INTERNATIONAL UNION PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates: Method 2432, "Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC."* 7ª ed., pp. 2432/1 - 2432/7. Edited by C. Paquot y A. Haufenne; Oxford, England: Blackwell Scientific Publications. (1987d).

ITOH, T.; TAMURA, T. & MATSUMOTO, T., "Methylsterol compositions of 19 vegetable oils". *J. Am. Oil Chem. Soc.* 50:300. (1973).

JACINI, G.; FEDELI, E. & LANZANI, A., "Research on the nonglyceride substances of vegetable oils". *JAOAC* 50: 84 (1967).

KARLESKIND, A. & WOLF, J. P., "Oils and fats manual". Edited by A. Karleskind y J. P. Wolf. London: Lavoiser Tec. y Dic., pp. 1-1560. (1996).

KIRITSAKIS, A. K., “El aceite de oliva”. A. Madrid Vicente, Ediciones. Madrid. 306 pp. (1992).

KIRITSAKIS, A. & MARKAKIS, P., “Olive oil. A review”. *Advanced in Food Research*. 31:453. (1987).

KUNKEL & SUNDING, *Monogr. Biol. Can.* 3: 58 (1972).

LAM., *Encycl.* 4: 544 (1798).

LEÓN-CAMACHO, M., “Isomerización cis-trans de los ácidos grasos en la desodorización de aceites comestibles”. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla. Sevilla, España. (1997).

LEÓN-CAMACHO, M. & CERT, A., “Recomendaciones para la aplicación de algunos métodos analíticos incluidos en el reglamento CEE 2568/91 relativo a las características de los aceites de oliva y de orujo de oliva”. *Grasas y Aceites*, 45. pp. 395-401. (1994).

LEONE, A.M., NOTTE, E. & LAMPARELLI, F., “The sterols fraction of olive oil and its analytical significance”. *Riv. Tech. Alim. Nutr. Um.* 6:205. (1976).

LEVEAU, P. & al., “Les origenes de l’oléiculture en Gaule du sud. Données historiques, archéologiques et botaniques”. *Revue d’Archeométrie*, 15, pp. 83-94. (1991).

LINNEO., “*Species Plantarum*”. p. 8, 1ª ed. (1753).

LIPSCHITZ, N. & al., “The beginning of olive (*Olea europaea*). Cultivation in the Old World: a reassessment”. *Journal of Archaeological Science*, 18. pp. 441-453. (1991).

LOTTI, G., IZZO, R. & RIO, P., “Effects of climatic on acid and sterol composition of olive oil”. *Riv. Soc. Ital. Scien.* 11:115 (1982).

LOUSSERT, R. & BROUSSE, G., “El olivo”. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 533 pp. (1980).

MARIANI, L. & FEDELI, E., “Determinazione delle forme gliceridiche presenti negli oli alimentari. Nota I: caso dell’olio di oliva”. Riv. Ital. Sostanze Grasse, 62. pp. 3-7. (1985).

MARIANI, C., FEDELI, E. & MORCHIO, G., “Absolute erythrodiol content as a possibility to detect olive husk oil”. Riv. Ital. Sost. Grasse. 64:359. (1987).

MARIANI, C., VENTURINI, S., BONDIOLI, P., FEDELI, E. & GROB, K., “Evaluation of the variations produced by bleaching process on the more meaningful minor components, free and esterified in olive oil”. Riv. Ital. Sost. Grasse. 69:393 (1992).

MARIANI, C. & VENTURINI, S., “Sull’aumento delle cere durante la conservazione degli oli di oliva”. Riv. Ital. Sostanze Grasse, 73, pp. 489-498. (1996).

MARINVAL, P., “Cueillette, Agriculture et Alimentation végétale de l’épipaleolithique jusqu’au 2ème Âge du Fer en France meridionale: Apports palethnographiques de la carpologie”, tesis doctoral. École des Hautes Études en Sciences Sociales, París. (1988).

MARTÍNEZ SUÁREZ, J. M.; MUÑOZ ARANDO, E; ALBA MENDOZA, J. & LANZÓN REY, A., “Informe sobre la utilización del Analizador de Rendimientos Abencor”.Grasas y Aceites. Vol. 26, fasc. 6, 379-385. (1975).

MILLER, Gard. Dict., ed. 8, n. 3 y n. 4 (1768).

MONTEDORO, G. & CANTARALLI, C., “Phenolic compounds in olive oils”. Riv. Ital. Sost. Grasse. 46:115 (1961).

MONTEDORO, G.; BERTUCCIOLI, M. & ANICHINI, F., ”Aroma analysis of virgin olive by head space volatiles and extraction techniques”. “Flavor of foods and

beverages. Chemistry and technology". Charalampous, G. and Inglett, G. Editors. Academic Press. N. Y. (1978).

MORCHIO, G., DE ANDREIS, R. & FEDELI, E., "Investigations on total sterols content in the olive oil and their variation during the refining process". Riv. Ital. Sost. Grasse. 64:185. (1987).

MORETTINI, A., "Olivicoltura". (2ª Ed.) Ramo Editoriale degli Agicultori. (R.E.D.A.). Roma. 522 pp. (1972).

MUCCIARELLA, M.R. & MARSILIO, V., "Influenza del proceso tecnológico de preparación e della conservación e sulle caratteristiche químico-físicas dell'olio di oliva virgine extra usado como cobertura de conservas vegetales en vasitos de vidrio". Riv. Ital. Sostanze Grasse, 74, pp. 105-112. (1997).

MULAS, M.; CAULI, E & FRANCESCONI, A. H. D., "Advances in the study of wild olive genetic resources". ISHS Acta Horticulturae 586: IV International Symposium on Olive Growing. (1997).

NEEF, R., "Introduction, development and environmental implications of olive culture: The evidence from Jordan", en S. Bottema, G. Entjes-Nieborg & W. van Zeist, Eds. "Man's role in the Shaping of the Eastern Mediterranean Landscape". A. A. Balkema, Rotterdam, pp. 295-306. (1990).

NEGODI, Arch. Bot. Sist. 3: 79. (1927).

NORMA UNE 55011 (Acidez).

NORMA UNE 55023 (Índice de peróxidos).

NORMA UNE 55047 (Ensayo espectrofotométrico).

OBORN, R. E. & VILHAN, A. H., "A capillary gas chromatographic method for the characterization of linear fatty alcohols". J. Am. Oil Chem. Soc. 63, pp 95-97. (1986).

OUAZZANI, N.; LUMARET, R.; VILLEMUR, P. & DI GIUSTO, F., "Leaf allozyme variation in cultivated and wild olive tree (*Olea europaea* L.)". Journal Heredity, 84: 34-42. (1993).

PACKER, L., "Myocardial ischemia reperfusion injury mechanisms of interventions and protection by antioxidants, abstract of talks in Singapore and Kuala Lumpur". Dep. of Molecular and Cell Biology. University of California at Berkeley, USA. (March, 1991).

PAGANUZZI, V., "On the composition of iranian olive oil". J. Amer. Oil Chem. Soc. 56:925. (1979).

PAGANUZZI, V., "Distribuzione dei componenti alcolici dell'insaponificabile nella drupa dell'olivo. Nota V: alcoli alifatici". Riv. Ital. Sostanze Grasse, 57, pp. 341-345. (1980).

PAGANUZZI, V., "Influence of origin and consevation on the sterolic composition of nuntreated olive oils", III. Riv. Ital. Sost. Grasse. 62:399 (1985).

PAGE, S.W., "Pattern Recognition Methods for the Determination of Food Composition", Food Technology 38, 104-109 (1986).

PAPASE, T, J. & CABRE, P., "Relación entre las características de la calidad y las medidas de estabilidad Rancimat en aceites de oliva". Arxius de l'Esc. Sup. d'Agricultura de Barcelona, 11: 33-42. (1988).

PARZEN, E., "On estimation of a probability density function and mode". Annals of Mathematical Statistics, 33, pp. 1065-1076 (1962).

PEREIRA, A. X., "Flora de Portugal". Bertrand (Limãos) Ltd., Lisboa: 938 pp. (1939).

PÉREZ, G., "La producció d'oli al món Ibèric: l'exemple del Camp de Túria", Tesis de Licenciatura, Universidad de Valencia, Valencia. (1993).

PÉREZ-CAMINO, M. C; MOREDA, W. & CERT, A., “Determination of diacylglycerol isomers in vegetable oils by solid-phase extraction followed by gaschromatography on a polar phase”. *J. Chromatgr. A*, 721, pp. 305-314. (1996).

PERRIN, J. L., “Les composes mineurs et les antioxygenes naturels de l’olive et de son huile”. *Riv. Franc. Corps Gras*. 39:25. (1992).

PIGNATTI, S., “Flora D’Italia”. Vol. I: 790 pp. Vol. II: 732 pp. Edagricole, Bologna. (1982).

PRIMO YÚFERA, E., “Química de los alimentos”. Editorial Síntesis. Madrid. 461 pp. (1997).

RALLO, P.; DORADO, G. & MARTIN, A., “Development of simple sequence repeats in olive tree (*Olea europaea* L.)”. *Theor. Appl. Genet.*, 101: 984-989. (2000).

RANALLI, A. & SERRAIOCCO, A., “Evaluation of characteristics of olive oil produced by innovative or traditional processing technologies”. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 73. pp. 303-315. (1996).

RENFREW, J. M., “Paleoethnobotany. The prehistoric food plants of the Near East and Europe”. Columbia University Press, Nueva York. (1973).

RIQUELME, F.; ROMOJARO, F., “Estudio de la estabilidad de la fracción lipídica de almendra”. *Grasas y Aceites*, 40: 26-29. (1989).

RODRÍGUEZ, O., (Trabajo inédito y comunicación oral) in R. Buxó, “Arqueología de las plantas”, p. 280. Ed. Crítica. Barcelona.

RODRÍGUEZ, O., “Human-plant relationships during the Copper and Bronze Ages in the Baza and Guadix Basins”, en J. L. Vernet, ed., “Les charbons de bois, les anciens écosystèmes et le rôle de l’homme”, *Bulletin de la Société Botanique de France*, París, pp. 451-464. (1992).

RODRÍGUEZ, O. & VERNET, J. L., “Premiers résultats paléocologiques de l’establishement chalcolithique de Los Millares (Sta. Fe de Mondujar, Almería, Espagne)”. Second Deya Conference, Archaeological Techniques, Tecnology & Theory. Deyá. (1991).

ROSSELL, J.B., “Measurement of rancidity”. In “Rancidity in Foods”, edited by J.C. Allen y R.J. Hamilton. London; Applied Science Publishers, pp. 21-45. (1987).

ROYLE, Illustr. Bot. Himal. 267. (1823).

SARLE, W. S., “Neural Networks and Statistical Models”. Proceedings of theNineteenth Annual SAS Users Group International Conference, April, 1994.

SCHOCH, W. & SCHWEINGRUBER, F. H., “Holzkohlenanalytische ergebnisse aus der bronzezeitlichen Siedlung Fuente Álamo, prov. de Almería, Spanien”, Archäologisches Korrespondenzblatt, 12, pp. 451-455. (1982).

SCHULTEN, A., “Geografía y Etnografía antiguas de la Península Ibérica”. Colección Austral. Madrid. (1963).

SERRA, J; VENTURA, F., “Estudi de la qualitat i consevació de l’avellana”. Conveni IRTA-NUTREXPA, S.A. (1988-1990). Cabriels, 279 pp. (Ejemplar mecanografiado).

SIMMONDS, N. W., “Evolution of crop plants”. (2ª Ed. 1995) Ed. Logman Scientific & Technical. London. United Kingdon. 389 pp. (1976).

SOLARI, M. E. & VERNET, J. L., “Données nouvelles sur la végétation préhistorique des Corbières, d’après l’analyse anthracologique de la Cova de l’Esperit (Salses, Pyrénées Orientales)”. II Coloquio Internacional de Botánica Pirenaico-Cantábrica, Jaca (Huesca). (1990).

SPECHT, D. F., “Probabilistic Neural Networks”. Neural Networks, 3, pp. 109-118. (1990).

SPEEK, A. J.; SCHNJRER, J. & SCHREURS, W. H. P., "Vitamin E composition of some seed oils as determined by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorometric Detection". *J. Food Sci.* 50:122. (1985).

STAGER, L. E., "First fruits of civilization", en J. N. Tubb (ed), "Palestine in the Bronze and Iron Age: papers in honour of Olga Tufnell". Institute of Archaeology, London, pp. 172-187. (1985).

STEBBINS, G. L., "Flowering plants: evolutions above the species level". Belknap Press of Harvard University Press. QH 368. 5. S 72. (1974).

STIKA, H. P., "Botanische untersuchungen in der bronzezeitlichen höhensiedlung Fuente Álamo". *Madrider Mitteilungen*, 29. pp. 21-76. (1988).

STREIT, R. L. & LUGINBUHL, T. E., "Maximum likelihood training of probabilistic neural networks". *IEEE Trans Neural Networks*, 5, pp. 764-783 (1994).

TACCHINO, C. E. & BORGONI, C., "Aliphatic alcohols in pressed and solvent extracted olive oil". *Riv. Ital. Sost. Grasse.* 60:575. (1983).

TAKHTAJAN, A. L., "Outline of the classification of flowering plants (Magnoliophyta)". *The Botanical Review*, 46 (3): 225-359. (1980).

TARRADELL, M., "La expansión del aceite y el uso de lucernas. Un elemento metodológico para la historia agraria del Mediterráneo antiguo". *Actas de las I Jornadas de Metodología aplicada de las Ciencias Históricas I. Prehistoria e Historia Antigua*, Santiago de Compostela, pp. 173-184. (1975).

TERRAL, J. F., "Olivier sauvage et Olivier cultivé: approche par l'analyse minérale du bois, application à du matériel anthracologique". *Diplome d'Études Approfondies*. Universidad de Montpellier II. Montpellier. (trabajo inédito). (1993).

TISCORNIA, E. & BERTINI, G., "Recent analytical data in chemical composition and structure of olive oil". *Riv. Ital. Sost. Grasse.* 49:3 (1972).

TISCORNIA, E., FIORINA, N. & EVANGELISTIS, F., “Chemical composition of olive oil and variations induced by refining”. Riv. Ital. Sost. Grasse. 59:519. (1982).

TISCORNIA, E., & AL., “Sulla possibilità di accertare la geminità di un olio di oliva di pressione mediante la determinazione del suo contenuto in alcanoli. Nota I. Contenuto in alcanoli di oli di oliva vergini commestibili, lampanti es estratti con solvente dalla sansa di oliva”. Riv. Ital. Sostanze Grasse, 62, pp. 287-293. (1985).

TRIAT LAVAL, H., “Pollenalyse de sédiments quaternaires récents du pourtour de l'Etang de Berre”. Ecología Mediterranea. 8. pp. 97-115. (1982).

ULBERTH, F. & HENNINGER, M., “One step extraction/methylation method for determining the fatty acid composition of processed foods”. J. Am. Oil Chem. Soc., 69, pp.174-177. (1992).

VALLET, G., “L'introduction de l'olivier en Italie centrale d'après les données de la céramique”. Hommages à Albert Grenier, Col. Latomus, Bruselas, pp. 1554-1563. (1962).

VARGAS, P. & KADEREIT, W., “Molecular fingerprinting ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) evidence for a wild status of *Olea europaea* L. (OLEACEAE) in the Eurosiberian North of the Iberian Peninsula. Flora, 196 (3): 000-000 (en prensa). (2001).

VARMUZA, K., “Pattern Recognition in Chemistry”. Springer-Verlag, Berlin, pp. 114-116 (1980).

VARONA-VIERA, I. & LEÓN-CAMACHO, M. Internal report IGS-ST-200495, Instituto de la Grasa, Sevilla. (1995).

VAUGHN, R. M.; SIMPON K. C. & CHICESTER, C. O., “Compounds responsible for the color of black ripe olives”. J. Food Science 26:227. (1961).

VÁZQUEZ, R. DEL VALLE, A. J. & DEL VALLE, J. L. M., “Phenolic compounds in olive fruits. Polyphenols in olive oils”. *Grasas y Aceites*. 27:185. (1976).

VERGARI, G.; PATUMI, M. & FONTANANZZA, G., “Utilización de los marcadores RAPDs para la caracterización del germoplasma de olivo”. *Olivae*, 60: 19-22. (1996).

VERNET, J.-L., “Étude sur l’histoire de la végétation du sud-est de la France au Quaternaire d’après les charbons de bois principalement”. *Paléobiologie Continentale*, 4, 1. (1973).

VERNET, J.-L., BADAL, E. & GRAU, E., “La végétation néolithique du sud-est de l’Espagne (Valencia, Alicante) d’après l’analyse anthracologique”. *C. R. Acad. SC. Paris*, 296 III, pp. 669-672. (1983).

VERNET, J.-L., BADAL, E. & GRAU, E., “L’environnement végétal de l’homme au Neolithique dans le sud-est de l’Espagne (Valence, Alicante) d’après l’analyse anthracologique”, en J. Guilaine et al., eds., “Premières communautés paysannes en Méditerranée occidentale”. CNRS, Paris, pp. 131-134. (1987).

VILLA, P., “El cultivo del olivo”. Ed. De Vecchi. Barcelona. 143 pp. (2004).

VILLALBA, M. J.; BAÑOLAS, L.; ARENAS, J. & ALONSO, M., “Les mines de Can Tintorer (Gavà): excavacions 1978-1980”. *Excavacions Arqueològiques de Catalunya*, 6, Departament de Cultura, Generalitat de Catalunya, Barcelona. (1986).

VITAGLIANO, M., “Minor constituents of olive oils”. *Olii Minerali Grassi e Sapponi*, 37:136 (1961).

WARNER, K; FRANKEL, E. N. & MOUNTS, T. L., “Flavor and oxidative stability of soybean, sunflower and low erucic rapeseed oils”. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, pp. 558-562. (1989).

WEBB & BERTH., *Phyt. Canar.* 3 (2): 211 (1841).

WOLD, S. & SJÖSTRÖM, M., "SIMCA: A method for analyzing chemical data in terms of similarity and analogy". ACS symposium series. Data processing Congress; B.R. Kowalski (Ed), Chapter 12, pp 243-282, (1997).

WOLD, S., "Pattern recognition by means of disjoint principal component models", Pattern Recognition 8, 127-139 (1976).

YANG, Z.; LU, W.; HARRISON, R.G.; EFTESTØL, T. & STEEN, P. A., "A probabilistic neural network as the predictive classifier of out-of-hospital defibrillation outcomes", Resuscitation 64, 31-36 (2005).

ZEIST, W. van, "Aperçu sur la diffusion des végétaux cultivés dans la région méditerranéenne" en Colloque de la Fondation L. Emberger, "La mise en place, l'évaluation et la caractérisation de la flore et de la végétation circum-méditerranéenne". Naturalia Monspeliensia, Hors Série, Montpellier, pp. 129-145. (1980).

ZEIST, W. van, & BAKKER-HEERES, J. A. H., "Archaeobotanical studies in the Levant, 4. Bronze Age sites on the North Syrian Euphrates". Palaeohistoria, 27, pp. 247-316. (1985).

ZOHARY, D., "Olive, *Olea europea* (Oleaceae)" in J. Smartt & N. W. Simmonds, "Evolution of Crop Plants": 379-282. Longman Scientific & Technical. United Kingdom. (1995).

ZOHARY, D. & SPIEGEL-ROY, P., "Beginnings of fruit growing in the Old World". Science, 187, pp. 319-327. (1975).

ZOHARY, D. & HOPF, M., "Domestication of plants in the Old World". (2^a edición). Oxford Univ. Press. (1993).

ZUPAN, J. & GASTEIGER, J., "Neural Networks for Chemists", VCH. (1993).

*“Brotas derecha o torcida
con esa humildad que cede
sólo a la ley de la vida,
que es vivir como se puede”*

Antonio Machado.